



## Har norsk mathonning antibakteriell virkning?

Forfatter: Helene Randem Lunde, Vestby vgs

### Sammendrag

I tradisjonell medisin har honning spilt en sentral rolle i årtusener, men det er først i nyere tid at moderne medisin har begynt å se potensialet i honning. Flere nyere studier viser at honning er antibakterielt og fremmer sårheling, men det er gjort lite forskning på norsk honning. I dette forsøket ble den antibakterielle effekten til en lokalprodusert mathonning fra Ås og medisinsk Manukahonning undersøkt. Honningene ble testet på *E.coli* og melkesyrebakterien *L.plantarum*, ved bruk av agar-brønndiffusjon. Begge honningene klarte å hemme veksten av *E.coli*, men de hadde nesten ingen effekt mot *L.plantarum*. Forsøket indikerer at selv lokalprodusert, norsk honning har en antibakteriell effekt, og gir en pekepinn på hvilke bakterier den egner seg til bruk mot. For å kunne forstå og utnytte denne ressursen bedre, er det behov for mer forskning og kartlegging.

### Introduksjon

I kampen mot antibiotikaresistens har honning fått en renessanse innenfor medisinsk behandling. Honning har vist seg spesielt nyttig i sårbehandling, en utfordring som «*koster samfunnet 2-2,4 milliarder årlig*» (Pedersen, 2016). Kroniske sår er svært vanlig, særlig blant eldre. Likevel er det få som vet at «*rundt 50.000 nordmenn sliter med kroniske sår.*» (Pedersen, 2016). Flere nyere studier viser at noen typer honning har en antibakteriell virkning, men det gjenstår fremdeles mye forskning for å forstå denne virkningen (Mandal & Mandal, 2011).

Markedet for medisinsk honning er i dag dominert av Manukahonning fra New Zealand. Det er denne typen honning vi finner i Medihoney, et kommersielt tilgjengelige legemiddel for sårbehandling. Det foregår derimot mye forskning for å finne andre typer honning med liknende egenskaper (Matzen, et al., 2018). Hvor gode er de antibakterielle egenskapene til helt vanlig, norsk, ikke-sterilisert mathonning i forhold til Medihoney? Hypotesen forsøket jobbet ut ifra var: Det er kun den medisinske honningen som har en antibakteriell virkning.

### De antibakterielle egenskapene til honning

Antibakterielle egenskaper er egenskaper som «*ødelegger eller hemmer veksten av bakterier*» (Norsk helseinformatikk, 2019). Noen av de viktigste faktorene som gir honning dens antibakterielle egenskaper er: lav pH, lav vannkonsentrasjon og produksjon av hydrogenperoksid. Noen typer honning, som Manukahonning fra New Zealand, har i tillegg ekstra antibakteriell aktivitet (Mandal & Mandal, 2011). I de fleste

typer honning er det hydrogenperoksid som hovedsakelig gir honningen dens antibakterielle egenskaper. En dansk studie som undersøkte den antibakterielle effekten til honning fra danske blomster, fant at «*The antibacterial effect of Danish honeys was mostly due to hydrogen peroxide* (Matzen, et al., 2018). Konsentrasjonen av hydrogenperoksid bestemmes av mengden glukoseoksidaseenzym (notatin) i honningen og mengden katalase fra blomsterpollenet. Glukoseoksidase tilsettes av biene og katalyserer reaksjonen der glukose oksideres til hydrogenperoksid og glukonsyre. Katalase, som finnes i de fleste vevsceller hos både planter og dyr, katalyserer reaksjonen der hydrogenperoksid omgjøres til oksyngengass og vann. Geografi, sesong, plantekilde, høsting, prosessering og oppbevaring er alle faktorer som er med på å bestemme effekten av honningen (Mandal & Mandal, 2011).

## Materialer

Medihoney™ består av en standard blanding av honning med antibakterielle egenskaper, inkludert monofloral honning fra Manukatreet. Monofloral honning er honning lagd av nektar fra kun en type plante. (Merckoll, et al., 2009). Honningen ble oppbevart i plasttuben fra produsenten fram til forsøket fant sted.

