

De antibacteriële werking van honing



Auteurs:

Marit ten Hove
Maud ten Napel
Lisa Plettenburg
Cathelijn Sprakel
Helen Wagenvoort

De antibacteriële werking van honing



Auteurs:

Marit ten Hove
Maud ten Napel
Lisa Plettenburg
Cathelijn Sprakel
Helen Wagenvoort

Klas: EBM1D Groep A
Enschede, 02-07-2014
Biologie en Medische Laboratorium onderzoek
Saxion Hogeschool Enschede

Inhoudsopgave

Samenvatting	4
Inleiding	5
Theoretische achtergrond	6
Honingsoorten	6
Soorten bacteriën	11
Principe	12
Onderzoeksstrategie	13
Materiaal & methoden	14
Resultaten	15
Discussie	18
Conclusie	20
Aanbevelingen	21
Literatuurlijst	22
Bijlagen	24
Protocollen	24
Meetresultaten	26

Samenvatting

Uit wetenschappelijke studies is gebleken dat bepaalde soorten honing een antibacteriële werking hebben. Om te onderzoeken of honing zonder geneesmiddel ook een antibacteriële werking heeft, wordt er gekeken naar verschillende soorten honing. Er is gekozen voor supermarkthoning, imkerhoning, Manukahoning, Medihoney en Revamil. Medihoney en Revamil zijn producten die in de geneeskunde worden gebruikt. De gebruikte bacteriën bij dit project zijn *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* en de *Escherichia coli*. De verwachting is dat de medische honing een betere antibacteriële werking heeft dan de supermarkt-, imker- en Manukahoning. Ook wordt er verwacht dat er na 24 uur de antibacteriële werking per honingsoort afneemt.

Om de resultaten te verkrijgen, worden er eerst agarplaten gemaakt. Hierna worden gaasjes gemaakt en er honing of zalf opgelegd. Daarna wordt er een positieve en negatieve test uitgevoerd. Hieruit zijn de antibiotica vancomycine en tetracycline uitgekomen om te gebruiken als positieve test bij elke well-diffusion test. De negatieve test wordt gedaan met demiwater. Na deze test wordt de well-diffusion test uitgevoerd. Hierbij worden de vijf soorten honing getest met de drie soorten bacteriën. Dit wordt op twee manieren gedaan. De bacteriën zijn op alle agarplaten aangebracht. Daarna zijn er op de ene helft direct de gemaakte gaasjes aangebracht en op de andere helft zijn de gaasjes aangebracht, nadat de agarplaten met bacteriën 48 uur in de stoof zijn geweest. Zo wordt er bekeken of de bacterie remmend en dodend werkt. De remcirkels worden na 24 uur opgemeten. Ook is er gekeken hoe de antibacteriële werking is na 19, 24 en 46 uur.

De volgende resultaten zijn gevonden: bij de agarplaten waar de wondgaasjes later zijn aangebracht dan de bacteriën, zijn er geen remcirkels gevonden. Bij de agarplaten waarbij meteen bacteriën en wondgaasjes zijn aangebracht, zijn wel remcirkels gevonden. Hierbij hebben imkerhoning en Manukahoning een grote antibacteriële werking op *E. coli*. Imkerhoning heeft ook een effect op de groei van *S. aureus*. Manukahoning en Medihoneygaas hebben een klein beetje effect op de groei van *S. aureus*. De imkerhoning heeft ook effect op de *S. pyogenes*, in tegenstelling tot de rest van de honingsoorten. Hiernaast is er ook gemeten na 19, 24 en 46 uur. Er is te zien dat Revamilgaas geen effect heeft op de bacteriegroei van *E. coli*. Ook is er bij de andere honingsoorten te zien dat bij een langere tijd de antibacteriële werking toeneemt.

Er is te zien dat Revamilgaas geen effect heeft op de bacteriegroei van *S. aureus*. Alleen bij Medihoneygaas en supermarkthoning is er een stijging van de antibacteriële werking op *S. aureus*. Bij *S. pyogenes* is er na 24 uur een afname tot 0% van de antibacteriële werking van de honingsoorten. Bij Revamilzalf, Revamilgaas en Medihoneygaas is er na 19 uur een antibacteriële werking van 0% gemeten.

