

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών του Τμήματος
Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας
«ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ-ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ &
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ»

ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΤΥΠΩΝ ΜΕΛΙΟΥ ΕΝΑΝΤΙ
ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΣΗΜΑΣΙΑΣ



ΟΙΚΟΝΟΜΟΥ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ
ΛΑΡΙΣΑ 2013

Αντιμικροβιακή δράση Ελληνικών τύπων μελιού έναντι βακτηρίων κλινικής σημασίας.

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Μόσιαλος Δημήτριος (επιβλέπων): Επίκουρος καθηγητής Βιοτεχνολογίας Μικροβίων του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Μαρκουλάτος Παναγιώτης: Καθηγητής Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας με έμφαση στη Βιοτεχνολογία του τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Καρπούζας Δημήτριος: Επίκουρος Καθηγητής Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας & Βιοτεχνολογίας του τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θερμά ευχαριστώ τον επιβλέποντα Καθηγητή μου, κ.Μόσιαλο Δημήτριο, για την ευκαιρία που μου έδωσε, συμπεριλαμβάνοντάς με στην επιστημονική του ομάδα.

Ευχαριστώ επίσης και τα υπόλοιπα μέλη της επιτροπής. Τον κ. Μαρκουλάτο Παναγιώτη και τον κ. Καρπούζα Δημήτριο.

Τέλος ευχαριστώ όλους όσους στελέχωσαν το εργαστήριο ιολογίας και μικροβιολογίας, καθώς και τα μέλη των υπολοίπων εργαστηρίων για την βοήθειά τους. Ευχαριστώ ιδιαίτερα, την κα. Νικολούλη Κατερίνα για την υποστήριξή της.

Αφιερώνεται σε αυτούς, που παρά τις δυσκολίες συνεχίζουν & επιμένουν ...

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	8
ABSTRACT	9
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	
1.1 Τι είναι το μέλι	10
1.2 Βακτήρια κλινικής σημασίας	12
1.3 Η κοινωνία των μελισσών	17
1.4 Άλλα προϊόντα της μέλισσας	18
1.5 Ιστορική αναδρομή της χρήσης μελιού	20
1.6 Είδη μελιού	23
1.7 Διατροφική αξία μελιού	32
1.8 Βιολογικές δράσεις μελιού	34
1.9 Χρήσιμες πληροφορίες για την ελληνική παραγωγή μελιού	33
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	
2.1 Υλικά	34
2.2 Δείγματα μελιού	35

2.3 Μέθοδοι	37
2.4 Εκτίμηση της αντιμικροβιακής ικανότητας των μελιών, με την μέθοδο διάχυσης σε άγαρ με πηγαδάκια- πειραματική διαδικασία	37
2.5 Εκτίμηση της αντιμικροβιακής ικανότητας των μελιών, με προσδιορισμού της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης βακτηριών, με την χρήση πλακών μικροτιτλοποίησης	38
2.5.1 Πειραματική διαδικασία	38
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	
3.1 Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ	40
3.2 Μέθοδος προσδιορισμού ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης	42
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	46
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	48
6. ΙΣΤΟΣΕΛΙΔΕΣ	51

Π ΕΡΙΛΗΨΗ

Στις μέρες μας, όλα τα φυσικά προϊόντα συγκεντρώνουν την προσοχή του ιατρικού κόσμου. Πολλά βακτηριακά στελέχη έχουν εξαπλωθεί και παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε πολλά αντιβιοτικά. Αυτό έχει οδηγήσει στην επανεξέταση παλαιότερων εναλλακτικών θεραπειών.

Το μέλι, εδώ και πολλά χρόνια, είναι γνωστό για τις αντιμικροβιακές του ιδιότητες. Στην παρούσα διπλωματική μελέτη, δείγματα μελιών διαφορετικής βοτανικής προέλευσης από Ελλάδα και Κύπρο, εκτιμήθηκαν για την ικανότητά τους να αναστέλλουν την ανάπτυξη του gram αρνητικού βακτηρίου *Acinetobacter baumannii*, του gram θετικού βακτηρίου *Staphylococcus aureus* και του gram αρνητικού βακτηρίου *Pseudomonas aeruginosa*. Αυτά τα δείγματα μελιού συγκρίθηκαν με το μέλι manuka, γνωστό για την ισχυρή αντιμικροβιακή του δράση και ένα τεχνητό μέλι, που φτιάχτηκε στο εργαστήριο.

Για την εκτίμηση της αντιμικροβιακής ικανότητας των μελιών, χρησιμοποιήθηκαν 2 in vitro μέθοδοι . α) η μέθοδος διάχυσης σε άγαρ και β) η μέθοδος προσδιορισμού της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης, με την χρήση πλακών μικροτιτλοδότησης.

Όσον αφορά το βακτήριο *Acinetobacter baumannii* ένα, από τα έξι δείγματα μελιών που εξετάστηκαν με την μέθοδο διάχυσης σε άγαρ με πηγαδάκια, παρουσιάζει την ίδια ζώνη αναστολής με το manuka. Τέσσερα παρουσιάζουν μεγαλύτερη ζώνη αναστολής από το manuka. Ένα παρουσιάζει μικρότερη ζώνη αναστολής από το manuka. Με την μέθοδο προσδιορισμού της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης δεκαεπτά δείγματα μελιών έδειξαν το ίδιο MIC με το manuka. Τέσσερα δείγματα μελιών μεγαλύτερο MIC από το manuka. Η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση, για το Manuka 25+ (MIC 12.5% v/v). Η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση, για τα τέσσερα δείγματα μελιών (MIC 25% v/v).

Όσον αφορά το βακτήριο *Staphylococcus aureus* τρία δείγματα μελιού, τα οποία εξετάστηκαν με την μέθοδο διάχυσης σε άγαρ με πηγαδάκια, έδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά (μεγαλύτερη ζώνη αναστολής), σε σχέση με το manuka. Με την μέθοδο προσδιορισμού της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης πέντε δείγματα μελιού, από τα πέντε που εξετάστηκαν για το συγκεκριμένο βακτήριο, έδειξαν το ίδιο MIC με το manuka (MIC 6.25 % v/v).

Όσον αφορά το βακτήριο *Pseudomonas aeruginosa* ένα δείγμα μελιού, από το ένα που εξετάστηκε με την μέθοδο διάχυσης σε άγαρ με πηγαδάκια, παρουσιάζει μεγαλύτερη ζώνη αναστολής σε σχέση με το manuka. Με την μέθοδο προσδιορισμού της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης πέντε δείγματα μελιού, από τα πέντε που εξετάστηκαν για το συγκεκριμένο βακτήριο, έδειξαν το ίδιο MIC με το manuka (MIC 12.5% v/v).

ABSTRACT

Nowadays, all the natural products gain the attention of the medical world. A lot of bacterial strains are expanded all around and they indicate resistance against a variety of antibiotics. This observation has led to a reconsideration of the alternative ways of remedy.

During the years, honey is famous for its antimicrobial activity. In my study, I evaluate the antibacterial activity of samples of different origin in Greece and Cyprus. It was about the gram negative bacterio *Acinetobacter baumannii*, the gram positive bacterio *Staphylococcus aureus* and, the gram negative bacterio *Pseudomonas aeruginosa*,. These samples of honey are compared with manuka honey, which it is renowned for its antimicrobial activity and an artificial honey, which it was made in the laboratory.

In order to evaluate the antimicrobial activity of honey, I use two in vitro methods a) the wells diffusion method b) the determination of the minimum inhibitory concentration, in microtiter plates.

As far as *Acinetobacter baumannii* is considered, in the wells diffusion method, one out of six samples of honey, has the same inhibition zone with manuka. Four samples of honey have bigger inhibition zone than manuka. One sample of honey has smaller inhibition zone than manuka. By using the determination of the minimum inhibitory concentration, seventeen, out of twenty one samples of honey have the same inhibitory concentration with Manuka. Four samples of honey have bigger MIC than Manuka 25 + (MIC 25% v/v).

As far as *Staphylococcus aureus* is considered, in the wells diffusion method, three, out of three samples of honey showed bigger inhibition zone than manuka. Five, out of five samples of honey, have the same inhibitory concentration as Manuka 25 + (MIC 6.25 % v/v).

As far as *Pseudomonas aeruginosa* is considered, in the wells diffusion method, one sample of honey showed bigger inhibition zone than manuka. Five, out of five samples of honey, have the same inhibitory concentration as Manuka 25 + (MIC 12.5 % v/v).

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Τι είναι το μέλι



Το μέλι είναι ένα αρωματικό, ιξώδες, γλυκό υλικό που προέρχεται από το νέκταρ των φυτών. Το μαζεύουν οι μέλισσες της μελιτοφόρου, του είδους *Apis mellifera* και το μεταβάλλουν για την τροφή τους, σε ένα πυκνότερο υγρό και τελικά το αποθηκεύουν στις κηρήθρες τους. Υπάρχουν τρεις βασικές ομάδες μελισσών, η κάθε μια από τις οποίες έχει και μερικές φυλές. Η πρώτη ομάδα περιλαμβάνει τις μέλισσες της ανατολικής Ασίας με εκπρόσωπο τη μέλισσα την ινδική. Η δεύτερη ομάδα είναι η αφρικανική και η τρίτη ομάδα είναι η ευρωπαϊκή, που περιλαμβάνει πάνω από 10 φυλές. Οι πιο γνωστές διεθνώς είναι η Ιταλική (*ligustica*) και η Γιουγκοσλαβική (*Carnica*), ενώ στην Ελλάδα πιο διαδεδομένη ντόπια φυλή είναι η (*Cecropia*) η οποία πήρε το όνομά της από τον πρώτο βασιλιά της Αθήνας Κέκροπα.

Η καθεμιά από τις παραπάνω ομάδες έχει μερικά βασικά διακριτά χαρακτηριστικά. Τα τελευταία χρόνια άρχισε η συστηματική διασταύρωση των μελισσών για να δημιουργηθεί νέος τύπος που θα έχει μέσο μέγεθος, θα είναι ήσυχη και εργατική και θα πολλαπλασιάζεται σχετικά εύκολα την άνοιξη.

Στην κατανάλωση μελιού αποδίδεται η μακροβιότητα διάσημων μελισσοκόμων, που κυμαίνεται μεταξύ 80 και 90 ετών. Τα μέλια με σκούρο χρώμα έχουν τις περισσότερες τονωτικές ιδιότητες, όπως λ.χ. το πευκόμελο, που είναι πλούσιο σε μεταλλικά ιχνοστοιχεία.

Το μέλι σαν τροφή του ανθρώπου είναι ένα από τα πολυτιμότερα, θρεπτικότερα και υγιεινότερα τρόφιμα. Δίνει ενέργεια στους μύες, διαύγεια στο μυαλό, απολυμαίνει και ρυθμίζει το πεπτικό σύστημα. Η τακτική χρήση του δίνει σφρίγος στον οργανισμό και συντελεί στην παράταση της ζωής. Ο Ιπποκράτης και όλοι οι γιατροί της αρχαιότητας το συνιστούσαν σαν φάρμακο σε πολλές περιπτώσεις. Και σήμερα αναγνωρίζεται η θεραπευτική του αξία στην δυσκοιλιότητα, στις καρδιοπάθειες, στην αναιμία, στην αδενοπάθεια και στις περιπτώσεις κατάπτωσης και αδυναμίας του οργανισμού.