Den lokale honningen kom fra en lokal birøkter, og er ment for konsum. Det er en sommerhonning produsert sommeren 2019. Raps, bladhonning og andre sommerblomster var de viktigste trekk-kildene dette året. Trekk-kilder er planter biene henter nektar fra. Bladhonning er spesiell, fordi den kommer fra honningdugg/ bladlussukker og ikke blomsternektar. Honningdugg er et «*sukkerholdig sekret som skilles ut av bladlus og andre sugende insekter*» (Sletten, 2009). Honningen ble slynget og deretter innpodet med 10 % podehonning fra året før, for å kontrollere krystalliseringen av honningen. Honningen ble oppbevart kjølig i en plastbeholder, og ble ikke utsatt for temperaturer over grensen for rå honning på 45 grader celsius i henhold til forskrift om honning fra mattilsynet (Mattilsynet, 2018). Som med de fleste lokale honninger, er det ikke tidligere blitt fortatt noen test for å avgjøre dens antibakterielle virkning.

*E.coli* er en gramnegativ bakterie, som utgjør en viktig del av tarmfloraen hos mennesker (Sirevåg, 2019). *L.plantarum* er en grampositiv melkesyrebakterie, som trives i temperaturer mellom 15 - 45 grader celsius og i lavere pH enn de fleste bakterier. (Wikipedia, 2019). Studier har vist at *L.plantarum* produserer hydrogenperoksid som en forsvarsmekanisme (Ángeles-López, Ramos, & Santiago, 2001). Forskjellen mellom gramnegative og grampositive bakterier ligger i oppbyggingen av bakteriens ytre struktur. Navnet kommer av at grampositive bakterier farges under gramfarging, mens gramnegative bakterier ikke lar seg farge. Noen typer antibiotika har ulik virkning på grampositive og gramnegative bakterier, fordi virker ved å ødelegge den ytre strukturen.

## Metode

Honningene ble testet ved bruk av agar-brønndiffusjon på to ulike bakterier, *E.coli* og *L.plantarum*. Metoden går ut på å la stoffet man ønsker å teste, diffundere i agar inokulert med bakterier. *E.coli* og *L.plantarum* vokser optimalt på ulike typer næringsagar, henholdsvis BHI og MRS, ved 37°C. I hver plate ble det lagd 6 brønner, der tre brønner ble fylt med honning, og tre brønner ble fylt med sterilt vann som negativ kontroll.

Dersom et antibiotikum klarer å hemme bakterievekst eller drepe bakterier, vil det rundt brønnen være en *hemningssone*, et område uten synlig bakterievekst. Størrelsen på dette område forteller oss hvor effektivt antibiotikumet er. Etter 24 timer ble diameteren på sonen rundt honningprøvene målt og sammenliknet.

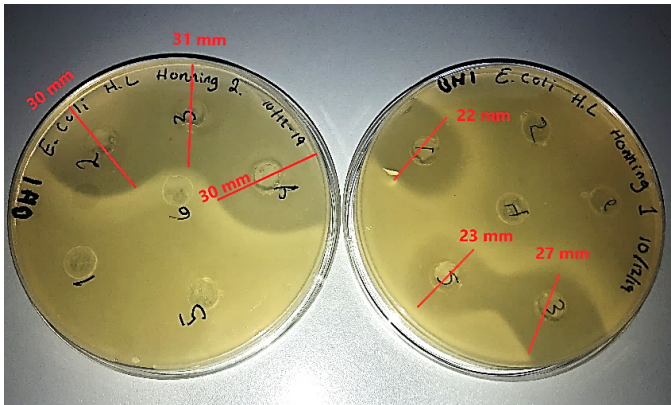
## Resultater

Tabell 1 Oversikt over platene og resultater for måling av hemningssone.

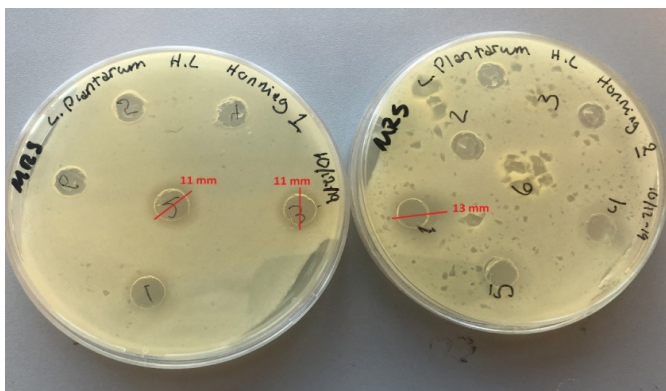
Plate #	Bakterie	Antibakterielt middel	Diameter hemningssone * (mm)		
			1	2	3
1	<i>E.coli</i>	Medisinsk honning	22	23	27
2	<i>E.coli</i>	Lokal honning	30	31	30
3	<i>L.plantarum</i>	Medisinsk honning	- (8) **	11	11
4	<i>L.plantarum</i>	Lokal honning	13	-(8)	-(8)

\*Hemmingssone viser egentlig til et område uten noe bakterievekst, men i denne forstand er hemningssone brukt om området hvor bakterieveksten var synlig hemmet.