Uit de resultaten kan worden opgemerkt dat bij de well-diffusion test de imkerhoning de beste antibacteriële werking heeft, bij de drie gebruikte bacteriën en alleen bij de methode met nog niet gegroeide bacteriën. Revamil- en Medihoneyzalf werken beide niet, bij beide methoden. Met de resultaten van de metingen van 19, 24 en 46 uur kan worden gezegd dat de honingsoorten een effect hebben op de *E. coli* en *S. aureus* na 24 uur. De honingsoorten hebben na 24 uur geen effect op *S. pyogenes*.

Voor de volgende keer is het raadzaam de metingen vaker in duplo te meten. Ook is het verstandig om te kijken naar de hoeveelheid honing op de zelfgemaakte gaasjes. Ook waren niet alle gaasjes 1 bij 1 cm, omdat de gaasjes uitelkaar vielen. Dit kan worden voorkomen door stevigere gaasjes te gebruiken. Ook is het beter de gaasjes in een exsiccator te drogen, in plaats van in een stoof. Dan zijn de gaasjes goed ingedroogd.

Steekwoorden: honing ~ antibacteriële werking ~ well-diffusion test

Inleiding

Honing wordt al veel gebruikt in de geneeskunde. Zowel in de gezondheidszorg als in de dierenwereld. (1) Uit recente wetenschappelijke studies is gebleken dat bepaalde soorten honing een antibacteriële werking hebben, zoals Manukahoning.

Er is gekeken naar welke medische honing en welke honing uit de supermarkt en van de imker het meest antibacterieel is. Om een totaal beeld te geven van de honing is er gekozen om supermarkthoning, imkerhoning, Manukahoning, Medihoney en Revamil te gebruiken. Medihoney en Revamil zijn producten die in de geneeskunde worden gebruikt. Om deze honingsoorten te testen op antibacteriële werking wordt er gebruikt gemaakt van bacteriën van de huid. Er is voor de huid gekozen, omdat er op de huid wonden voorkomen. De meest voorkomende bacteriën op de huid zijn *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) en *Streptococcus pyogenes* (*S. pyogenes*). De *Escherichia coli* (*E. coli*) bacterie komt voor in de darmen. *E. coli* kan worden gevonden in besmet water en voedsel. Hierdoor kan deze bacterie ook in de wond komen. (2) Deze bacteriën worden bij dit experiment gebruikt, omdat deze bacteriën veel voorkomen in wonden. (3)

De vraag is of medische honing meer antibacterieel is dan supermarkthoning, imkerhoning of Manukahoning. Om dit te onderzoeken, worden de honingsoorten op een voedingsbodem met de gekozen bacteriën gebracht. Uit deze resultaten kan worden opgemaakt of honing daadwerkelijk een antibacteriële werking heeft. Ook kan worden bekeken of een bepaalde honingsoort een betere antibacteriële werking heeft dan een andere honingsoort. Dit wordt bekeken door middel van de remcirkel.

De verwachting is dat de medische honing een betere antibacteriële werking heeft dan supermarkthoning, imkerhoning en Manukahoning. Ook wordt er verwacht dat er na 24 uur de antibacteriële werking per honingsoort afneemt, omdat de suikers in de honing dan verbruikt zullen zijn door de bacteriën.