Πολλαπλοί παθογόνοι μικροοργανισμοί (συμπεριλαμβανομένου του μύκητα *Nosema caranae* και ιών) και φυτοπροστατευτικά προϊόντα (όπως για παράδειγμα το imidacloprid) συνέβαλαν στην μείωση πληθυσμού ενήλικων μελισσών, στην περιοχή του Μαινάλου, στην Πελοπόννησο (Bacandritsos N, A Granato et al. 2010).

Η άποψη, για την αξία του μελιού, είναι διαδεδομένη σε ολόκληρο τον κόσμο και το σπουδαιότερο είναι τεκμηριωμένη και από επιστήμονες. Έτσι σε μια προσπάθεια να προσδιοριστεί η δράση του μελιού ως τροφή και φάρμακο σε διάφορες κλινικές περιπτώσεις ο Duisberg (1967) διέκρινε τις παρακάτω περιπτώσεις.

- Το μέλι δρα κατά της κοπώσεως και αυτό πετυχαίνεται με αποθήκευση της φρουκτόζης που περιέχει στο συκώτι ως γλυκογόνο. Εκεί μετατρέπεται σε γλυκόζη, αυξάνοντας έτσι την περιεκτικότητα της στο αίμα. Διευκολύνει την αφομοίωση του ασβεστίου, δραστηριοποιεί την οστεοποίηση.
- Γιατρεύει ή ανακουφίζει τις εσωτερικές διαταραχές, τα έλκη του στομάχου, την αϋπνία, τους πονόλαιμους, μερικές καρδιακές παθήσεις και γενικά έχει ευεργετική επίδραση και στην καρδιά, αυξάνει τις αιμογλοβίνες του αίματος και τη μυϊκή δύναμη, κ.α.
- Σε εξωτερική χρήση θεραπεύει τα εγκαύματα, τις πληγές και τις ρινοφαρυγγικές παθήσεις χάρη στην ινχιδίνη (inhidine) που του προσδίδει βακτηριοστατικές ιδιότητες. Το μέλι, λοιπόν, είναι το βασικό προϊόν στην μελισσοκομία αλλά και ένας πολύτιμος σύμμαχος του ανθρώπινου οργανισμού.

1.2 Βακτήρια κλινικής σημασίας



A) Το *Acinetobacter baumannii* είναι ένα είδος παθογόνου βακτηρίου, ως gram-αρνητικό βακτήριο. Το βακτήριο αυτό είναι ανθεκτικό στα περισσότερα αντιβιοτικά. Ως αποτέλεσμα της αντίστασής του σε θεραπευτική αγωγή, σύμφωνα με ορισμένες εκτιμήσεις αναφέρουν την ασθένεια που σκοτώνει δεκάδες χιλιάδες ασθενείς κάθε χρόνο. Μπορεί να προκαλέσει σοβαρή πνευμονία και λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος, του αίματος και σε άλλα μέρη του σώματος. Οι λοιμώξεις από το στέλεχος αυτό αναφέρονται με αυξημένη συχνότητα σε θύματα μαζικών καταστροφών και πολεμικών συγκρούσεων (Karageorgopoulos & Falagas, 2008). Ήταν το πρώτο σε συχνότητα μικρόβιο από τραύματα στο Βιετνάμ, στη Μ. Ανατολή και στο τσουνάμι της Ασίας το 2004 (Slama, 2008). Σύμφωνα με τον Winslow 2007, σύντομα μετά την επιστροφή των Αμερικάνων από το Ιράκ το 2003 εκδηλώθηκαν λοιμώξεις. Επρόκειτο για λοιμώξεις από πολυανθεκτικά είδη *Acinetobacter*, συν τοις άλλοις.

Μετά τον σεισμό στην θάλασσα του Μαρμαρά το 1999, 220 θύματα νοσηλεύτηκαν. Το 20 % των ανθρώπων αυτών είχαν νοσοκομειακές λοιμώξεις. Το 31,2 % του πληθυσμού αυτού είχαν μολυνθεί από το βακτήριο *A.baumannii*. Πριν τον σεισμό αυτό η συχνότητα των λοιμώξεων, στις Μονάδες Εντατικής Θεραπείας, ήταν μόνο 7,3 % (Giamarelou et al., 2008).

Παράγοντες κινδύνου μόλυνσεως από *Acinetobacter baumannii*

A) μεγάλη ηλικία

B) αντιμικροβιακή θεραπεία τις τελευταίες 90 ημέρες

Γ) μηχανικός αερισμός

Δ) καθετήρες (κεντρικοί, φλεβικοί, ενδοφλέβιοι, ουρηθρικοί)

Ε) ύπαρξη μεγάλης αντοχής στα αντιβιοτικά

ΣΤ) σοβαρή ανοσοκαταστολή, λόγω νόσου ή θεραπείας

Ζ) παρουσία πολλαπλών νόσων

Η) παρατεταμένη παραμονή στο νοσοκομείο (μονάδες εντατικής θεραπείας ή μονάδες αυξημένης φροντίδας)

Η M.D.R.A.B. (**M**ulti **D**rug **R**esistant *Acinetobacter* **B**aumannii) των λοιμώξεων είναι δύσκολη και δαπανηρή θεραπεία. Μια μελέτη σε δημόσιο νοσοκομείο διδασκαλίας διαπίστωσε ότι το συνολικό μέσο κόστος νοσοκομείο των ασθενών που έχουν αποκτήσει M.D.R.A.B. ήταν 98.575 δολάρια υψηλότερη από εκείνη των ασθενών της ομάδας ελέγχου είχαν το ίδιο με τη σοβαρότητα του εγκαύματος δείκτες ασθένειας.

Υπάρχουν κάποιες συγκεκριμένες θεραπείες σε φάση ανάπτυξης, προκειμένου να ξεπεραστεί η αντίσταση του βακτηρίου αυτού, χρησιμοποιώντας συγκεκριμένο βακτηριοφάγο.



B) Ο **Σταφυλόκοκκος** ανήκει στο γένος των βακτηρίων που είναι θετικοί κατά Gram κόκκοι. Κάτω από το μικροσκόπιο το βακτήριο του σταφυλόκοκκου φαίνεται σε ομάδες που μοιάζουν με τσαμπί σταφυλιού που σχηματίζονται όταν οι κόκκοι διαιρούνται τυχαία, εκεί οφείλει και την ονομασία του.

Το γένος του σταφυλόκοκκου περιλαμβάνει 47 διαφορετικά είδη βακτηρίων. Τα περισσότερα είναι ακίνδυνα και ζουν κυρίως στο δέρμα και στους βλεννογόνους αδένες του ανθρώπου. Επικίνδυνο είδος είναι ο χρυσίζων σταφυλόκοκκος (*Staphylococcus aureus*), που προκαλεί τροφικές δηλητηριάσεις και δερματικές λοιμώξεις.

Ο σταφυλόκοκκος αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά το 1878 από τον Παστέρ.

Μολύνσεις από τον σταφυλόκοκκο

Σταφυλόκοκκος είναι ένα gram - θετικό βακτήριο που ζει στο ανθρώπινο σώμα σαν μέρος της φυσικής χλωρίδας του δέρματος, στη μύτη, και στη περιοχή γύρω από τα γεννητικά όργανα και στα δύο φύλα.

Οι περισσότερες μολύνσεις από σταφυλόκοκκο είναι ακίνδυνες και θεραπεύονται με αντιβιοτικά, ενώ πολλές φορές οι μολύνσεις αυτές είναι τόσο ήπιες που μπορούν να θεραπευτούν χωρίς τη χρήση αντιβιοτικών. Στο Ηνωμένο Βασίλειο το 30 % του γενικού πληθυσμού μεταφέρει αυτά τα βακτήρια στην μύτη και στο δέρμα.

Ο χρυσίζων σταφυλόκοκκος και άλλοι σταφυλόκοκκοι μπορούν να προκαλέσουν σοβαρότερες μολύνσεις διαφόρων ιστών και οργάνων εκ των οποίων μερικές απειλούν τη ζωή και μπορούν να προκαλέσουν το θάνατο, όπως:

- Μολύνσεις δέρματος.
- Μολύνσεις των οστών, οστεομυελίτιδα .
- Μολύνσεις σε πληγές εγχειρισμένων ασθενών.
- Πνευμονία.
- Σηψαιμία (Επιπεφυκίτιδες στον οφθαλμό).
- Νεκρωτικές μολύνσεις των μαλακών μορίων.

Πολλές φορές, η μόλυνση με σταφυλόκοκκο ξεκινάει μέσα στο νοσοκομείο, συνήθως μετά από κάποια εγχείρηση ή μετά από κάποιο τραυματισμό ή εξαιτίας αδύναμου ανοσοποιητικού συστήματος.

Ο σταφυλόκοκκος τύπου M.R.S.A. (ανθεκτικός στην μεθικιλίνη) μπορεί να εντοπιστεί (εποικισμός) στο δέρμα και την μύτη ασθενών, χωρίς να προκαλέσει μόλυνση. Ο σταφυλόκοκκος μεταδίδεται αφενός μεν, με άμεση φυσική επαφή μολυσμένων ανθρώπων, αφετέρου δε με επαφή μολυσμένων αντικειμένων. Αντικείμενα όπως πετσέτες, σεντόνια, εξοπλισμός αθλητών, επιδέσμους πληγών.

Για τους παραπάνω λόγους θα πρέπει να φροντίζουμε για

- Μη αλόγιστη χρήση αντιβιοτικών
- Σχολαστική εφαρμογή κανόνων υγιεινής
- Όχι χορήγηση εντατικών θεραπειών, οι οποίες εξασθενούν ορισμένες ομάδες ασθενών.



Γ) Οι **Ψευδομονάδες** είναι Gram αρνητικά βακτηρίδια, αυστηρώς αερόβια. Ο ***Pseudomonas aeruginosa*** βρίσκεται κυρίως στο έδαφος και στο νερό αν και το 10 % των ανθρώπων την φέρει ως μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του εντέρου. Συνήθως δεν προκαλεί νόσους σε υγιή άτομα αλλά μπορεί να προκαλέσει ευκαιριακές λοιμώξεις σε άτομα που νοσηλεύονται. Ευθύνεται για το 10-20 % των νοσοκομειακών λοιμώξεων κυρίως σε άτομα που φέρουν καθετήρα ουροδόχου κύστης.

Επιπτώσεις στον άνθρωπο της μόλυνσης από *P. aeruginosa*

- ⇒ Λοιμώξεις ουροποιητικού συστήματος
- ⇒ Λοιμώξεις αναπνευστικού συστήματος
- ⇒ Λοιμώξεις μαλακών μορίων
- ⇒ Δερματίτιδα
- ⇒ Βακτηραιμία
- ⇒ Μολύνσεις οστών και αρθρώσεων
- ⇒ Γαστρεντερικές λοιμώξεις
- ⇒ Άλλες λοιμώξεις ιδιαίτερα σε ασθενείς με σοβαρά εγκαύματα, καρκίνο, AIDS.

1.3 Η κοινωνία των μελισσών

Η κοινωνία των μελισσών συναποτελείται από

- A. Βασίλισσα. Προέρχεται από γονιμοποιημένα αυγά, τρέφεται αποκλειστικά με βασιλικό πολτό, γεννά 2.000-3.000 αυγά την ημέρα. Τέλος μπορεί να ζήσει 2-5 χρόνια. Σε κάθε κυψέλη, συνήθως μια συναντάμε. Βέβαια αυτό δεν ισχύει πάντοτε, σημειώνεται η περίπτωση της σμηνοουργίας. Τότε μπορεί να συνυπάρχουν δύο βασίλισσες, μιας και δεν υπάρχει κανένας ανταγωνισμός, μεταξύ παλιάς και νέας βασίλισσας. Η παλιά βασίλισσα αναγνωρίζεται εξαιτίας των πολύ φθαρμένων φτερών και συνάμα λόγω της αποψιλωμένης, από τρίχες, κοιλιά τους.
- B. Εργάτριες. Προέρχονται και αυτές από γονιμοποιημένα αυγά, που δέχονται διαφοροποιημένη τροφή έναντι της βασίλισσας. Κάνουν όλες τις δουλειές εντός και εκτός κυψέλης, συμπεριλαμβανομένου της καθαριότητας της κυψέλης, της φύλαξης της κυψέλης, της επώασης και της σίτισης του γόνου. Είναι οι μοναδικές που διαθέτουν κεντρί. Ζουν από 28 ημέρες ως 5 μήνες.