\*\* ingen synlig hemningssone. Diameter av brønn uten klaringszone er 8 mm



Figur 1 Lokal honning (t.v) og medisinsk honning (t.h) sin effekt på veksten av *E.coli*.



Figur 2 Medisinsk honning (t.v) og lokal honning (t.h) sin effekt på veksten av *L.plantarum*.

NB! Urenhetene på bildet til høyre er et resultat av at softagaren stivnet litt før den ble helt over platene og er ikke knyttet til honningen.

På platene med *E.coli* ble det observert hemningssoner på omtrent 20-30 mm. I disse sonene var bakterieveksten synlig hemmet, men bakterieveksten var ikke helt forhindret. På platene med *L.plantarum* ble det ikke observert like tydelige hemningssoner. Noen av parallellene viste et område på omkring 1-2 mm utenfor brønnen hvor bakterieveksten så ut til å være hemmet.

## Diskusjon

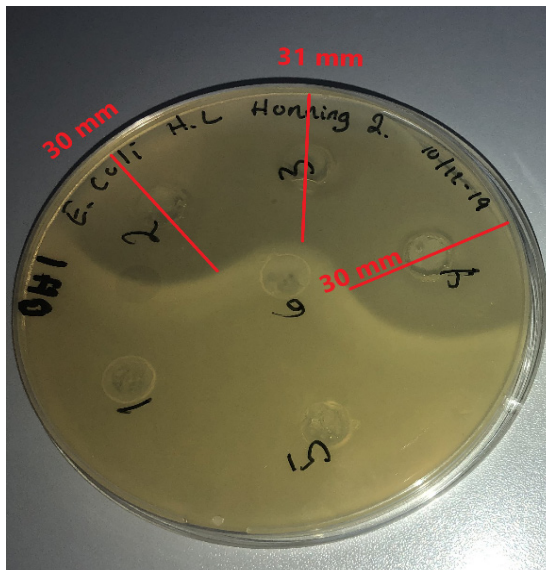
Hensikten med dette forsøket var å undersøke den antibiotiske effekten til en norsk, lokalprodusert mathonning, og sammenligne den med effekten til medisinsk Manukahonning. Honningene ble testet på to typer bakterier, *E.coli* og *L.plantarum*. Det er ikke gjort mye forskning på norsk honning tidligere, men dette forsøket indikerer at norskprodusert mathonning kan ha en hemmende effekt på veksten av *E.coli*-bakterier.

På *E.coli* virket begge honningene hemmende, men ikke på *L.plantarum*. Et lite område som strakte seg omkring 1-2 mm utenfor brønnen var synlig rundt noen av brønnene for *L.plantarum*. Ettersom ikke alle parallellene viste dette område, kan det også være et resultat av naturlig variasjon eller feilkilder. Den eventuelle virkningen er uansett minimal sammenlignet med effekten på *E.coli*. Som nevnt tidligere er det hydrogenperoksid som hovedsakelig gir honning dens antibakterielle effekt. På Norsk Legemiddelhåndbok sine sider under L1.9.1.4 Hydrogenperoksid, står det følgende:

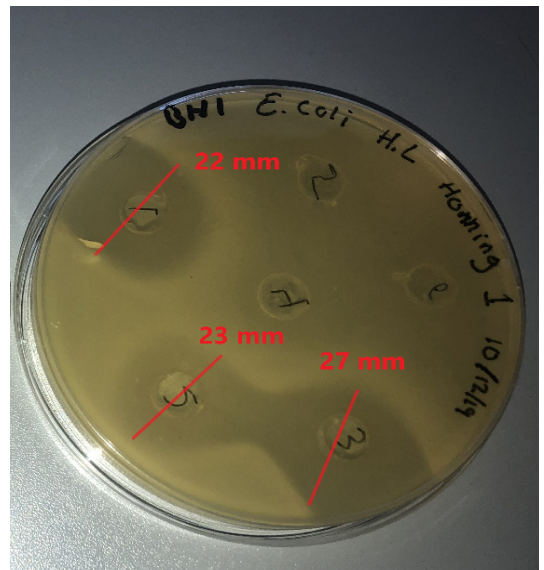
*«Hydrogenperoksid har raskt inaktiverende effekt på vegetative bakterier, mykobakterier, virus og sopp. Gramnegative bakterier er mer følsomme enn grampositive. Generelt er hydrogenperoksid bakteriestatisk ved konsentrasjoner under 3% og baktericid over 3%.» (Norsk legemiddelhåndbok, 2016).*