Theoretische achtergrond

Honingsoorten

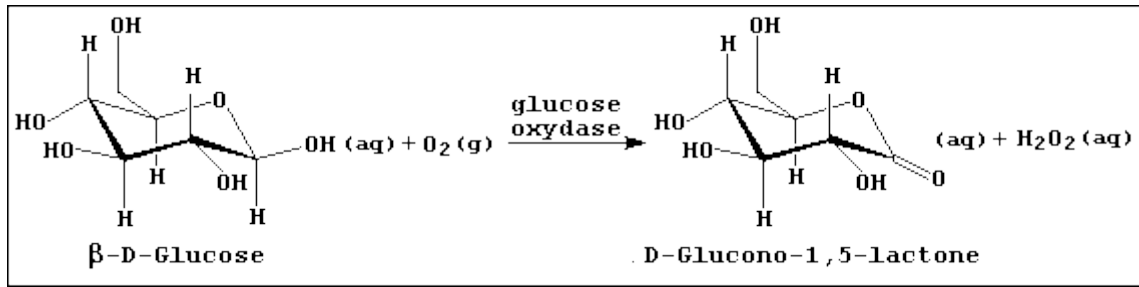
Honing algemeen

Honing is zowel een dierlijk als een natuurlijk product, wat ontstaat als bijen nectar uit bloemen halen en dit omzetten naar honing. (4) Het hele proces begint met de haalbij. De haalbij zuigt de bloemennectar op met haar tong. De nectar gaat dan via de keelholte naar de honingmaag. Met een klepje wordt de honingmaag afgesloten van de spijsvertering van de honingbij. De bij heeft kopklieren die enzymen produceren. Deze enzymen voegt hij toe aan de nectar. In de spijsbuis wordt sacharose omgezet in glucose en fructose. Het gewicht van de nectar is afhankelijk van het suikergehalte. De haalbijen geven de nectar via de snuit door aan de huisbij. Deze huisbijen geven de honing ook weer aan elkaar door. Door de nectar steeds door te geven, worden er steeds meer enzymen uit de kopklieren aan de nectar toegevoegd. Ook verdwijnt er tijdens het doorgeven van de nectar 40 tot 50 procent van het vocht. (5) Als nectar in de bloem zit, dan heeft het een vochtgehalte van 80%. (4) Nadat de nectar vaak aan elkaar is doorgegeven, wordt het opgeslagen in een raatcel. De raatcellen zitten boven en achter het broed, want daar is de temperatuur het hoogst. Door de warmte verdampt het overtollige water tot er ongeveer 16 tot 20%, dan is de honing rijp. De honing wordt dan getransporteerd naar een honingcel, waar hij wordt verzegeld met een wasdeksel. (5) De pH van de honing is nu tussen de 3,3 en de 4,2. (4)

Om de honing te winnen, ontzegelt de imker als eerste de raten. Vervolgens wordt de honing uit de raten geslingerd. Dan volgen er een aantal zuiveringsstappen om de stuifmeelklompjes en de onzuiverheden uit de honing te halen. Als dat is gebeurd, kunnen de potten worden gevuld. (5) De kleur en de smaak van de honing worden bepaald door de oorsprong van de nectar, maar ook in hoeverre de honing gekristalliseerd is. Aan de hand van stuifmeelanalyse kan worden gekeken wat de oorsprong van de nectar is. Ook kan men zien of de honing bloemvast is. De samenstelling van een gemiddelde honing is: 38% fructose, 31% glucose, 5 tot 15% meervoudige suikers, 15 tot 20% vocht en 3% overige stoffen. Bij de overige stoffen moet worden gedacht aan enzymen, vezels, vitaminen, mineralen en stuifmeelkorrels. Het vochtpercentage mag volgens de Europese richtlijn niet hoger zijn dan 20%. De houdbaarheid van de honing is namelijk afhankelijk van het vochtgehalte. (6)

Honing mag in geen geval aan kinderen onder de 1 jaar worden gegeven. Honing kan namelijk sporen van *Clostridium botulinum* bevatten. Bij jonge kinderen werkt het immuunsysteem nog niet voldoende, zodat de sporen kunnen uitgroeien tot werkende bacteriën. (4)

Honing dankt zijn antibacteriële werking onder andere aan Glucose Oxidase. Glucose Oxidase is een enzym dat glucose en water omzet in gluconzuur en waterstofperoxide. Dit gebeurt alleen als honing in contact komt met vocht. (7) Voor de reactie zie figuur 1.



Figuur 1: Reactievergelijking van Glucose Oxidase met glucose en zuurstof tot gluconolactone en waterstofperoxide (8)

Waterstofperoxide remt de groei van de bacteriën en het gluconzuur creëert een zuur milieu, waardoor de groei van bacteriën wordt geremd. Een andere antibacteriële eigenschap van honing is het hoge suikergehalte. Dit is een natuurlijke barrière voor de bacteriën, het vertraagt de groei ervan. Dit komt doordat de suiker zorgt voor een hoge osmotische waarde. Hierdoor vindt er plasmolyse plaats bij de bacteriën, waardoor de groei sterk verminderd wordt. (9)