Στις εργάτριες παρουσιάζεται και το φαινόμενο της ανθικής σταθερότητας. Με τον όρο αυτό καλούμε τον περιορισμό της συλλέκτριας με δραστηριοποίηση σε ένα φυτό. Έτσι οι μέλισσες εργάζονται πιο γρήγορα και πιο αποδοτικά, αφού γνωρίζουν τις ιδιομορφίες του άνθους το οποίο επισκέπτονται. Τέτοιο παραδείγματα είναι ο βίκος. Αν μια άπειρη μέλισσα προσπαθήσει να εισάγει την προβοσκίδα της στον κάλυκα του άνθους, τότε η προβοσκίδα μπορεί να συλληφθεί. Αυτό έρχεται ως αποτέλεσμα του βάρους της μέλισσας πάνω στο άνθος, που εξωθεί το άνθος να κλείσει απότομα. Όμως η έμπειρη μέλισσα ξέρει, ότι πρέπει να εισάγει την προβοσκίδα από το πλάι, ανάμεσα στα πέταλα.

Άλλο παράδειγμα είναι η συλλογή γύρης στην μηδική. Στο άνθος αυτό οι στήμονες εκτινάσσονται, καθώς ελευθερώνεται η γύρη. Η έμπειρη όμως μέλισσα, αλλάζει συνεχώς θέση, επάνω στο πέταλο και εργάζεται γρήγορα, προκειμένου να ευοδωθούν οι προσπάθειές της.

Στις μέλισσες, όπως επίσης και σε άλλα έντομα με μικρό εγκέφαλο, υπάρχει η νευρική επεξεργασία πληροφοριών. Πληροφορίες, που σχετίζονται με την χωρική διάταξη του περιβάλλοντος, υφίστανται ενεργή αλληλεπίδραση με το περιβάλλον. Αυτό το δεδομένο, μπορεί να οδηγήσει σε εφαρμογές ρομποτικής μοντέλων προσομοίωσης, που μεταφέρουν αέρα, λόγου χάρη, με χαμηλό βάρος επεξεργαστή (Martin Egelhaaf, Norbert Boeddeker 2012).

- C. Κηφήνες. Γονιμοποιούν την βασίλισσα και κάποιες φορές ζεσταίνουν τον γόνο. Ζουν το πολύ 2 μήνες. Σε περιόδους αφθονίας της τροφής, οι υπόλοιπες μέλισσες ανέχονται τους κηφήνες. Απεναντίας σε περιόδους έλλειψης της τροφής και προετοιμασίας για την διαχείμαση, οι μέλισσες εξοντώνουν τους κηφήνες και τους απομακρύνουν ως αχρήστους. Η σύνθεση της μεμβράνης του σπέρματος των κηφήνων, κυρίως φωσφολιπίδια, θα μπορούσε να εξηγήσει την μακροζωία των κυττάρων, στο σώμα της βασίλισσας (Wegener J, Zschörnig K et al. 2012).



Εικόνα 1 Οι κάστες του μελισσιού

1.4 Άλλα προϊόντα της μέλισσας

- I. Δηλητήριο, χρησιμοποιείται ιδιαίτερα στην μελισσοθεραπεία για αυτοάνοσα νοσήματα και όχι μόνο. Τέτοια είναι η εκφυλιστική αρθροπάθεια, η οσφυαλγία, ο έρπητας, τα τραύματα από φυσική δραστηριότητα. Η δραστηριότητα του δηλητηρίου των μελισσών οφείλεται στις μελιτίνη, απαμίνη και στο πεπτίδιο MCD.
- II. Γύρη : είναι η χρυσόσκονη των λουλουδιών. Θεωρείται ότι είναι η πιο πλήρης φυσική τροφή. Χρησιμοποιείται γιατί βοηθά ιδιαίτερα στην διανοητική λειτουργία, στην συστολή της καρδιάς, βελτιώνει την όρεξη και περιορίζει προβλήματα όπως για παράδειγμα της εμμηνόπαυσης. Στην χημική της σύσταση διακρίνουμε στο 25,7 % λιπίδια, στο 4,8 % υδατάνθρακες, στο 27 % ανόργανα άλατα, στο 3,1 % νερό, στο 30 % βιταμίνες, το υπόλοιπο ποσοστό καλύπτεται από ιχνοστοιχεία. Έχουν προσδιοριστεί αντιοξειδωτικές ιδιότητες και αντιβακτηριακή δραστηριότητα της γύρης. Κυρίως εξετάστηκαν ανθόμελα έναντι βακτηρίων όπως: η *Listeria monocytogenes*, η *Pseudomonas aeruginosa*, ο *Staphylococcus aureus*, η *Escherichia coli* (Fatrcová-Šramková K, Nôžková J.et al. 2013).

- III. Κερί, που ανήκει σε μια κατηγορία χημικών ενώσεων, οι οποίες λιώνουν σε θερμοκρασία πάνω των 45° C. Ως αποτέλεσμα είναι να έχουμε ένα υγρό χαμηλού ιξώδους. Είναι αδιάλυτο στο νερό, αλλά διαλυτό στους οργανικούς διαλύτες. Μπορεί να είναι φυσικό: φυτικό ή ζωικό και συνθετικό. Κύριο συστατικό του κεριού μέλισσας είναι ο εστέρας παλμιτική μυρικήλη.
- IV. Πρόπολη, η οποία είναι μια ουσία από ρητίνες και κόμματα που εμπλουτίζεται με κερί, γύρη, ένζυμα, και διάφορα άλλα. Χρησιμοποιείται για να στεγανοποιήσουν και να απολυμάνουν οι μέλισσες το εσωτερικό της φωλιάς τους, επιπροσθέτως χρησιμοποιείται για θεραπεία τραυμάτων όπως λ.χ. της στοματικής κοιλότητας.
- Σε ελληνική πρόπολη, από την Πρέβεζα, βρέθηκε ότι, η χρυσίνη (ουσία με αντιφλεγμονώδη δράση), έδειξε ισχυρή δράση έναντι παθογόνων μυκήτων. Η χημική της σύσταση, της πρόπολης, περιέχει ρητίνες και βάμμα σε ποσοστό 55 %, κερί σε ποσοστό 30 %, αιθέρια έλαια σε ποσοστό 10 %, γύρη σε ποσοστό 5 %, το υπόλοιπο ποσοστό καλύπτεται από άλλες ουσίες.
- Σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 25° C η πρόπολη είναι μαλακή και εύκαμπτη, ενώ σε θερμοκρασίες χαμηλότερες των 15° C είναι σκληρή και εύθραυστη. Τόσο οι αντικαρκινικές ιδιότητες, όσο και οι προστατευτικές δράσεις της πρόπολης έναντι των καρδιαγγειακών νοσημάτων, αποδίδονται κυρίως στα φλαβονοειδή και στα φαινολικά συστατικά που περιέχει (Ahn et al.2007).
- V. Βασιλικός πολτός, που είναι μια κρεμώδης ουσία παραγόμενη από μέλισσες. Εκκρίνεται από ειδικούς φαρυγγικούς αδένες των εργατριών μελισσών. Μπορεί, υπό συνθήκες, να προκαλέσει αλλεργίες στον άνθρωπο. Τα συμπτώματα αυτών των αλλεργιών ποικίλλουν και κυμαίνονται από κνίδωση και άσθμα ως αναφυλακτικό σοκ. Η εξαμηνιαία κατάποση του βασιλικού πολτού, σε ανθρώπους βελτιώνει την ανοχή στη γλυκόζη, την ψυχική υγεία (Morita H, Ikeda T. et al. 2012). Ο βασιλικός πολτός και η γύρη των μελισσών μειώνουν την οστική απώλεια λόγω οστεοπόρωσης, σε μοντέλο αρουραίου (Kafadar IH, Güney A. et al. 2012).
- VI. Φαγητά-γλυκίσματα-ποτά Όπως δίπλες, μουστοκούλουρα, μελόπιτα, κανταΐφι, παστέλι, κυκεών (είδος ποτού των αρχαίων Ελλήνων).



Εικόνα 2 Βασιλικός πολτός

1.5 Ιστορική αναδρομή χρήσης μελιού

Προϊστορία

- Ισπανία: οι πρωιμότερες απεικονίσεις συλλογής μελιού σε μεσολιθικές σπηλαιογραφίες. Τα ευρήματα τοποθετούνται στην 6^η χιλιετία π.Χ.
- Ινδία: την ύστερη μεσολιθική εποχή υπάρχουν απεικονίσεις μελισσών σε σπήλαια.
- Ελλάδα: ευρήματα από το Σέσκλο της Θεσσαλίας. Βρέθηκε σκεύος πιθανώς για κάπνισμα των μελισσών στην τελική νεολιθική περίοδο (4.500-3.300 π.Χ.).
- Αλλού: Αφρική (Kwa Zulu Natul, Zimbabwe), Ασία (Bhutan), Αυστραλία (Queensland).

Αρχαιότητα

Κυρίως στην περιοχή της Μεσογείου, το μέλι ήταν τρόφιμο, απαραίτητο στην λατρεία, στην παρασκευή φαρμάκων, αλοιφών, αρωμάτων, ποτών, αφεψημάτων, χρήσιμο στην εμπορία.

1. Μεσοποταμία: το 2.700 π.Χ. έχουμε καταγραφές για την διατροφική και την φαρμακευτική αξία του μελιού .