Ettersom *E.coli* er gramnegativ og *L.plantarum* er grampositiv, kan dette forklare hvorfor honningen hadde så mye høyere effekt mot *E.coli*. Når man sammenligner egenskapene til *L.plantarum* og honningen kan man også se flere grunner til hvorfor honningen ikke klarte å hemme veksten. *L.plantarum* tolererer lav pH, derfor vil lav pH i honning ikke ha noen effekt. Den kan selv produsere hydrogenperoksid, og derfor vil ikke hydrogenperoksid produsert av enzymer i honning virke hemmende. Dette er fordi den må ha en slags beskyttelse mot hydrogenperoksidet den selv sender ut. Den medisinske honningen bruker derimot ikke hydrogenperoksid, men metylglyoksal, som sin viktigste måte å drepe bakterier. Dersom metylglyoksal svekker den ytre membranen til de gramnegative bakteriene, kan det forklare hvorfor honningen hadde større effekt mot *E.coli*. Her bør en påpeke at det fremdeles forskes på hva som forårsaker den ekstra antibakterielle effekten av Manukahonning. Selv om mye peker i retning av metylglyoksal, er det også trolig andre faktorer som spiller en rolle. Denne studien testet kun én gramnegativ bakterie mot én grampositiv bakterie, men resultatet viste best effekt på den gramnegative bakterien for begge honningene. Den danske studien fant derimot at *«The antibacterial effect of the honeys was greatest on the three gram-positive pathogens as compared to the gram-negative pathogens.»* (Matzen, et al., 2018). Derfor burde forsøket gjentas med flere typer bakterier for å avgjøre om det er *L.plantarum*s produksjon av hydrogenperoksid, eller kvalitetene den har som en grampositiv bakterie som gjorde den såpass motstandsdyktig. Da bør en også undersøke om denne typen bakterier har større toleranse for hydrogenperoksid og metylglyoksal enn andre bakterier.

Sammenlikner man hemningssonene til den lokale honningen og hemningssonene til den medisinske honningen mot *E.coli*, viser resultatene litt større soner for den lokale honningen. Sonene til den lokale honningen har en diameter på  $(30 \pm 0,5)$  mm, mens sonene til den medisinske honningen har en diameter på  $(24 \pm 2,5)$  mm. Dette kan indikere at den lokale honningen har større evne til å hemme veksten av *E.coli* enn den medisinske, men det er behov for flere paralleller for å kunne konkludere. Feilkilden som i størst grad kan ha påvirket resultatet er ulik mengde honning i brønnene. Dersom de tre triplikatene var identiske, ville man forventet samme diameter på hemningssonen. Dette ser vi på brønnene fylt med lokal honning. For den medisinske honningen er avviket større, og det kan tyde på at brønnene innad i petriskålen ikke har lik mengde honning.



Figur 3 At hemningssonene til de tre triplikatenes er så jevnstore, indikerer at det er like stor mengde honning i hver brønn.



Figur 4 Avviket på diameteren til triplikatenes for den medisinske honningen, var større enn avviket for den lokale. Det kan skyldes ulik mengde honning i de tre brønnene.

Som nevnt tidligere, er det mange faktorer som spiller inn i honningens antibakterielle effekt. Det finnes derfor ingen garanti for at neste års honning fra samme produsent vil gi samme resultater. Årets honning kan ha hatt en fordel, fordi den inneholdt så mye bladhonning. En studie utført ved Oslo universitetssykehus som undersøkte effekten av steril norsk skogshonning og Medihoney™ på flere antibiotikaresistente bakteriearter, fant at begge honningene drepte alle de undersøkte bakteriene (Merckoll, Jonassen, Vad, & et al., 2009). Skogshonning består hovedsakelig av bladhonning. Man kan tenke seg hvorfor bladhonning kan være fordelaktig om man ser tilbake på teorien rundt produksjon av hydrogenperoksid. Honningdugg inneholder trolig mindre katalase enn nektar, ergo mindre som motvirker produksjonen av hydrogenperoksid. Dette kan man derimot ikke si noe sikkert om uten å teste det.