Supermarkthoning

Vaak staat op een pot honing in de supermarkt afkomst: Niet EU. Deze honing komt vooral uit China en Zuid-Amerika. De honing wordt daar ingekocht in grote hoeveelheden en vervolgens gemengd tot een product met altijd dezelfde smaak. Het kan zelfs voorkomen dat dat er suikerwater gemengd wordt met de honing, waardoor het geen natuurzuiver product meer is. (10) In Nederland geldt dat de honing maximaal 45 °C mag worden verwarmd. In niet-Europese landen wordt dit met een hogere temperatuur gedaan. Door deze hoge temperatuur gaan er veel voedingsstoffen verloren van de honing. (11) Bij deze hoge temperatuur gaat Glucose Oxidase denatureren, want deze is erg warmtegevoelig. (5)

De supermarkthoning die gebruikt wordt, is de vloeibare bloemenhoning van het merk 'Het Zuiden'. Op de verpakking staat dat honing afkomstig is van diverse veld- en weidebloemen en dat deze honing daarom de smaak verenigt van verschillende soorten honing. Er staat ook dat de honing koudgeslingerd is en dat de honing gegarandeerd natuurzuiver is. De herkomst van de honing is van buiten de EU.

Imkerhoning

Imkerhoning is duurder dan de supermarkthoning, omdat de honing op een ambachtelijke manier wordt geoogst. Ook is het honingseizoen in Nederland maar kort. Het loopt van maart/april tot juli/augustus. Dit is in tegenstelling tot andere werelddelen, waar de honingproductie het hele jaar door gaat. De imkerhoning in Nederland wordt niet verhit en is een natuurzuiver product. (12)

De imkerhoning die gebruikt wordt, is de Heidehoning van Imkerij de Gelderse Vallei in Opheusden. Heidehoning is een geurige, pittige, volbruine honing met een vochtgehalte van maximaal 23%. (4) (13) Het wordt ook wel de 'Koning onder de honing' genoemd. De honing is zo stijf, dat als de pot omgekeerd wordt gehouden, er geen honing uitloopt. De honing komt vooral uit Brabant, waar de bijenvolken op de heide worden gezet van begin augustus tot en met half september. Het oogsten van de honing gebeurt in de periode daarna. (14)

Revamil

Revamil is een zachte, hydrofiele wondgel dat uit 100% zuivere honing bestaat. Ook zijn er wondgaasjes van Revamil met dezelfde werking. Revamil zorgt voor een optimale antibacteriële behandeling van acute, chronische en geïnfecteerde wonden. Er zijn een aantal factoren die voor een optimale antibacteriële bescherming zorgen. Eén daarvan is de lage wateractiviteit die zorgt voor een optimale antibacteriële bescherming. De wateractiviteit is een maat voor de hoeveelheid vrij water in een product. Doordat honing een lage wateractiviteit heeft, kunnen de meeste bacteriën slecht overleven. Dit betekent dat er weinig water in de honing aanwezig is. De honinggel creëert een vochtig herstellend milieu. De zachte gel vloeit goed over en in de wond door de lichaamstemperatuur en kleeft niet aan de wond. Ook de geur van de wond wordt geneutraliseerd door de gel.

Revamil kan gebruikt worden bij acute, chronische en geïnfecteerde wonden. Zoals diabetisch voetulcera (voetzweren door suikerziekte), ulcus cruris ('open been', zweer aan het onderbeen), kleine brandwonden (1e/2e graad) en decubituswonden (doorligwonden). (15)

Medihoney

Medihoney is een antibacteriële honing die voor 100% uit Manukahoning bestaat en die speciaal gemaakt is voor de behandeling van complexe wonden en huidproblemen. Het wordt vergoed door de ziektekostenverzekeraar als men een recept heeft voor Medihoney.

Er zijn meerdere leveranciers die de honing op de markt brengen. Er zijn natuurlijk wel hele grote verschillen in werking en kwaliteit. Medihoney beweert dat het een hogere antibacteriële werking heeft dan andere honing soorten. Medihoney is niet afhankelijk van waterstofperoxide. Daardoor is het zelfs als het sterk verdund is met wondvocht nog effectief. Daardoor kan het verband langer blijven zitten (tot 7 dagen). De patiënt zal Medihoney als niet pijnlijk ervaren.

