

Działanie miodu na drobnoustroje wyizolowane z zakażonych ran

Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu

Dyrektor Instytutu: prof. dr hab. Grzegorz Spsychalski

THE ACTIVITY OF HONEY ON MICROORGANISMS ISOLATED FROM INFECTED WOUNDS

SUMMARY

The bibliographical data show that the most strong activity on pathogenic microorganisms isolated from infected wounds have the New Zealand honey manuka and meadow honey. The above mentioned honeys inhibited the growth of strains *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Sterotrophomonas maltophilia* in concentration 2.0-14.1%. The high antibacterial activity against strains of *sterotrophomonas maltophilia* has a slovakian honeydew inhibiting the growth in concentration 9.5%. The varieties of Indian honeys showed the low antibacterial activity. They inhibited the growth of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in the concentration range 15-25%. The presented data have only cognitive value, because in practice each honey applied on infected wounds and ulceration inhibit the growth of pathogenic microorganisms. If we consider that the initial honey concentration is 100%, after dilution with organic fluids and secretions in wound up to half (50%) will be sufficient for the growth inhibition and total fighting of all pathogenic microorganisms including the resistant strains to antibiotics used in therapy. A variety of clinical studies have demonstrated the good therapeutic results of market honeys origin from various countries of the world. Usually the infected wounds under influence of honey become sterile during of 7-14 days.

KEY WORDS: ANTIMICROBIAL ACTIVITY – HONEY – WOUNDS

Miód pszczeli od dawna stosowany jest z dobrym skutkiem do leczenia ran, oparzeń i owrzodzeń skóry, często zakażonych drobnoustrojami chorobotwórczymi opornymi na antybiotyki. Powstaje pytanie, jakie stężenia miodu niszczą całkowicie drobnoustroje występujące w zakażonych ranach. Miód po nałożeniu na ranę ulega w mniejszym lub większym stopniu rozcieńczeniu pod wpływem płynów ustrojowych i wydzielin. A zatem jego stężenie może w ranie zmniejszyć się nawet wielokrotnie.

Załuga i wsp. (1) podają, że najwięcej zakażeń skóry wywołują ziarniaki Gram-dodatnie (tab. 1). Szczepy *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* i *Enterococcus* sp. izoluje się w 60,0% z zakażeń dermatologicznych. Prawie o połowę mniej zakażeń powodują Gram-ujemne pałeczki tlenowe (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i inne

(34,4%). Natomiast Gram-ujemne pałeczki bez-tlenowe i inne bakterie izolowane są z zakażonych ran dość rzadko (5,6%).

Farouk i wsp. (2) metodą studzienkową przebadali działanie 15 sudańskich miodów odmianowych na 7 szczepach *Pseudomonas aeruginosa* i 5 szczepach *Staphylococcus aureus* wyizolowanych z zakażonych ran, owrzodzeń, ropni. Szczepy te w większości były odporne na antybiotyki stosowane w terapii, takie jak ampicylina, cefradyna, chloramfenikol, gentamycyna i oksytetracyklina. Natomiast badane szczepy bakterii były wrażliwe na wszystkie miody odmianowe. Średnice stref zahamowania wzrostu tych bakterii mieściły się w granicach 16,9-29,2 mm (średnio 18,7 mm).

Badania Efema i wsp. (3), którzy oceniali wielokwiatowy miód nigeryjski metodą studzienkową wskazują, że na ten produkt były wrażliwe wszystkie szczepy ziarniaków Gram-dodatnich, większość pałeczek Gram-ujemnych tlenowych oraz większość badanych bakterii bez-tlenowych. odporne na działanie miodu okazały się szczepy pałeczek tlenowych *Pseudomonas aeruginosa* oraz bakterie bez-tlenowe *Clostridium oedematiens* (tab. 2).

Tabela 1. Bakterie izolowane z zakażonych ran (wg 1).

Izolowane bakterie	Liczba izolowanych szczepów
Ziarniaki Gram-dodatnie <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Enterococcus</i> sp.	37,1 8,6 14,3
Pałeczki Gram-ujemne tlenowe <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> Inne pałeczki tlenowe	8,6 8,6 4,3 12,9
Pałeczki Gram-ujemne bez-tlenowe <i>Bacteroides</i>	1,4
Inne bakterie	4,2
Razem	100,0

Tabela 2. Działanie miodu nigeryjskiego na bakterie wywołujące zakażenia pooperacyjne (wg 3).