2. Αρχαία Αίγυπτος: έχουμε συστηματική μελισσοκομία. Σύμφωνα με τον μύθο οι μέλισσες καθώς και το κερί γεννήθηκαν από τα δάκρυα του θεού Ρα. Η μέλισσα ήταν η οδηγός στο μακρινό ταξίδι για τον άλλο κόσμο. Αναφορά σε αιγυπτιακούς παπύρους από το 3.500 π.Χ.
3. Αρχαία Ελλάδα: έχουν βρεθεί πινακίδες Γραμμικής γραφής Β στη Κνωσό, τις Μυκήνες, τη Πύλο.
 - ❖ Ο Όμηρος και ο Ησίοδος αναφέρουν για άγριες μέλισσες σε σπηλιές ή βελανιδιές .
 - ❖ Στους κλασικούς και ελληνιστικούς χρόνους δίνονται πληροφορίες για πιο συστηματική ενασχόληση με τη μελισσοκομία, ιδιαίτερα σε αγροτικές περιοχές. Έχουν βρεθεί 4 αγγεία για φύλαξη και μεταφορά μελιού.
 - ❖ Έχουν βρεθεί νομίσματα με απεικονίσεις μελισσών στην Μελίτη Θεσσαλίας, την Κρήτη, την Κέα, την Έφεσο, την Σικελία.
 - ❖ Υπήρχε ο νόμος του Σόλωνα, όπου καθόριζε τις αποστάσεις μεταξύ των μελισσοκόμων, ώστε να μην υφίσταται θέμα κυριότητας των σμηνών.
 - ❖ Στην «Κύρου ανάβασις» αναφέρεται δηλητηρίαση στρατιωτών από μέλι ροδόδενδρου από τον Εύξεινο Πόντο.
 - ❖ Η σωρός του στρατηγού Αγησιπόλιδου μεταφέρθηκε στην Σπάρτη σε πιθάρι με μέλι. Το ίδιο συνέβη και με την σωρό του Μ. Αλεξάνδρου.
 - ❖ Οι αρχαίοι πίστευαν ότι το μέλι έπεφτε από τον ουρανό, με την πρωινή δροσιά. Οι μέλισσες μάζευαν την πρωινή δροσιά που επικάθεται σε λουλούδια και φύλλα. Πολλές αναφορές υπάρχουν για το μέλι στην αρχαία Ελληνική γραμματολογία σε έργα του Ισοκράτη (λόγος προς Δημόνικον 50-52, με χρήσιμες συμβουλές για τον νεαρό), του Αριστοφάνη, του Αισχύλου (Προμηθέας Δεσμώτης, στίχοι 72-73), του Θεόκριτου (Ειδύλλια), του Ευρυπίδη, καθώς και σε έργα του Αριστοτέλη (Των Περί Ζώα Ιστορία και Περί Ζώων Γενέσεως, αναφορά στους Σιμβλούς, που ήταν κυψέλες κατασκευασμένες για την εκτροφή μελισσών) και του Γαληνού.
 - ❖ Καθημερινά κατανάλωναν οι αρχαίοι Έλληνες μέλι αυτούσιο στη μαγειρική ή σε παρασκευάσματα. Όπως το μηλόμελο, το μελίκρατο, το οξύμελο, το οινόμελο

Νεότερη εποχή

Τρεις είναι οι ανακαλύψεις που συνέβαλαν ενεργά, θετικά ή αρνητικά, στην τέχνη της μελισσοκομίας. Αυτές είναι: **ι)** η ανακάλυψη της ζάχαρης, (η ζάχαρη είναι ένα βιομηχανοποιημένο προϊόν, που ενοχοποιείται για αύξηση της χοληστερίνης, πονοκεφάλους, κούραση, ερεθιστικότητα, δυσκοιλιότητα), **ii)** η ανακάλυψη της παραφίνης (παράγωγο του πετρελαίου), **iii)** η ανακάλυψη της σύγχρονης κυψέλης με τα κινητά πλαίσια κηρηθρών.



Εικόνα 3 Κόσμημα στα Μάλια της Κρήτης (2.000-1.700 π.Χ.)



Εικόνα 4 **Κόσμημα, του 7 ου αιώνα π.Χ., που ανάποδα απεικονίζει μια θεά – μέλισσα με το σώμα και τα φτερά της**

1.6 Είδη μελιού

Διακρίνουμε δύο μεγάλες κατηγορίες μελιού

- i. Αρχικά έχουμε το ανθόμελο, ο οποίο προκύπτει από το νέκταρ λουλουδιών. . Ως προς την σύνθεση του ανθόμελου σταχυολογούμε της εξής υποκατηγορίες **α)** αμιγώς καθαρό ανθόμελο, που προκύπτει από νέκταρ ενός είδους λουλουδιών **β)** μίγμα ανθόμελου, που προκύπτει από νέκταρ πολλών ειδών λουλουδιών. Οι μέλισσες συλλέγουν νέκταρ από τα λουλούδια ή φυσικούς χυμούς και το αποθέτουν στην κυψέλη τους. Εκεί χάνει υγρασία και φτάνει στη συνηθισμένη υγρασία του μελιού, από 14 - 18 %. Η επιδιωκόμενη υγρασία επιτυγχάνεται, με ένα ειδικό όργανο, που λέγεται διαθλασίμετρο. Το μέλι περιέχει κατά 77 - 78 % σάκχαρα (κυρίως φρουκτόζη, σε περιεκτικότητα 25 - 40 % και γλυκόζη, σε περιεκτικότητα 30 - 44 %) και λόγω της σχετικά χαμηλής του υγρασίας, δεν ευνοεί την ανάπτυξη μικροοργανισμών. Είναι ρευστό στην αρχική μορφή του, αλλά μεταβάλλεται σε κρυσταλλικό όταν μείνει πολύ καιρό. Αποτελείται κυρίως από δύο απλά σάκχαρα, την δεξτρόζη και την λεβουλόζη.

Μερικοί από τους πιο συχνούς τύπους είναι

* το **μέλι αγρίου τριφυλλίου** –*Melilotus alba*. Οι ρίζες του φυτού αυτού έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν άζωτο στο έδαφος, με την βοήθεια βακτηρίων. Μια μελέτη που έγινε στον Καναδά, σε χωράφια χωρίς προηγούμενο ιστορικό καλλιέργειας, έρχεται προς επιβεβαίωση (Bromfield ES, Tambong JT et al. 2010)



*το **μέλι από τσάι του βουνού**- *Sideritis* με 17 είδη. Μια εκδοχή αναφέρει ότι πιθανόν, το όνομα να προέκυψε εξαιτίας της μεγάλης περιεκτικότητας σε σίδηρο. Στην Ελλάδα συναντάμε το βλάχικο, του Ταυγέτου, της Εύβοιας, του Ολύμπου, του Παρνασσού, της Κρήτης. Έγινε μια μελέτη, στον Μαρμαρά της Τουρκίας, για φαρμακευτικά φυτά και άλλων χωρών της Μεσογείου. Στην εθνοβοτανική αυτή μελέτη συμπεριλαμβάνονταν και οι χρήσεις των αιθέριων ελαίων (Gürdal B, Kültür S. 2012).



*το μέλι από ρίγανη- *origanum vulgare*, παράγεται τον Ιούλιο και είναι αρκετά σπάνιο μέλι, καθώς παράγεται σε Μακεδονία, Θράκη και Θεσσαλία. Το φυτό της ρίγανης αξιοποιεί τις ορεινές και μειονεκτικές περιοχές, με ικανοποιητικές στρεμματικές αποδόσεις. Το αιθέριο έλαιο του *origanum vulgare* είναι αποτελεσματικό στους μύκητες *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus niger* (dos Santos NS, Athayde Aguiar AJ et al. 2012)



*το μέλι από ερείκη –*Erica* με 500 είδη. Στην Ελλάδα απαντώνται ιδιαίτερα τα είδη *arbonea*, *manipuliflora*, *herbacea*. Το μέλι από ερείκη έχει την ικανότητα να ρίχνει την χοληστερίνη. Διακρίνεται σε φθινοπωρινό, που είναι κοκκινωπό και σε ανοιξιάτικο, που είναι πιο ανοιχτόχρωμο. Προέκυψε αντιμικητιασική δράση, *in vitro*, βιολογικού μελιού, από *Erica* sp. (Feás X, Estevinho ML. 2011).



***το μέλι από κουμαριά- *Arbutus unedo*.** Το μέλι αυτό παρότι είναι μη εμπορικό, είναι πολύ θρεπτικό. Είναι σκουρόχρωμο μέλι με πικρή γεύση και ευχάριστο άρωμα, ενδείκνυται στους διαβητικούς . Η ανθοφορία του δέντρου παρατηρείται από τον Οκτώβριο μέχρι τις αρχές του Δεκέμβρη. Στο δέντρο της κουμαριάς έχει απομονωθεί η κουμαρίνη, που μέχρι σήμερα είναι το πιο διαδεδομένο αντιπηκτικό.



***το μέλι από κρόκο-*Crocus*.** Με τυπικό είδος το *C.sativus* που απαντάται στην

Κοζάνη της δυτικής Μακεδονίας. Για 300 χρόνια ο κρόκος αναπτύσσεται στην Κοζάνη. Το φυτό φυτεύεται το καλοκαίρι και ανθίζει το φθινόπωρο. Το μέλι του κρόκου είναι ανοιχτόχρωμο, σπάνιο και περιζήτητο. Για τα τελευταία έχουν συμβάλει το υψηλό κόστος παραγωγής και η μικρή στρεμματική απόδοση. Για τους παραπάνω λόγους η πλειονότητα του μελιού εξάγεται στο εξωτερικό. Τα άνθη του κρόκου έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε φαινόλες και άλλα αντιοξειδωτικά, που θα μπορούσαν να συνεισφέρουν στην εφαρμογή τους, ως λειτουργικά συστατικά (Serrano-Díaz J, Sánchez AM et al. 2012)



***το μέλι από πολύκομπο ή κυπαρισσάκι ή αγριορίγανη –*Micromeria Juliana* ή *Santureia Juliana*.** Η μυκόρριζα στο φυτό αυτό, συμπεριλαμβανομένου και άλλων φυτών, αρωματικών ή φαρμακευτικών, συμβάλλει στην καλύτερη κατανομή αιθέριων ελαίων [Karagiannidis N, Panou-Filotheou et al., 2010](#))



***το μέλι από ηλίανθο- *Helianthus* με 65 με 100 είδη.** Στην Ελλάδα συναντάμε το είδος *H.annus*. Βέβαια, η επιθυμία για ενασχόληση με την παραγωγή μελιού, έρχεται αντιμέτωπη: με την υψηλή διακύμανση της παραγωγής από χρονιά σε χρονιά, με την αποθαρρυντική τιμή του μελιού, με την έκκριση κόμμεος από το φυτό, η οποία φθείρει γρήγορα τον πληθυσμό των μελισσών.



***το μέλι από βαμβάκι – *Gossypium* με 4 καλλιεργούμενα είδη.** Στην Ελλάδα καλλιεργείται το είδος *G.hirsutum*, που παρά το γεγονός ότι είναι πολυετές, στην χώρα μας καλλιεργείται ως ετήσιο. Οι μελισσοπαραγωγοί αποφεύγουν τις βαμβακοφυτείες γιατί στην βαμβακοκαλλιέργεια γίνονται πολλοί ψεκασμοί, οι οποίοι είναι επώδυνοι για την μέλισσα, καθώς επίσης του γεγονότος, ότι τώρα τελευταία έχουν εισαχθεί υβρίδια με περιορισμένη νεκταροέκκριση. Το φυτό *G.hirsutum* αποτελεί την μεγαλύτερη πηγή ανανεώσιμων φυσικών υφαντικών ινών, συν τοις άλλοις. Η έκφραση των γονιδίων του είδους αυτού, καθώς είναι ένα γενετικά τροποποιημένο φυτό, δίνεται στο παρακάτω άρθρο (Ryan A Rapp, Candace H Haigler et al. 2010) .



***το μέλι ευκαλύπτου –*Eucalyptus* με 550 είδη.** Στην Ελλάδα συναντάμε, πολύ συχνά, το είδος *E.globulus*, γνωστός ως ο ευκάλυπτος ο σφαιρικός. Πρόκειται για ένα ανοιχτόχρωμο μέλι, που κρυσταλλώνει γρήγορα.



***το μέλι καστανιάς –*Castanea* με 12 είδη που απατούνται διεθνώς.** Στην χώρα μας συναντάμε το είδος *C.sativa*. Πρόκειται για δέντρο που φύεται στα ορεινά της χώρας. Είναι ένα δέντρο υψηλής σπουδαιότητας για τους μελισσοκόμους , που μεταφέρουν τα μελίσσια στην καλοκαιρινή μελιτοφορία του πεύκου. Με το πέρασμά τους από την καστανιά, τα μελίσσια ανανεώνουν τον πληθυσμό τους και αποθηκεύουν τροφές.