In Medihoney komen geen zware metalen voor zoals zilver, pesticiden, verontreinigingen of andere schadelijke stoffen. Daardoor is Medihoney niet schadelijk en kan het zelfs langdurig bij kleine kinderen gebruikt worden. Doordat Medihoney een meervoudige werking heeft kan het in iedere fase van wondgenezing ingezet worden. (16)

Medihoney kan gebruikt worden bij ulcus cruris, diabetische voet, brandwonden, oncologische wonden, oncologische ulcera, skin-tears (huidscheuring), donorsites en acceptorplaatsen en geïnfecteerde acute wonden. (17)

Manuka honing

Plant

De Manuka (*Leptospermum scoparium*) is een kleine boom of struik van de mirtefamilie. Als de boom bloeit dan heeft hij rood-witte bloemen. Hij komt voor in Nieuw-Zeeland, in het zuiden van Australië en in Zuidoost Azië. (18) De Maori gebruikten vroeger de plant als medicijn. Twee bekende antibacteriële producten van de Manuka zijn de Manukahoning en de theeboomolie. (19)

Honing

De Manukahoning wordt gemaakt door bijen, die het maken van de nectar van manukabloemen. De honing dankt zijn antibacteriële eigenschappen aan een aantal factoren. Honing blokkeert de vorming van biofilms. (20) Een biofilm is een laagje wat de bacterie beschermt tegen antibiotica. Verder is er een antibacteriële eigenschap die alleen Manukahoning heeft: de werkzame stof Methylglyoxal.

Methylglyoxal

Manuka honing bevat hoge concentraties methylglyoxal in vergelijking met andere producten. Methylglyoxal is een stof wat bestand is tegen hitte, lichaamsvocht, licht en enzymactiviteiten. De concentratie in de honing verschilt van jaar tot jaar. Daarom moet elke partij Manukahoning getest worden op het methylglyoxalgehalte. Alleen is er geen zekerheid of methylglyoxal wel veilig is. Er is nog niet genoeg onderzoek gedaan naar de veiligheid ervan. Men weet ook nog niet precies wat voor positief of negatief effect methylglyoxal heeft op het lichaam.

Uit onderzoek is gebleken dat methylglyoxal tegen de volgende bacteriën werkt:

- *Helicobacter pylori* → maagzweer en zweren in de twaalfvingerige darm
- *Staphylococcus aureus* of MRSA → zeer resistent voor de meeste antibiotica
- *Escherichia coli* → voedselvergiftiging
- *Streptococcus pyogenes* → keelpijn (7)

UMF (Unique Manuka Factor)

De UMF is een meetwaarde die bepaald hoe antibacterieel de honing is. Deze meetwaarden worden bepaald door de Active Manuka Honey Association (AMHA). (21) Het UMF is ontworpen door Dr. Peter Nolan, hoofd van de onderzoeksgroep Waikato Honey Research Unit van de Universiteit van Waikato. Deze groep deed onderzoek naar de samenstelling van honing. (22) De aanduiding van UMF is gelijk aan de antibacteriële werking van hetzelfde percentage fenoloplossing. (23) De gradaties van UMF lopen van 0 tot en met 20. Als de UMF boven de 16 is dan mag de honing als hoog antibacterieel worden beschouwd. (7)

MGO (milligram methylglyoxal per kg honing)

De MGO is een meetwaarde die vaststelt hoeveel methylglyoxal er in de honing zit. Deze meetwaarden worden bepaald door de AMHA. (21) Het MGO is ontworpen door professor Thomas Henle van de Universiteit van Dresden. MGO staat voor milligram methylglyoxal per kilogram honing. (22) De gradaties van MGO lopen van 0 mg/kg tot 1000 mg/kg. Als de MGO hoger is dan 250 mg/kg, dan heeft de honing een hoge antibacteriële werking. (7)

Er is geen duidelijk onderscheid te vinden tussen UMF en MGO. Het zou goed kunnen zijn dat de unieke Manuka factor het methylglyoxalgehalte is. Dit zou een logische verklaring zijn waarom, zoals in tabel 1, de UMF en MGO waarden aan elkaar worden gelijk gesteld.

Zo is er bijvoorbeeld te zien dat een UMF van 20 gelijk staat aan een MGO van 400 mg/kg. Ook is er, in tabel 1, te zien hoe sterk de antibacteriële werking is en welke sterkte voor welke kwaal gebruikt kan worden aan de hand van de gradaties van UMF en MGO.