Bakterie wyizolowane z ran	Strefy zahamowania wzrostu wokół studzienek wypełnionych miodem (mm)
Ziarniaki Gram-dodatnie <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	≥ 30 ≥ 30 ≥ 30
Palczki Gram-ujemne tlenowe <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus</i> (inne gatunki) <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	≥ 30 ≥ 30 ≥ 30 16-28 ≤ 14
Bakterie tlenowe <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Clostridium walchii</i> <i>Clostridium tetani</i> <i>Clostridium oedematiens</i>	≥ 30 ≥ 30 ≥ 30 ≤ 14
Strefy zahamowania wzrostu szczepów: ≥ 30 mm – szczepy wrażliwe; 16-28 mm – szczepy średnio wrażliwe; ≤ 14 mm – szczepy odporne	

Cooper i wsp. (4) określili wrażliwość na nowozelandzkie miody manuka i na miód łąkowy 58 szczepów *Staphylococcus aureus* wyizolowanych z zakażonych ran. Badania prowadzono na płytkach z podłożem agarowym, do którego dodawano odpowiednie stężenia obu miodów. Stwierdzono, że miód manuka hamował wzrost wszystkich badanych szczepów gronkowców w zakresie stężeń 2-3% (średnio 2,9%), natomiast miód łąkowy w zakresie stężeń 3-4% (średnio 3,8%) (tab. 3).

W innych badaniach Cooper i Molan (5) oceniali wrażliwość na te same miody (manuka i łąkowy) 20 szczepów z rodzaju *Pseudomonas*. Badania także prowadzono na podłożu agarowym, do którego dodawano odpowiednie stężenia miodu. Wykazano, że miód manuka odznaczał się nieco silniejszym działaniem na pałeczki *Pseudomonas* niż miód łąkowy. Miód manuka hamował wzrost szczepów *Pseudomonas* w granicach stężeń 5,5-8,7% (średnio 6,9%), podczas gdy miód

łąkowy hamował wzrost tych szczepów w zakresie stężeń 5,8-9,0% (średnio 7,1%) (tab. 3).

W późniejszych badaniach Cooper i wsp. (6) określali wrażliwość na miód manuka i łąkowy 17 szczepów *Pseudomonas aeruginosa* wyizolowanych z zakażonych ran, opornych na większość antybiotyków stosowanych w terapii. Podobnie jak w poprzednich doświadczeniach, badania prowadzono w podłożu agarowym, do którego dodawano miody w odpowiednich stężeniach. Z przeprowadzonych badań wynika (tab. 3), że miód manuka hamował wzrost szczepów *Pseudomonas aeruginosa* w granicach stężeń 4,0-9,0% (średnio 7,5%), a miód łąkowy w granicach stężeń 4,3-7,8% (średnio 6,8%).

Kolejne badania Coopera i wsp. (7) dotyczyły wrażliwości na miód manuka i łąkowy szczepów *Staphylococcus aureus* i szczepów *Enterococcus* wyizolowanych z zakażonych ran, opornych i wrażliwych na antybiotyki. Miody dodawano w odpowiednich stężeniach do podłoża agarowych. Wyniki badań zebrane w tabeli 4 wskazują, że szczepy *S. aureus* i *Enterococcus* były nieco bardziej wrażliwe na miód manuka (w zakresie stężeń od 3,0-4,9% w porównaniu do miodu łąkowego (w zakresie stężeń od 3,1 do 9,7%). Nie zauważono natomiast większych różnic pomiędzy szczepami tych drobnoustrojów wrażliwymi i opornymi na antybiotyki.

Subrahmanyam i wsp. (8) oceniali działanie miodu indyjskiego z czapetki kuminowej na szczepy *Pseudomonas aeruginosa* odporne w 91-100% na 11 antybiotyków stosowanych w terapii. Miód dodawano do podłoża agarowego, a następnie określano jego stężenie hamujące wzrost badanych szczepów. Stwierdzono, że miód ten w stężeniu 5% nie hamował wzrostu żadnego z 44 badanych szczepów (ryc. 1), w stężeniu 10% hamował wzrost 3 szczepów (6,8%), w stężeniu 15% wzrost 15 szczepów (34,1%), w stężeniu 20% wzrost 39 szczepów (88,6%) i w stężeniu 25% hamował wzrost wszystkich 44 szczepów (100%). A zatem do zahamowania wzrostu badanych szczepów *Pseudomonas*