- ii.** Έπειτα έχουμε το μέλι, το οποίο προκύπτει από μελιτώματα. Το μελίτωμα προέρχεται από εκκρίματα εντόμων, που απομυζούν τα φυτά. Στην κατηγορία αυτή ανήκει το μέλι πεύκου, ελάτης και άλλων δασικών φυτών. Η χημική σύνθεση ποικίλει από είδος σε είδος. Το 70-80 % από την συνολική ελληνική παραγωγή μελιού προέρχεται από φυτά δάσους .

Μερικοί από τους πιο συχνούς τύπους είναι

* το μέλι πεύκου – *Pinus* με 90 είδη διεθνώς . Στην χώρα μας ονομαστά είναι τα είδη των *P.sylvestris*, *P.halepensis*, *P.pinea*. Το κοκκοειδές *Marhalina hellenica* είναι ένα μελιτογόνο έντομο, που τρέφεται με τους χυμούς του πεύκου. Το έντομο αυτό αποβάλλει την πλεονάζουσα ποσότητα με την μορφή μελιτωδών σταγόνων. Το κοκκοειδές αυτό, προκειμένου να προφυλαχτεί από εχθρούς και έντονα καιρικά φαινόμενα, παράγει βαμβακάδα, από πόρους του σώματός του. Πιθανώς, αυτή του η εκδήλωση να προκαλεί νέκρωση στο δέντρο, για αυτό συνιστώνται ήπιοι ψεκασμοί ή άλλα μηχανικά μέτρα καταπολέμησης. Υπάρχει γενετική παραλλαγή του εντόμου σε δείγματα από διαφόρους ξενιστές και περιοχές στην Ελλάδα (Margaritopoulos JT, Bacandritsos N, et al. 2003).



Εικόνα 5 Βαμβακίαση των πεύκων

*Το μέλι ελάτου – *Abies* με 48 ως 55 είδη. Ένα χαρακτηριστικό είδος που απαντάται στην Ελλάδα είναι το *A.cephalonica*. Η έκκριση του μελιτώματος ευνοείται από τις υψηλές θερμοκρασίες και τις συνθήκες ξηρασίας. Έτσι η μεγαλύτερη παραγωγή σημειώνεται τους μήνες Μάιο και Ιούνιο.



1.7 Συστατικά που περιέχονται στο μέλι

- Υδατάνθρακες
- Νερό
- Οργανικά οξέα όπως για παράδειγμα οξαλικό οξύ, κιτρικό οξύ, γλουκονικό οξύ.
- Ένζυμα όπως για παράδειγμα καταλάση, δισμουτάση, υπεροξειδάση.
- Πρωτεΐνες – αμινοξέα όπως για παράδειγμα πεπτόνες, νουκλεοπρωτεΐνες γλοβουλίνες και προλίνη, λυσίνη, αλανίνη αντίστοιχα .
- Ιχνοστοιχεία
- Βιταμίνες όπως για παράδειγμα α-τοκοφερόλη, ασκορβικό οξύ, β-καροτίνη.
- Λιπίδια όπως για παράδειγμα στερόλες, τριγλυκερίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα.
- Πτητικά συστατικά όπως για παράδειγμα αλδεΐδες, κετόνες, αλκοόλες.
- Φυσικές χρωστικές όπως για παράδειγμα χολίνη και ακετυλοχολίνη.
- Υδροξυ - μεθυλο - φουρφουράλη
- Φαινολικά παράγωγα

1.8 Βιολογικές δράσεις του μελιού

1. Αντιμικροβιακή δράση. Η δράση αυτή πιθανώς να οφείλεται στην υψηλή οσμωτικότητα, το χαμηλό pH, την περιεκτικότητα σε υπεροξείδιο του υδρογόνου και σε άλλα συστατικά. Τέτοια θα μπορούσαν να είναι για παράδειγμα τα φαινολικά οξέα, οι πτητικές ουσίες, τα φλαβονοειδή. Το MANUKA είναι μέλι της Νέας Ζηλανδίας και συλλέγεται από τις μέλισσες από το φυτό *Leptospermum scoparium*, που είναι γνωστό και σαν το ΤΕΪΟΔΕΝΔΡΟ της Νέας Ζηλανδίας. Το μέλι αυτό έχει εξαιρετικές ιδιότητες για την επούλωση τραυμάτων (Sell SA, Wolfe PS, Spence AJ, Rodriguez IA et al. 2012). Επίσης εμπεριέχεται στις χειρουργικές γάζες για την επούλωση των πληγών από πλαστικές επεμβάσεις. Η αντιμικροβιακή ιδιότητα του MANUKA έχει μελετηθεί καλά (Molan 1992 a,b,c 1997). Κυρίως οφείλεται σε παράγοντες συμπεριλαμβανομένου του οσμωτικού φαινομένου, του χαμηλού pH, της παραγωγής υπεροξειδίου του υδρογόνου (Wenston et al., 1999; Willix et al., 1992) καθώς επίσης και η παρουσία φαινολικών οξέων, λυσοζύμης, φλαβονοιδών (Cooper et al., 1999). Σαφώς καταδεικνύουν για πρώτη φορά, ότι η μεθυλγλυκοζάλη είναι άμεσα υπεύθυνη για την αντιβακτηριακή δράση του μελιού manuka.
2. Αντιφλεγμονώδης δράση. Η δημιουργία της φλεγμονής είναι μια φυσιολογική αντίδραση σε κάθε πληγή. Αν όμως είναι εκτεταμένη και παραμένει για μεγάλο χρονικό διάστημα μπορεί να προκαλέσει ανάσχεση της διαδικασίας ίασης της πληγής, αλλά και επιπλοκές. Έτσι απαιτείται η χρήση αντιφλεγμονωδών φαρμάκων, παρόλο που υποβόσκει η πιθανότητα αντενδείξεων (αντίδραση ανοσοποιητικού συστήματος, στομαχικά προβλήματα), σε αντιπαραβολή με το μέλι. Υπάρχουν, προς επιβεβαίωση του συγκεκριμένου, βιοχημικές αναλύσεις, δοκιμές σε πειραματόζωα και κλινικές έρευνες. Με την επάλειψη των πληγών με μέλι παρατηρείται υποχώρηση φλεγμονής (Burlando, 1978), εξίδρωση (Hejase et al, 1996), υποχώρηση οιδήματος γύρω από την πληγή (Efem 1988), απάλυνση του πόνου (Subrahmanyam 1993).
3. Αντιοξειδωτική δράση. Τα πειραματικά αποτελέσματα αποδεικνύουν, ότι το μέλι διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην πρόκληση και εκδήλωση ενός μεγάλου αριθμού ασθενειών. Ασθένειες όπως η καρκινογένεση, η αρθρίτιδα, οι καρδιακές παθήσεις, οι ανοσολογικές ανωμαλίες, η πρόωγη γήρανση και πολλά άλλα. Η ποσότητα των αντιοξειδωτικών συστατικών, που εμπεριέχονται στο μέλι, ποικίλει ανάλογα με την φυτική και γεωγραφική προέλευση του μελιού. Γενικά τα σκουρόχρωμα μέλια έχουν περισσότερα αντιοξειδωτικά συστατικά, έναντι των ανοιχτόχρωμων.

1.9 Χρήσιμες πληροφορίες για την ελληνική παραγωγή μελιού

Η ετήσια παραγωγή στην χώρα μας, το 2004 κυμάνθηκε στους 14.000 τόνους και στους 13.900 τόνους το 2005. Οι εισαγωγές της ανήλθαν τους 2.646 τόνους το 2004 και στους 1.670 τόνους το 2003. Τέλος οι εξαγωγές έφτασαν τους 702 τόνους το 2005. Κυριότερες χώρες εξαγωγής, του ελληνικού μελιού το 2005, ήταν το Ηνωμένο Βασίλειο, η Κύπρος, η Γερμανία, οι Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, η Γαλλία. Εκεί κατευθυνόταν το 75 % του όγκου των εξαγωγών και το 74 % της αξίας. Το υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων έχει ορίσει το μέλι ελάτης Μαινάλου (βανίλιας) ως προϊόν Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (313049 / 14-01-1994 (ΦΕΚ 16/14-01-94)).

2.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Υλικά

Τρυβλία Petri (100mm) από την KISKER

Μικροπλάκες 96-θέσεων (96 wells microplates) από την KISKER

Θρεπτικό υλικό Mueller Hinton Broth από την LAB M.

Θρεπτικό υλικό Mueller Hinton Agar από την LAB M.

Γυάλινες πιπέτες Pasteur

Eppendorfs

Γυάλινα φιαλίδια (vials)

Οδοντογλυφίδες αποστειρωμένες

Χάρακας

Βακτηριακά στελέχη (*Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*)

2.2 Δείγματα μελιών

Τα μέλια που χρησιμοποιήθηκαν προέρχονται από διάφορες περιοχές της Ελλάδας και της Κύπρου. Εξετάστηκαν τα παρακάτω δείγματα μελιών.

Πίνακας 1 Δείγματα μελιών

ΔΕΙΓΜΑ ΜΕΛΙΟΥ	ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ	ΠΕΡΙΟΧΗ
2. ΕΛΑΤΟ ΜΑΙΝΑΛΟΥ	ΙΟΥΝΙΟΣ 2010	ΛΕΒΙΔΙ ΑΡΚΑΔΙΑΣ
3.ΕΛΑΤΟ ΒΑΝΙΛΙΑ ΜΑΙΝΑΛΟΥ	ΙΟΥΝΙΟΣ 2009	ΛΕΒΙΔΙ ΑΡΚΑΔΙΑΣ
5. ΚΟΥΜΑΡΙΑ & ΡΕΙΚΙ	ΝΟΕΜΒΡΙΟΣ 2010	ΚΑΛΤΕΖΕΣ ΑΡΚΑΔΙΑΣ
6. ΚΑΣΤΑΝΙΑ	ΙΟΥΛΙΟΣ 2009	ΑΝΩ ΔΟΛΙΑΝΑ ΑΡΚΑΔΙΑΣ
7. ΠΕΥΚΟΜΕΛΟ	2010	ΘΑΣΟΣ
11. ΚΟΥΜΑΡΙΑ	2010	ΝΟΤΙΟ ΠΗΛΙΟ
13. ΑΝΘΟΜΕΛΟ	ΙΟΥΝΙΟΣ 2010	ΚΡΟΚΟΣ ΚΟΖΑΝΗΣ
14. ΑΝΘΟΜΕΛΟ	ΙΟΥΛΙΟΣ 2010	ΒΟΥΡΙΚΑΣ
15.ΠΟΛΥΚΟΜΠΟΣ	ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2010	ΓΥΡΩ ΑΠΟ ΤΗΝ ΛΙΜΝΗ ΚΕΡΚΙΝΗ ΤΗΣ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑΣ
16. ΕΥΚΑΛΥΠΤΟΣ	ΑΥΓΟΥΣΤΟΣ 2010	ΕΠΑΡΧΙΑ ΛΕΥΚΩΣΙΑΣ
19. ΗΛΙΑΝΘΟΣ	2010	ΚΟΜΟΤΗΝΗ
21. ΒΑΜΒΑΚΙ με περίπου 20% άλλων ανθέων	2010	ΣΕΡΡΕΣ
23. ΚΑΣΤΑΝΙΑ με λίγο πεύκο	2010	ΑΓΙΟ ΟΡΟΣ
24. ΚΟΥΜΑΡΙΑ	2010	ΠΗΛΙΟ
ΔΕΙΓΜΑ ΜΕΛΙΟΥ	ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ	ΠΕΡΙΟΧΗ

25. ΤΣΑΙ & ΡΙΓΑΝΗ	2010	ΣΟΥΡΠΗ ΜΑΓΝΗΣΙΑΣ
26. ΜΕΛΙ ΑΝΘΕΩΝ: ΑΓΡΙΑ ΡΙΓΑΝΗ & ΑΓΡΙΟ ΤΡΙΦΥΛΛΙ	2010	ΟΡΕΙΝΑ ΛΕΙΒΑΔΙΑ ΚΑΙ ΔΑΣΗ ΟΛΥΜΠΟΥ
27. ΚΑΣΤΑΝΙΑ	2010	ΠΗΛΙΟ
28. ΕΛΑΤΟΣ	2010	ΔΡΑΚΟΤΡΥΠΑ ΚΑΡΔΙΤΣΑΣ
32. ΚΑΣΤΑΝΙΑ	2012	ΑΝΩ ΛΕΧΩΝΙΑ ΜΑΓΝΗΣΙΑΣ
33. ΑΝΘΟΜΕΛΟ	ΜΑΙΟΣ 2012	ΕΛΑΣΣΟΝΑ ΛΑΡΙΣΑΣ
34. ΑΝΘΟΜΕΛΟ	ΙΟΥΛΙΟΣ 2012	ΚΑΡΥΑ ΟΛΥΜΠΟΥ
35. ΚΑΣΤΑΝΙΑ	2012	ΛΑΡΙΣΑ

Μέλι Manuka:

Το μέλι Manuka είναι της εταιρείας Manuka Health New Zealand με UMF "(Unique Manuka Factor)", 25+ και MGO (μεθυλγλυοξάλη) 550. Το μέλι αυτό χρησιμοποιήθηκε σαν θετικό control, αφού η αντιμικροβιακή του δράση είναι πολλάκις διαπιστωμένη (Jenkins R, Cooper R. 2012).