Tabel 1: UMF en MGO waarde van verschillende sterktes (21)

UMF	MGO	Werking	Gebruik
5	30	Zoals gewone honing	Voor kleine kwalen, niet aan te bevelen bij grote infecties
10	100	Lichte werking	Voor een sterker immuunsysteem
15	250	Sterke werking	Voor kwalen waarbij je een hoge antibacteriële werking nodig hebt
20	400	Heel sterke werking	Voor kwalen waarbij je een heel hoge antibacteriële werking nodig hebt
25	550	Sterkste werking	Voor kwalen die de sterkste antibacteriële werking nodig hebben

Soorten bacteriën

Bij het onderzoeken van de antibacteriële werking van honing worden verschillende bacteriën gebruikt, namelijk *S. pyogenes*, *S. aureus* en *E. coli*. Deze bacteriën zijn gekozen omdat *S. pyogenes* en *S. aureus* op de huid voorkomen en ziektes en besmettingen kunnen veroorzaken. *E. coli* is gekozen omdat volgens de fabrikanten van de Manuka honing, door de hoge concentratie methylglyoxal, hier speciaal tegenwerkt. (24)

Streptococcus pyogenes

S. pyogenes is een grampositieve bacterie, die een invasieve en niet-invasieve variant heeft. De niet-invasieve variant komt vaak voor en zorgt voor ziektes zoals krentenbaard, die vooral bij kleine kinderen voorkomen.

De invasieve variant komt niet zo vaak voor. Deze variant kan zorgen voor buikvliesontsteking, longontsteking en andere infectieziekten.

De antibiotica die bij tegen deze bacterie werkt, is natrium penicilline. Natrium penicilline zorgt ervoor dat de bacteriën afsterven.

Staphylococcus aureus

Deze bacterie komt bij veel mensen voor, vooral op de huid en in de neus. Het is een grampositieve bacterie en veroorzaakt normaal geen ziekte, maar als de huid en de slijmvliezen beschadigt zijn kan het wel voor een infectie zorgen. Dit kunnen verschillende soorten infecties zijn, zoals een huidinfectie. Een aantal vormen van deze bacterie zijn multiresistent, wat betekent dat hij tegen meerdere bacteriën kan.

Escherichia coli

E. coli is een gramnegatieve bacterie die veel in de dikke darmen voorkomt en meehelpt in de vertering. Het is een facultatief anaerobe bacterie, wat betekent dat de bacterie met en zonder zuurstof kan leven.

De antibiotica die goed werkt tegen de *E. coli* is ampicilline. Deze antibiotica kan bij gramnegatieve bacteriën de cel in. Daar beïnvloed hij de aanmaak van het enzym Transpeptidase. Zonder dit enzym kunnen er geen celwanden worden gevormd en kan de cel dus niet delen. (25)

Principe

Positieve & negatieve test

De bacteriën worden op de agar gebracht, die in petrischalen zit. Dan wordt er meteen bovenop de bacteriën de antibiotica aangebracht. Ook wordt er water op de agar aangebracht, hiervoor moet er wel een druppel agar bovenop het water aangebracht worden. Dan worden de petrischalen op de kop in de stoof gezet. Twee dagen later worden ze er weer uitgehaald en kan de diameter van de remcirkels worden opgemeten.

Well-diffusion test

De bacteriën worden op de agar gebracht, die in petrischalen zit. Dan wordt er meteen bovenop de bacteriën de vloeibare honing, de honingzalf en de honinggaasjes aangebracht. Dan worden de petrischalen op de kop in de stoof gezet. Twee dagen later worden ze er weer uitgehaald en kan de diameter van de remcirkels worden opgemeten.

Agarplaten

Er wordt PCA bij demiwater gevoegd. Dit wordt gemengd en geautoclaveerd. Daarna wordt het verhit en laten afkoelen tot het bijna vast word. Dan wordt het in de petrischalen gegoten. Als het een gel is geworden, kan de bacterie erop worden aangebracht.

Wondgaasjes maken

Er worden vierkante gaasjes geknipt van 1 bij 1 cm onder zo steriel mogelijke omstandigheden. Hierop wordt een bepaalde hoeveelheid honing aangebracht en wordt het gedroogd in een exsiccator. Hierna wordt het gewicht vergeleken met de wondgaasjes van de fabrikanten Revamil en Medihoney.