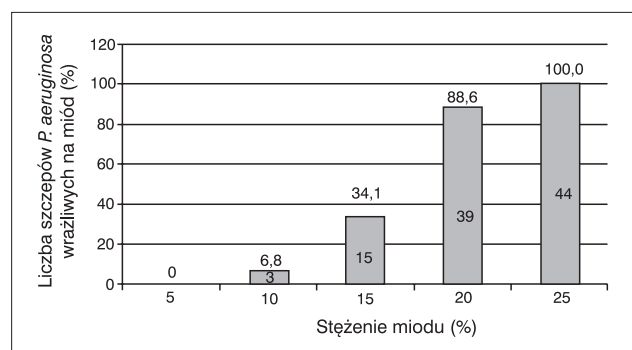
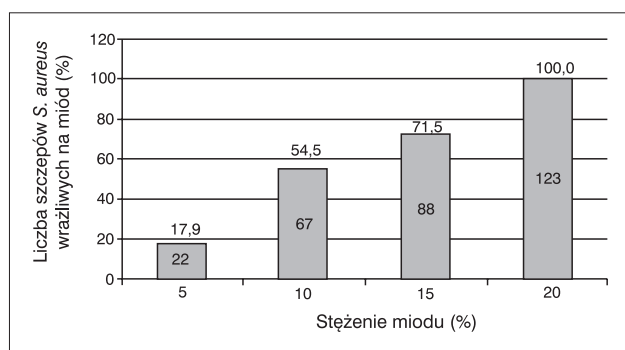
Tabela 3. Działanie nowozelandzkiego miodu manuka i miodu łąkowego na szczepy *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* sp. oraz *Pseudomonas aeruginosa* wyizolowane z zakażonych ran (wg 4-6).

Autorzy publikacji	Nazwa i liczba badanych drobnoustrojów	Stężenia miodu hamujące wzrost drobnoustrojów (%)	
		manuka	łąkowy
Cooper i wsp. (4)	<i>Staphylococcus aureus</i> (58 szczepów)	2,0-3,0 (śr. 2,9)	3,0-4,0 (śr. 3,8)
Cooper i Molan (5)	<i>Pseudomonas</i> sp. (20 szczepów)	5,5-8,7 (śr. 6,9)	5,8-9,0 (śr. 7,1)
Cooper i wsp. (6)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (17 szczepów)	4,0-9,0 (śr. 7,5)	4,3-7,8 (śr. 6,8)

Tabela 4. Działanie nowozelandzkiego miodu manuka i miodu łąkowego na szczepy *Staphylococcus aureus* i różne gatunki szczepów *Enterococcus* wyizolowane z zakażonych ran (wg 7).

Gatunki badanych ziarniaków	Oporność na antybiotyki	Liczba szczepów	Średnie stężenia miodu hamujące wzrost bakterii (%)	
			manuka	łąkowy
<i>Staphylococcus aureus</i>	MRSA+	18	3,0	3,1
<i>Enterococcus faecium</i>	VRE+	15	4,7	8,3
<i>Enterococcus faecalis</i>	VRE-	7	4,9	9,7
<i>Enterococcus</i> sp ¹	VRE+	5	4,5	9,5

¹*Enterococcus faecalis* (3), *E. avium* (1), *E. raffinosus* (1)
 MRSA+ (szczepy odporne na metacylinę)
 VRE+ (szczepy odporne na wankomycynę)
 VRE- (szczepy wrażliwe na wankomycynę)

**Ryc. 1.** Działanie miodu indyjskiego na szczepy *Pseudomonas aeruginosa* odporne na antybiotyki (wg 8).**Ryc. 2.** Działanie miodu indyjskiego na szczepy *Staphylococcus aureus* odporne i wrażliwe na antybiotyki (wg 10).

aeruginosa wyizolowanych z zakażonych ran wymagane było stężenie miodu indyjskiego w stężeniu 25%.

Badania Mullai i Menona (9), dotyczące 50 szczepów *Pseudomonas aeruginosa* izolowanych z zakażonych ran wykazały, że handlowy miód indyjski hamował ich wzrost w stężeniu 11%. Badania prowadzono z użyciem podłoża agarowych. W analogicznych warunkach środek antyseptyczny chloroksylenol, stosowany do leczenia zakażonych ran, hamował wzrost tych szczepów w stężeniu 15%.

Inni badacze hinduscy (10) określili działanie 6 miodów indyjskich na 123 szczepy *Staphylococcus aureus* wyizolowane z zakażonych ran, wielooporne i względnie wrażliwe na stosowane antybiotyki. W badaniach zastosowano metodę rozcieńczeń seryjnych miodu w podłożu płynnym. Wyniki przeprowadzonych oznaczeń wskazują (ryc. 2), że miody te w stężeniu 5% hamowały wzrost 22 szczepów (17,9%), w stężeniu 10% wzrost 67 szczepów (54,5%), w stężeniu 15% wzrost 88 szczepów (71,5%), a w stężeniu 20% oceniane miody hamowały wzrost wszystkich 123 szczepów (100%). Oznacza to, że do zahamowania wzrostu wszystkich badanych szczepów *Staphylococcus aureus*, wieloopornych i średnio wrażliwych na antybiotyki, wymagane jest stężenie co najmniej 20%

tych produktów. W niższych stężeniach tych miodów część szczepów *S. aureus* przeżywa.