Τεχνητό μέλι:

Το τεχνητό μέλι φτιάχτηκε στο εργαστήριο και χρησιμοποιήθηκε σαν αρνητικό control. Ζυγίστηκαν και διαλύθηκαν 3.0g σουκρόζης, 15g μαλτόζης, 80,1g φρουκτόζης και 67g γλυκόζης σε 34 ml απιονισμένο νερό (Orla Sherlock 2010). Το διάλυμα τοποθετήθηκε σε υδατόλουτρο στους 56°C μέχρι να διαλυθεί. Αυτό το διάλυμα αντιπροσωπεύει τα τέσσερα κύρια σάκχαρα που βρίσκονται στο μέλι.

2.3 Μέθοδοι

Για την εκτίμηση της αντιμικροβιακής ικανότητας των μελιών, χρησιμοποιήθηκαν δύο in vitro μέθοδοι. α) η μέθοδος διάχυσης σε άγαρ (wells diffusion method) και β) η μέθοδος προσδιορισμού της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (minimum inhibitory concentration).

2.4 Εκτίμηση της αντιμικροβιακής ικανότητας των μελιών, με την μέθοδο διάχυσης σε άγαρ, με πηγαδάκια-πειραματική διαδικασία.

Αρχικά προετοιμάζεται η καλλιέργεια των βακτηρίων, με την χρήση καλλιιεργειών που διατηρούνται στους -80°C . Με τον μικροβιολογικό κρίκο και σε ασηπτικό περιβάλλον παίρνεται μια μικρή ποσότητα βακτηρίων, από την καλλιέργεια stock και τοποθετείται σε vial 5 ml. Το vial τοποθετείται σε επωαστήρα υπό ανάδευση για 16 ώρες, στους 37°C , στις 210 στροφές το λεπτό.

Στη συνέχεια η καλλιέργεια αραιώνεται μέχρι την παρασκευή μικροβιακού εναιωρήματος θολερότητας ίση με 0.5 McFarland (περίπου $1,5 \cdot 10^8 \text{cfu/ml}$). Η μέτρηση της οπτικής πυκνότητας OD γίνεται στα 600 nm με φασματοφωτόμετρο, μέχρι να πετύχουμε τελική τιμή 0.132, η οποία αντιστοιχεί σε 0.5 McFarland.

Προετοιμάζουμε τα τρυβλία με Mueller Hinton Agar, με την χρήση αποστειρωμένης γυάλινης πιπέτας Pasteur, δημιουργούμε 3 κοιλότητες (wells), διαμέτρου 6 χιλιοστών. Στην πρώτη κοιλότητα έχουμε, περίπου, 100mg manuka, στην δεύτερη, περίπου, 100mg τεχνητού μελιού και στην τρίτη, περίπου, 100mg του υπό εξέταση μελιού. Έπειτα επιστρώνουμε τα βακτήρια στο τρυβλίο, για το *Staphylococcus aureus* επιστρώνουμε 10^6 CFUs, για την *Pseudomonas aeruginosa* επιστρώνουμε 10^6 CFUs, για το *Acinetobacter baumannii* επιστρώνουμε 10^6 CFUs. Τοποθετούμε τα τρυβλία στον επωαστήρα υπό ανάδευση, στους 37°C , για 16 ώρες. Μετά την επώαση, εξετάζουμε κάθε τρυβλίο και μετράμε με τον χάρακα τις διαμέτρους ζωνών πλήρους αναστολής, της ανάπτυξης, των βακτηρίων.

Όλα τα δείγματα εξετάζονται τουλάχιστον εις τριπλούν για κάθε μέλι και για το κάθε βακτήριο.

2.5 Εκτίμηση της αντιμικροβιακής ικανότητας των μελιών , με προσδιορισμό της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης των βακτηρίων (MIC), την χρήση πλακών μικροτιτλοποίησης.

Με την επόμενη μέθοδο χρησιμοποιήθηκαν αποστειρωμένες μικροπλάκες πολυστερίνης 96 θέσεων η καθεμιά. Για τον έλεγχο της αντιβακτηριακής ικανότητας, οι μικροπλάκες τοποθετήθηκαν σε microplate reader (ELx 808 Absorbance Reader, Biotek), συνδεδεμένο με έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή. Η μέτρηση έγινε στα 630 nm. Η ανάλυση των οπτικών απορροφήσεων των καλλιέργειών έγινε με το λογισμικό Gen5TM Data Analysis Software (Biotek).

Για τις υγρές καλλιέργειες, το MIC ορίζεται ως η χαμηλότερη συγκέντρωση του αντιμικροβιακού παράγοντα. Στην συγκέντρωση αυτή δεν ανιχνεύεται καμιά αύξηση του μικροβιακού παράγοντα, δηλαδή έχουμε 100% αναστολή του, υπό εξέταση, οργανισμού (Orla Sherlock et al. 2010).

2.5.1 Πειραματική διαδικασία

Αρχικά προετοιμάζονται οι καλλιέργειες των βακτηρίων, με την χρήση μικροβιολογικού κρίκου. Παίρνουμε μια ποσότητα από το stock, που διατηρείται στους -80°C και την ενοφθαλμίζουμε σε vial, που περιέχει 5 ml θρεπτικού υποστρώματος Mueller Hinton Broth. Το vial τοποθετείται σε επωαστήρα υπό ανάδευση, για περίπου 16 ώρες, στους 37°C, στις 210 στροφές. Έπειτα η καλλιέργεια αραιώνεται, μέχρι την παρασκευή μικροβιακού εναιωρήματος, θολερότητας ίση με 0,5 McFarland (περίπου $1,5 \cdot 10^8$ cfu/ml). Η μέτρηση της οπτικής πυκνότητας (OD) στα 600 nm, γίνεται μέχρι να πετύχουμε τιμή 0.132, που αντιστοιχεί σε 0.5 McFarland (περίπου $1,5 \cdot 10^8$ cfu/ml).

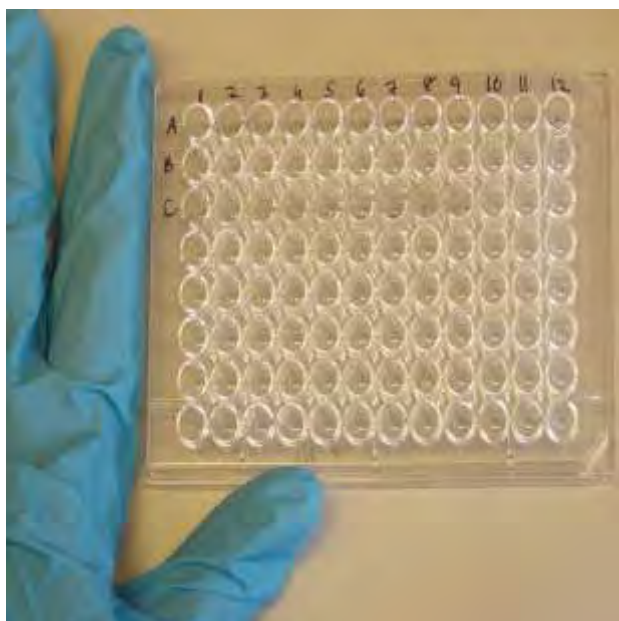
Τα δείγματα των μελιών δοκιμάστηκαν σε 7 αραιώσεις των μελιών (50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125%, 1.5%, 0.78%), για τον προσδιορισμό της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης. Στην πλάκα μικροτιτλοποίησης, το κάθε μέλι (συμπεριλαμβανομένου και του manuka), χρησιμοποιήθηκε εις τριπλούν, σε 7 πηγαδάκια. Στο καθένα από αυτά προστέθηκε 190 μl από την αραιώση του εκάστοτε υπό εξέταση μελιού και $5 \cdot 10^4$ CFUs καλλιέργειας. Σε επτά πηγαδάκια προστέθηκαν 190 μl Mueller Hinton Broth και $5 \cdot 10^4$ CFUs καλλιέργειας.

Η μικροπλακέτα τοποθετείται στο φασματοφωτόμετρο ELx808 και γίνεται μέτρηση της οπτικής πυκνότητας, στα 630 nm, σε χρόνο $t=0$. Κατόπιν η μικροπλακέτα τοποθετείται στον επωαστήρα, στους 37°C, για 24 ώρες. Έπειτα ακολουθεί, εκ νέου ανάγνωση από το microplate reader.

Η οπτική πυκνότητα, για το κάθε πηγαδάκι, προκύπτει από την αφαίρεση της μέτρησης για $t=24$, μείον την μέτρηση για $t=0$. Η αναστολή της ανάπτυξης, για το κάθε μέλι υπολογίζεται με την χρήση του τύπου

$$100\% \text{ΑΝΑΣΤΟΛΗ} = 1 - [\text{OD}(\text{T24-T0}) / \text{OD}(\text{T24test-T0test}) * 100]$$

Όλα τα δείγματα εξετάζονται εις τριπλούν, τουλάχιστον, για κάθε μέλι και για την κάθε συγκέντρωση.