Onderzoeksstrategie

Het doel van dit onderzoek is het onderzoeken van de antibacteriële werking van de honinggaasjes. Er wordt gekeken naar de remcirkels rondom de gaasjes: hoe groter de afstand vanaf het gaasje tot de rand van de remcirkel is, hoe groter de antibacteriële werking is. Er wordt gekeken naar het verschil tussen zeven honingsoorten: supermarkt-, imker- en Manukahoning, Revamilzalf, Revamilgaas, Medihoneyzalf en Medihoneygaas.

Om de praktijk zo goed mogelijk na te bootsen, worden er van de commerciële honing wondgaasjes gemaakt. De gaasjes worden vervolgens overgoten met supermarkt-, imker- en Manukahoning, Revamilzalf en Medihoneyzalf. Dit wordt zo gedaan, omdat de originele honinggaasjes van Revamil en Medihoney wondgaasjes zijn, die in honing zijn gedoopt. Er is gekozen om de zalf van Revamil en Medihoney te testen op een gaasje. Dit is, omdat in de praktijk de zalf altijd op gaasjes wordt gedaan.

De positieve en negatieve test wordt gedaan om te kijken of de agar begroeibaar is en de bacteriën kunnen groeien. Ook wordt er gekeken of de antibiotica effectief tegen de gebruikte bacteriën. Hierbij ontstaan er remcirkels. Met de well-diffusion test wordt gekeken naar de remcirkels van verschillende wondgaasjes met honing. De grootte van de remcirkel is een maatstaf hoe antibacterieel de werking van honing is. Hoe groter de cirkel, hoe beter de werking.

De well-diffusion test wordt in totaal vier keer uitgevoerd. Dit wordt gedaan door het experiment twee keer in duplo te doen. Het aantal is berekend met behulp van een powerberekening. Hierbij werd aangenomen dat antibacteriële werking van medische honing 100% en van commerciële honing 70% is. Als standaard deviatie is 15% genomen. Hierbij werd gekozen voor een alfa van 5% en het gewenste vermogen van 80%.

De gaasjes worden op twee manieren onderzocht: 'hoe werkt een gaasje als deze wordt aangebracht, nadat bacteriën al 48 uur gegroeid zijn?' en 'hoe werkt een gaasje als deze wordt aangebracht, net nadat de bacteriën zijn aangebracht?'. Deze twee methoden worden beide vier keer uitgevoerd.

De verwachting is dat op de platen met de medische gaasjes een grotere remcirkel zal ontstaan dan op de platen met de honing van de imker en van de supermarkt. Ook is de verwachting dat de remcirkels van de gaasjes met zalf even groot zijn.

Materiaal & methoden

De *Escherichia coli* en de *Staphylococcus aureus* zijn gekweekt op PCA agar. Deze agar werd gemaakt door 17,5 gram PCA (nummer .0401) per liter demiwater te mengen. De agar werd daarna geautoclaveerd. Daarna werd het verhit tot 100 °C. Nadat de agar was afgekoeld tot 50-60 °C werd het in de petrischalen gegoten. De *Streptococcus pyogenes* is gekweekt op bloedagar (nummer .0346). De bloedagar is gemaakt door 40 gram bloedagar per liter demiwater toe te voegen. De agar werd daarna geautoclaveerd om het steriel te maken, waarna het verhit werd tot 100 °C. Nadat de agar was afgekoeld tot 50 °C werd er 94,5 ml steriel schapenbloed aan toegevoegd. Daarna werd de agar in de overige petrischalen gegoten.

Daarnaast werd er een positieve test uitgevoerd met penicilline, tetracycline, erythromycine en vancomycine. Deze antibiotica zijn getest op *S. pyogenes*, *S. aureus* en *E. coli*. Als negatieve test is water gebruikt. Deze is alleen de eerste keer meegenomen met de positieve negatieve test. De diameters van de remcirkels werden daarna opgemeten.

Er werden vierkante gaasje geknipt van ongeveer 1 bij 1 cm. Hierna werden ze in de honing gelegd, totdat het gaasje verzadigd was met de honing. Daarna zijn de honinggaasjes in steriele petrischalen gelegd, waarin 4 kleine gaatjes zaten. Vervolgens zijn de honinggaasjes 48 uur in de stoof bij 37 °C geweest, zodat de gaasjes konden drogen. Daarna werden de petrischalen met honinggaasjes in de koele kamer neergezet. Dit alles is gedaan onder zo steriel mogelijke omstandigheden.