Ostatnio Majtan i wsp. (11) badali wrażliwość 20 szczepów *Stenotrophomonas maltophilia*, izolowanych z owrzodzeń nowotworowych, na słowacki miód ze spadzi iglastej oraz na nowozelandzki miód manuka. Wyizolowane szczepy odznaczały się opornością na większość stosowanych antybiotyków. Badania prowadzono metodą rozcieńczeń seryjnych obu miodów w podłożach płynnych. Stwierdzono, że do zahamowania wzrostu badanych szczepów wystarczało średnio 9,5% miodu spadziowego i średnio 14,1% miodu manuka.

Z przytoczonych powyżej danych piśmiennictwa wynika, że najsilniejsze działanie na bakterie chorobotwórcze wyizolowane z zakażonych ran wykazują miody nowozelandzkie manuka i łąkowy. Miody te hamowały wzrost szczepów *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Stenotrophomonas maltophilia* w granicach stężeń 2,0-14,1%. Dużą aktywnością przeciwbakteryjną wobec szczepów *Stenotrophomonas maltophilia* odznaczał się także słowacki miód ze spadzi iglastej, hamował on ich wzrost w stężeniu 9,5%. Natomiast odmianowe miody indyjskie wykazywały stosunkowo niską aktywność przeciwbakteryjną. Hamowały one wzrost

Staphylococcus aureus i *Pseudomonas aeruginosa* w zakresie stężeń 15-25%.

Przedstawione dane mają jedynie wartość poznawczą, ponieważ w praktyce każdy miód naniesiony na zakażone rany i owrzodzenia hamuje wzrost bakterii chorobotwórczych. Jeżeli założymy, że na początku stężenie miodu wynosi 100,0%, to po jego rozcieńczeniu w ranie, pod wpływem płynów ustrojowych i wydzielin, gdy obniży się ono nawet o połowę (do 50,0%), będzie to nadal stężenie wystarczające do zahamowania wzrostu, a następnie całkowitego zniszczenia wszystkich drobnoustrojów chorobotwórczych, w tym opornych na antybiotyki stosowane w terapii. Świadczą o tym wyniki licznych badań klinicznych, w których miody handlowe, pochodzące z różnych krajów świata, dawały dobre efekty terapeutyczne. Zwykle zakażone rany pod wpływem miodu stają się po 7-14 dniach jałowe.

Piśmiennictwo

1. Załuga E, Kaczmarek A, Bielecka-Grzela S i wsp. Zewnętrzne stosowanie wybranych antybiotyków w leczeniu dermatoz bakteryjnych a problem narastania oporności drob-

noustrojów na antybiotyki. *Post Dermatol* 2000; 17:15-22. 2. Farouk A, Hassan T, Kashif H i wsp. Studies on Sudanese bee honey: Laboratory and clinical evaluation. *Int J Crude Drug Res* 1988; 26(3):161-8. 3. Efem SEE, Udoh KT, Iwara CI. The antimicrobial spectrum of honey and its clinical significance. *Infection* 1992; 20(4):227-9. 4. Cooper RA, Molan PC, Harding KG. Antibacterial activity of honey against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. *J Roy Soc Med* 1999; 92:283-5. 5. Cooper R, Molan P. The use of honey as an antiseptic in managing *Pseudomonas* infection. *J Wound Care* 1999; 8(4):161-4. 6. Cooper RA, Halas E, Molan PC. The efficacy of honey in inhibiting strains of *Pseudomonas aeruginosa* from infected burus. *J Burn Care Rehabil* 2002; 23:366-70. 7. Cooper RA, Molan PC, Harding KG. The sensitivity to honey of Gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds. *J Appl Microbiol* 2002; 93:857-63. 8. Subrahmanyam M, Hemmady AR, Pawar SG. The sensitivity to honey multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from infected burns. *Ann Burns Fire Disast* 2003; 16(2):84-8. 9. Mullai V, Menon T. Antibacterial activity of honey against *Pseudomonas aeruginosa*. *Indian J Pharmacol* 2005; 37(6):403. 10. Desphande SD, Kulkarni KS. *In vitro* effect of some Indian honeys on *Staphylococcus aureus* from wounds. *Indian J Exper Biol* 2010; 48:931-5. 11. Majtan J, Majtanova L, Bohova J i wsp. Honeydew honey as a potent antibacterial agent in eradication of multi-drug resistant *Stenotrophomonas maltophilia* isolated from cancer patients. *Phytother Res* 2011; 25:584-7.

otrzymano/received: 08.12.2013
zaakceptowano/accepted: 02.01.2014

Adres/address:
*prof. dr hab. Bogdan Kędzia
Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich
ul. Libelta 27, 61-707 Poznań
tel.: +48 (61) 665-95-50, fax: +48 (61) 665-95-51
e-mail: bogdan.kedzia@iwnirz.pl