Honning er på full fart inn i moderne medisin, men det gjenstår fremdeles mye forskning på norsk honning. I mitt arbeid med dette forsøket har jeg kun funnet én norsk studie gjennomført på én type honning (Merckoll, et al., 2009). Det finnes omtrent 40 000 bikuber i vårt langstrakte land, og i dem kan det ligge mye uoppdaget potensiale. Den danske studien fant faktisk at noen av de danske honningene hadde bedre effekt enn Manukahonning på flere typer bakterier (Matzen, et al., 2018). Dette er et forskningsområde som har stort potensiale for praktisk utnyttelse og som kan vise seg å bli viktig i kampen mot antibiotikaresistens. I jakten på nye løsninger har vi gjenfunnet gammel kunnskap, men det er fremdeles mye vi ikke vet om en av våre eldste medisiner. Det står fortsatt igjen mange ubesvarte spørsmål rundt hvilke faktorer som påvirker honningens antibakterielle aktivitet, og vi kommer ikke nærmere svarene uten forskning og kartlegging.

## Konklusjon

Den lokale og den medisinske honningen klarte å hemme, men ikke fullstendig forhindre veksten av *E.coli*. Ingen av honningene hadde noen nevneverdig effekt mot melkesyrebakterien *L.plantarum*. For å kunne trekke noen videre konklusjon trengs det mer forskning, men studien indikerer at både lokal mathonning og Manukahonning har en effekt på *E.coli*, og at den effekten ikke er så ulik.

Dette er et område hvor det ikke er gjort mye forskning tidligere, spesielt ikke i Norge. Det er derfor behov for mer forskning og kartlegging, slik at man kan forstå og utnytte denne ressursen bedre.

## Kilder

- Ángeles-López, M., Ramos, E., & Santiago, C. A. (2001). Hydrogen peroxide production and resistance to nonoxinol-9 in *Lactobacillus* spp. isolated from the vagina of reproductive age women. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 43, ss. 171-176.
- Langaas, H. C., & Eriksen, A. K. (2014, 03 18). *Riktig bruk av penicillin*. Hentet 01 14, 2020 fra relis.no: [https://relis.no/Publikasjoner/2014/Riktig\\_bruk\\_av\\_penicillin/](https://relis.no/Publikasjoner/2014/Riktig_bruk_av_penicillin/)
- Mandal, M. D., & Mandal, S. (2011, 04 01). Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, ss. 154-160.
- Mattilsynet. (2018, 09 03). *Honning*. Hentet 12 05, 2019 fra mattilsynet.no: [https://www.mattilsynet.no/mat\\_og\\_vann/produksjon\\_av\\_mat/Lokalmat/honning.21601](https://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/produksjon_av_mat/Lokalmat/honning.21601)
- Matzen, R. D., Leth-Espensen, J. Z., Jansson, T., Nielsen, D. S., Lund, M. N., & Matzen, S. (2018, 06 19). The Antibacterial Effect In Vitro of Honey Derived from Various Danish Flora. *Dermatology Research and Practice*, s. <https://doi.org/10.1155/2018/7021713>.
- Merckoll, P., Jonassen, T., Vad, M., & et al. . (2009, 07 08). Bacteria, biofilm and honey: a study of the effects of honey on «planktonic» and biofilm-embedded wound bacteria. *Scandinavian journal of infectious diseases*, ss. 341-347 .
- Norsk helseinformatikk. (2019, 12 17). *Antibiotika*. Hentet 12 12, 2019 fra nhi.no: <https://nhi.no/sykdommer/infeksjoner/diverse/antibiotika/>
- Norsk legemiddelhandbok. (2016, 11 16). *Antimikrobielle midler - Hydrogenperoksid*. Hentet 02 09, 2020 fra legemiddelhandboka.no: <https://www.legemiddelhandboka.no/L1.9.1.4/Hydrogenperoksid>
- Pedersen, K. (2016, 12 10). Etter kreften kom såret som ikke ville gro . *Bergens tidende*, ss. 8-9.
- Sirevåg, R. (2019, 08 09). *E.coli*. Hentet 01 07, 2020 fra snl.no: [https://sml.snl.no/E.\\_coli](https://sml.snl.no/E._coli)
- Sletten, A. (2009, 02 14). *Honningdugg*. Hentet 12 12, 2019 fra snl.no: [https://snl.no/honningdugg\\_-\\_biologi](https://snl.no/honningdugg_-_biologi)
- Wikipedia. (2019, 09 02). *Lactobacillus plantarum*. Hentet 01 05, 2020 fra wikipedia.org: [https://no.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus\\_plantarum](https://no.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus_plantarum)