Εικόνα 6 Πλάκα μικροτιτλοποίησης



Εικόνα 7 Microplate reader ELx 808

3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

◦ **3.1 μέθοδος διάχυσης σε άγαρ**

Πίνακας 2 Αποτελέσματα δειγμάτων μελιού. Σε τρυβλίο που έχει επιστρωθεί το βακτήριο *Acinetobacter baumannii*

ΔΕΙΓΜΑ ΜΕΛΙΟΥ	Διάμετρος ζώνης αναστολής (mm)	Διάμετρος ζώνης αναστολής (mm) manuka
13. ΑΝΘΟΜΕΛΟ	5±1 mm	5±1 mm
15. ΠΟΛΥΚΟΜΠΟΣ	8±1 mm	6±2 mm
16. ΕΥΚΑΛΥΠΤΟΣ	8±1 mm	5±1 mm
21. ΒΑΜΒΑΚΙ με περίπου 20% άλλων ανθέων	3±0 mm	6±0 mm
26. ΜΕΛΙ ΑΝΘΕΩΝ: ΑΓΡΙΑ ΡΙΓΑΝΗ & ΑΓΡΙΟ ΤΡΙΦΥΛΛΙ	6.6±2.5 mm	4±0 mm
28. ΕΛΑΤΟΣ	6.3±2.5 mm	5±1 mm

Πίνακας 3 Αποτελέσματα δειγμάτων μελιού. Σε τρυβλίο που έχει επιστρωθεί το βακτήριο *Staphylococcus aureus*

ΔΕΙΓΜΑ ΜΕΛΙΟΥ	Διάμετρος ζώνης αναστολής (mm)	Διάμετρος ζώνης αναστολής (mm) manuka
32. ΚΑΣΤΑΝΙΑ	14±0 mm	10±1 mm
34. ΑΝΘΟΜΕΛΟ	16.3±1.5 mm	10.3±1.5 mm
35.ΚΑΣΤΑΝΙΑ	18±1 mm	12.5±1.5 mm

Πίνακας 4 Αποτελέσματα από δείγμα μελιού. Σε τρυβλίο που έχει επιστρωθεί το βακτήριο *Pseudomonas aeruginosa*

ΔΕΙΓΜΑ ΜΕΛΙΟΥ	Διάμετρος ζώνης αναστολής (mm)	Διάμετρος ζώνης αναστολής (mm) manuka
35.ΚΑΣΤΑΝΙΑ	7±1 mm	5±1 mm

ο **3.2 μέθοδος προσδιορισμού της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης**

Πίνακας 5 Αποτελέσματα δειγμάτων μελιού έναντι βακτηρίου *Acinetobacter baumannii*

ΔΕΙΓΜΑ ΜΕΛΙΟΥ	MIC <i>Acinetobacter baumannii</i>	manuka
2. ΕΛΑΤΟ ΜΑΙΝΑΛΟΥ	25% v/v	12.5% v/v
3. ΕΛΑΤΟ ΒΑΝΙΛΙΑ ΜΑΙΝΑΛΟΥ	25% v/v	12.5% v/v
5. ΚΟΥΜΑΡΙΑ & ΡΕΙΚΙ	25% v/v	12.5% v/v
6. ΚΑΣΤΑΝΙΑ	12.5% v/v	12.5% v/v
7. ΠΕΥΚΟΜΕΛΟ	12.5% v/v	12.5% v/v
11. ΚΟΥΜΑΡΙΑ	12.5% v/v	12.5% v/v
13. ΑΝΘΟΜΕΛΟ	25% v/v	12.5% v/v
14. ΑΝΘΟΜΕΛΟ	12.5% v/v	12.5% v/v
15. ΠΟΛΥΚΟΜΠΟΣ	12.5% v/v	12.5% v/v
16. ΕΥΚΑΛΥΠΤΟΣ	12.5% v/v	12.5% v/v
19. ΗΛΙΑΝΘΟΣ	12.5% v/v	12.5% v/v
21. ΒΑΜΒΑΚΙ με περίπου 20% άλλων ανθέων	12.5% v/v	12.5% v/v

Πίνακας 5 Αποτελέσματα δειγμάτων μελιού έναντι βακτηρίου *Acinetobacter baumannii*

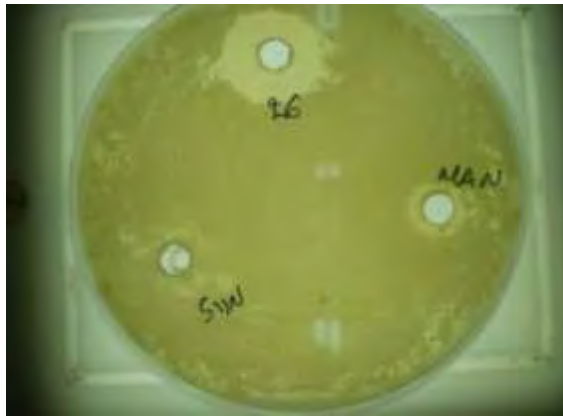
ΔΕΙΓΜΑ ΜΕΛΙΟΥ	MIC <i>Acinetobacter baumannii</i>	manuka
23. ΚΑΣΤΑΝΙΑ με λίγο πεύκο	12.5% v/v	12.5% v/v
24. ΚΟΥΜΑΡΙΑ	12.5% v/v	12.5% v/v
25. ΤΣΑΙ & ΡΙΓΑΝΗ	12.5% v/v	12.5% v/v
28. ΕΛΑΤΟΣ	12.5% v/v	12.5% v/v
27. ΚΑΣΤΑΝΙΑ	12.5% v/v	12.5% v/v
32. ΚΑΣΤΑΝΙΑ	12.5% v/v	12.5% v/v
33. ΑΝΘΟΜΕΛΟ	12.5% v/v	12.5% v/v
34. ΑΝΘΟΜΕΛΟ	12.5% v/v	12.5% v/v
35.ΚΑΣΤΑΝΙΑ	12.5% v/v	12.5% v/v

Πίνακας 6 Αποτελέσματα δειγμάτων μελιού έναντι βακτηρίου *Staphylococcus aureus*

ΔΕΙΓΜΑ ΜΕΛΙΟΥ	MIC <i>Staphylococcus aureus</i>	manuka
27. ΚΑΣΤΑΝΙΑ	6.25% v/v	6.25% v/v
32. ΚΑΣΤΑΝΙΑ	6.25% v/v	6.25% v/v
33. ΑΝΘΟΜΕΛΟ	6.25% v/v	6.25% v/v
34. ΑΝΘΟΜΕΛΟ	6.25% v/v	6.25% v/v
35.ΚΑΣΤΑΝΙΑ	6.25% v/v	6.25% v/v

Πίνακας 7 Αποτελέσματα δειγμάτων μελιού έναντι βακτηρίου *Pseudomonas aeruginosa*

ΔΕΙΓΜΑ ΜΕΛΙΟΥ	MIC <i>Pseudomonas aureginosa</i>	manuka
27. ΚΑΣΤΑΝΙΑ	12.5% v/v	12.5% v/v
32. ΚΑΣΤΑΝΙΑ	12.5% v/v	12.5% v/v
33. ΑΝΘΟΜΕΛΟ	12.5% v/v	12.5% v/v
34. ΑΝΘΟΜΕΛΟ	12.5% v/v	12.5% v/v
35.ΚΑΣΤΑΝΙΑ	12.5% v/v	12.5% v/v



Εικόνα 8 ενδεικτική εικόνα πειράματος με την μέθοδο διάχυσης σε άγαρ. Στο τρυβλίο είναι τρεις κοιλότητες: MAN για το μέλι manuka, SYN για το τεχνητό μέλι, 26 το υπό εξέταση μέλι. Το βακτήριο που έχει επιστρωθεί είναι το *Acinetobacter baumannii*



Εικόνα 9 ενδεικτική εικόνα πειράματος με την μέθοδο διάχυσης σε άγαρ. Στο τρυβλίο είναι τρεις κοιλότητες: MAN για το μέλι manuka, SYN για το τεχνητό μέλι, 35 το υπό εξέταση μέλι. Το βακτήριο που έχει επιστρωθεί είναι ο *Staphylococcus aureus*

4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τις τελευταίες δεκαετίες παρατηρείται εξάπλωση ανθεκτικών βακτηρίων στα αντιβιοτικά, για τον παραπάνω λόγο αναζητούνται εναλλακτικές μέθοδοι θεραπείας.

Η αντιμικροβιακή δράση του μελιού οφείλεται, κυρίως, στην παρουσία του υπεροξειδίου του υδρογόνου. Ειδικά στο μέλι manuka, έχουμε το αντιβακτηριδιακό συστατικό UMF. Η δραστική αυτή ουσία, είναι μια αλδεΐδη (μεθυλγλυοξάλη), που ανιχνεύεται στο μέλι. Η παρουσία της γίνεται αντιληπτή μέσω του εργαστηριακού ελέγχου.

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η εκτίμηση της αντιβακτηριακής δράσης ελληνικών και κυπριακών μελιών έναντι του *Acinetobacter baumannii*. Τα δείγματα αυτά είχαν δείξει ισχυρή αντιβακτηριακή δράση έναντι της *Pseudomonas aeruginosa* και του *Staphylococcus aureus* σε προηγούμενη μελέτη (Anthimidou and Mossialos 2013). Επίσης εκτιμήθηκε η αντιβακτηριακή δράση 5 δειγμάτων μελιού και για την *Pseudomonas aeruginosa* και για τον *Staphylococcus aureus*. Για την εκτίμηση της αντιμικροβιακής δράσης των μελιών χρησιμοποιήθηκαν δύο in vitro μέθοδοι. α) η μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με πηγαδάκια και β) η μέθοδος προσδιορισμού της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης με την χρήση πλακών μικροτιτλοδότησης. Η μέθοδος αυτή είναι πιο ευαίσθητη σε σχέση με την πρώτη, συνεπώς και πιο αξιόπιστη.

Όσον αφορά το βακτήριο *Acinetobacter baumannii*, ένα, από τα έξι δείγματα μελιών που εξετάστηκαν με την μέθοδο διάχυσης σε άγαρ με πηγαδάκια, παρουσιάζει την ίδια ζώνη αναστολής με το manuka. Πρόκειται για το μέλι 13, το οποίο είναι ένα ανθόμελο. Τέσσερις τύποι μελιού παρουσιάζουν μεγαλύτερη ζώνη αναστολής από το manuka. Πρόκειται για το μέλι 15, το οποίο προέρχεται από πολύκομπο. Επίσης πρόκειται για το μέλι 16, το οποίο προέρχεται από ευκάλυπτο. Ακόμη, πρόκειται για το μέλι 26, το οποίο προέρχεται από άγρια ρίγανη και άγριο τριφύλλι. Τέλος, πρόκειται για το μέλι 28, το οποίο είναι ένα μέλι ελάτου. Ένας τύπος μελιού παρουσιάζει μικρότερη ζώνη αναστολής από το manuka. Πρόκειται για το μέλι 21, το οποίο προέρχεται από βαμβάκι με περίπου 20% άλλων ανθέων.

Με την μέθοδο προσδιορισμού της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης δεκαεπτά δείγματα μελιών έδειξαν το ίδιο MIC με το manuka. Πρόκειται για τύπους μελιού 6, 27, 32, 35, που προέρχονται από καστανιά. Επιπροσθέτως, πρόκειται για τύπους μελιού 11 και 24, οι οποίοι προέρχονται από κουμαριά. Επίσης, πρόκειται για το μέλι 7, το οποίο προέρχεται από πεύκο. Έπειτα, έχουμε το μέλι 11, που είναι τύπος μελιού προερχόμενο από κουμαριά. Ακόμη, πρόκειται για το μέλι 15, το οποίο προέρχεται από πολύκομπο. Επιπροσθέτως, πρόκειται για το μέλι 16, το οποίο προέρχεται από ευκάλυπτο. Συνάμα, πρόκειται για το μέλι 19, που είναι μέλι ηλιάνθου. Ύστερα, πρόκειται για το μέλι 21, το οποίο είναι μέλι βαμβακιού, με περίπου 20% άλλων ανθέων. Ακολούθως, πρόκειται για το μέλι 23, το οποίο προέρχεται από καστανιά και λίγο πεύκο. Κατόπιν, πρόκειται για το μέλι 25, το οποίο είναι μέλι από τσάι και

ρίγανη. Στην συνέχεια, πρόκειται για το μέλι 28, το οποίο είναι μέλι ελάτου. Τέλος, πρόκειται για τους τύπους μελιού 33 και 34, οι οποίοι είναι τύποι ανθόμελου. Τέσσερα δείγματα μελιών παρουσιάζουν μεγαλύτερο MIC από το manuka. Πρόκειται το μέλι 2, το οποίο προέρχεται από έλατο του Μαινάλου. Έπειτα, έχουμε το μέλι 3, το οποίο προέρχεται από έλατο βανίλια Μαινάλου. Μετά,, πρόκειται για το μέλι 13, το οποίο είναι τύπος ανθόμελου. Τέλος, πρόκειται για το μέλι 13, που είναι μέλι ανθέων.

Όσον αφορά το βακτήριο *Staphylococcus aureus* τρία δείγματα μελιού, τα οποία εξετάστηκαν με την μέθοδο διάχυσης σε άγαρ, με πηγαδάκια, έδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά (μεγαλύτερη ζώνη αναστολής), σε σχέση με το manuka. Πρόκειται για τους τύπους μελιού 32, 35, οι οποίοι προέρχονται από καστανιά και για το μέλι 34, το οποίο είναι μέλι ανθέων.

Με την μέθοδο προσδιορισμού της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης πέντε δείγματα μελιού, από τα πέντε που εξετάστηκαν για το συγκεκριμένο βακτήριο, έδειξαν το ίδιο MIC με το manuka. Πρόκειται για τους τύπους μελιού 27, 32, 35, τα οποία προέρχονται από καστανιά. Επίσης, πρόκειται για τους τύπους μελιού 33, 34, οι οποίοι προέρχονται από μέλι ανθέων.

Όσον αφορά το βακτήριο *Pseudomonas aeruginosa* ένα δείγμα μελιού, από το ένα που εξετάστηκε με την μέθοδο διάχυσης σε άγαρ με πηγαδάκια, παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά (μεγαλύτερη ζώνη αναστολής), σε σχέση με το manuka. Πρόκειται για το μέλι 35, το οποίο προέρχεται από καστανιά.

Με την μέθοδο προσδιορισμού της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης πέντε δείγματα μελιού, από τα πέντε που εξετάστηκαν για το συγκεκριμένο βακτήριο, έδειξαν το ίδιο MIC με το manuka. Πρόκειται για τους τύπους μελιού 27, 32, 35, που προέρχονται από καστανιά. Τέλος, πρόκειται για τους τύπους μελιού 33, 34, που είναι μέλι ανθέων.

5.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ♦ Anthimidou E, Mossialos D.
J Med Food. 2013 Jan;16(1):42-7. doi: 10.1089/jmf.2012.0042. Epub 2012 Nov 7.
[Antibacterial Activity of Greek and Cypriot Honeys Against Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa in Comparison to Manuka Honey.](#)

- ♦ Bacandritsos N, **Granato A**, Budge G, Papanastasiou I, Roinioti E, Caldon M, Falcato C, Gallina A, Mutinelli F.
J Invertebr Pathol. 2010 Nov;105(3):335-40. doi: 10.1016/j.jip.2010.08.004. Epub 2010 Sep 24.
[Sudden deaths and colony population decline in Greek honey bee colonies.](#)

- ♦ Bromfield ES, Tambong JT, Cloutier S, Prévost D, Laguerre G, van Berkum P, Thi TV, Assabgui R, Barran LR.
Microbiology. 2010 Feb;156(Pt 2):505-20. doi: 10.1099/mic.0.034058-0. Epub 2009 Oct 29.
[Ensifer, Phyllobacterium and Rhizobium species occupy nodules of Medicago sativa \(alfalfa\) and Melilotus alba \(sweet clover\) grown at a Canadian site without a history of cultivation.](#)

- ♦ dos Santos NS, Athayde Aguiar AJ, de Oliveira CE, Veríssimo de Sales C, de Melo E Silva S, Sousa da Silva R, Stamford TC, de Souza EL.
Food Microbiol. 2012 Dec;32(2):345-53. doi: 10.1016/j.fm.2012.07.014. Epub 2012 Aug 7.
[Efficacy of the application of a coating composed of chitosan and Origanum vulgare L. essential oil to control Rhizopus stolonifer and Aspergillus niger in grapes \(Vitis labrusca L.\)](#)

- ♦ **Egelhaaf M**, Boeddeker N, Kern R, Kurtz R, Lindemann JP.
Front Neural Circuits. 2012;6:108. doi: 10.3389/fncir.2012.00108. Epub 2012 Dec 20.
[Spatial vision in insects is facilitated by shaping the dynamics of visual input through behavioral action.](#)

- ♦ Fatrcová-Šramková K, Nôžková J, Kačániová M, Máriássyová M, Rovná K, Stričík M.
J Environ Sci Health B. 2013;48(2):133-8. doi: 10.1080/03601234.2013.727664.
[Antioxidant and antimicrobial properties of monofloral bee pollen](#)

- ♦ Feás X, **Estevinho ML**.
J Med Food. 2011 Oct;14(10):1284-8. doi: 10.1089/jmf.2010.0211. Epub 2011 Jun 11.
[A survey of the in vitro antifungal activity of heather \(Erica sp.\) organic honey.](#)

- ♦ Giamarelou, H et al. 2008. *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health? International Journal of Antimicrobial Agents, 32, 106-119

- ◆ Gürdal B, Kültür S.
J Ethnopharmacol. 2012 Dec 20. doi:pii: S0378-8741(12)00846-X.
10.1016/j.jep.2012.12.012.
[An ethnobotanical study of medicinal plants in Marmaris](#)

- ◆ Jenkins R, **Cooper R**.
PLoS One. 2012;7(9):e45600. doi: 10.1371/journal.pone.0045600. Epub 2012 Sep 26.
[Improving antibiotic activity against wound pathogens with manuka honey in vitro.](#)

- ◆ Kafadar IH, Güney A, Türk CY, Oner M, Silici S.
Eklemler Hastalıkları Cerrahisi. 2012;23(2):100-5.
[Royal jelly and bee pollen decrease bone loss due to osteoporosis in an oophorectomized rat model](#)

- ◆ Karageorgopoulos, D & Falagas, M (2008). Current control and treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infection. Lancet Infect., Vol.8.

- ◆ **Karagiannidis N**, Panou-Filotheou H, Lazari D, Ipsilantis I, Karagiannidou C.
Nat Prod Commun. 2010 May;5(5):823-30.
[Essential oil content and composition, nutrient and mycorrhizal status of some aromatic and medicinal plants of northern Greece.](#)

- ◆ Margaritopoulos JT, **Bacandritsos N**, Pekas AN, Stamatis C, Mamuris Z, Tsitsipis JA.
Bull Entomol Res. 2003 Oct;93(5):447-53.
[Genetic variation of *Marchalina hellenica* \(Hemiptera: Margarodidae\) sampled from different hosts and localities in Greece.](#)

- ◆ Molan, P.C., 1992a. The antibacterial activity of honey: 1. The nature of the antibacterial activity. Bee World 73 (1), 5 – 28. Molan, P.C., 1992b. The antibacterial activity of honey: 2. Variation in the potency of the antibacterial activity. Bee World 73 (2), 59– 76.

- ◆ Molan, P.C., 1992c. Medicinal uses for honey. Beekeepers Quarterly, 26.

- ◆ Molan, P.C., 1997. Finding New Zealand honeys with outstanding antibacterial and antifungal activity. New Zealand Beekeeper 4 (10), 20– 26

- ◆ **Morita H**, Ikeda T, Kajita K, Fujioka K, Mori I, Okada H, Uno Y, Ishizuka T.
Nutr J. 2012 Sep 21;11:77. doi: 10.1186/1475-2891-11-77.
[Effect of royal jelly ingestion for six months on healthy volunteers.](#)

- ◆ Rapp RA, **Haigler CH**, Fligel L, Hovav RH, Udall JA, Wendel JF.
BMC Biol. 2010 Nov 15;8:139. doi: 10.1186/1741-7007-8-139.
[Gene expression in developing fibres of Upland cotton \(*Gossypium hirsutum* L.\) was massively altered by domestication.](#)

- ◆ Sell SA, Wolfe PS, Spence AJ, Rodriguez IA, McCool JM, Petrella RL, Garg K, Ericksen JJ, Bowlin GL.
Int J Biomater. 2012;2012:313781. doi: 10.1155/2012/313781. Epub 2012 Dec 4.
[A preliminary study on the potential of manuka honey and platelet-rich plasma in wound healing](#)

- ◆ Serrano-Díaz J, Sánchez AM, Maggi L, Martínez-Tomé M, García-Diz L, Murcia MA, Alonso GL.
J Food Sci. 2012 Nov;77(11):C1162-8. doi: 10.1111/j.1750-3841.2012.02926.x. Epub 2012 Oct 11.
[Increasing the applications of Crocus sativus flowers as natural antioxidants](#)

- ◆ Shenoy VP, Ballal M, Shivananda P, Bairy I.
J Glob Infect Dis. 2012 Apr;4(2):102-5. doi: 10.4103/0974-777X.96770
[Honey as an antimicrobial agent against pseudomonas aeruginosa isolated from infected wounds.](#)

- ◆ Slama,T. (2008). Gram negative antibiotic resistance: there is a price to pay. Critical care, Vol 12, Suppl. 4.

- ◆ **Wegener J**, Zschörnig K, Onischke K, Fuchs B, Schiller J, Müller K.
Exp Gerontol. 2013 Feb;48(2):213-22. doi: 10.1016/j.exger.2012.12.009. Epub 2012 Dec 29.
[Conservation of honey bee \(Apis mellifera\) sperm phospholipids during storage in the bee queen - A TLC/MALDI-TOF MS study](#)

6.ΙΣΤΟΣΕΛΙΔΕΣ

- ♦ <http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9C%CE%AD%CE%BB%CE%B9>
- ♦ http://www.iatronet.gr/article.asp?art_id=12089
- ♦ http://www.iama.gr/ethno/thymus_files/thymus Ioanna Xinou.pdf
- ♦ http://amhealth.biz/download/apitherapy_solutions.pdf
- ♦ http://en.wikipedia.org/wiki/Acinetobacter_baumannii
- ♦ <http://amhealth.biz/el/apitherapy/manuka-honey/mgotm100-10-manuka-honey.html>
- ♦ <http://melispathi.blogspot.gr/>
- ♦ <http://www.hellinon.net/NeesSelides/Nektar.htm>
- ♦ <http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A3%CF%84%CE%B1%CF%86%CF%85%CE%BB%CF%8C%CE%BA%CE%BF%CE%BA%CE%BA%CE%BF%CF%82>
- ♦ <http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9C%CE%AD%CE%BB%CE%B9%CF%83%CF%83%CE%B1>
- ♦ http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%92%CE%B1%CF%83%CE%B9%CE%BB%CE%B9%CE%BA%CF%8C%CF%82_%CF%80%CE%BF%CE%BB%CF%84%CF%8C%CF%82
- ♦ http://mph.med.uoc.gr/files/Dissertations/Aristodimou_2011.pdf
- ♦ <http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html>

- ◆ http://www.honeygreek.gr/main/index.php?option=com_content&view=article&id=60&Itemid=60
- ◆ <http://melissokomiaproiontamelissas.blogspot.gr/2011/02/blog-post.html>
- ◆ <http://www.kynigos.net.gr/bees/afesmos.php>
- ◆ <http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9A%CE%B7%CF%86%CE%AE%CE%BD%CE%B1%CF%82>
- ◆ <http://www.melifera.gr/apories/synthesimeliy.html>