Ten slotte werd de well-diffusion test uitgevoerd. Dit werd gedaan door de remcirkels te bekijken en op te meten. Op de helft van de petrischalen werd meteen naar het aanbrengen van de bacterie, de honinggaasjes aangebracht. Bij de andere helft petrischalen werden de wondgaasjes pas aangebracht, nadat de bacteriën 48 uur in de stoof (37 °C) hebben gezeten. Bij elke meting is een positieve test meegenomen. Bij de eerste meting zijn de gaasjes (met en zonder groei) 24 uur in de stoof geweest. Daarna zijn de remcirkel gemeten. Bij de tweede zijn gaasjes na 19,24 en 46 uur gemeten.

Resultaten

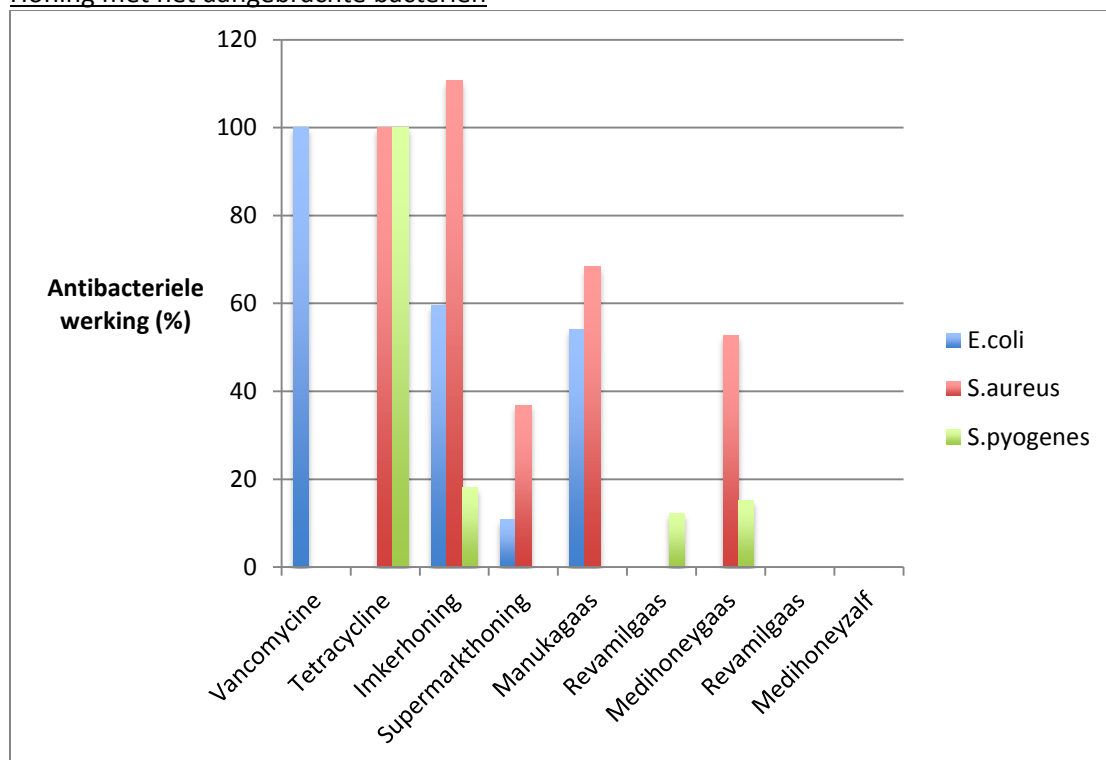
Het doel van het experiment was om de antibacteriële werking van honing te testen. Dit is uitgevoerd door de bacteriën op een agarplaat te strijken en daarna er een honingverbandje op te leggen. De platen zijn daarna 24 uur in de stoof geweest. Bij *E. coli* en *S. aureus* is PCA agar gebruikt. Bij *S. pyogenes* is bloedagar gebruikt.

Er zijn bacteriën op de agarplaten gestreken en er is meteen een honingverbandje op gelegd. De platen zijn 24 uur in de stoof geweest bij 37 graden.

De antibacteriële werking is berekend door de remcirkel te delen door de remcirkel van de antibiotica. Hierbij is een percentage berekend.

Bij *E. coli* werd tetracycline als positieve test gebruik. Bij *S. aureus* en *S. pyogenes* werd vancomycine gebruikt.

Honing met net aangebrachte bacteriën



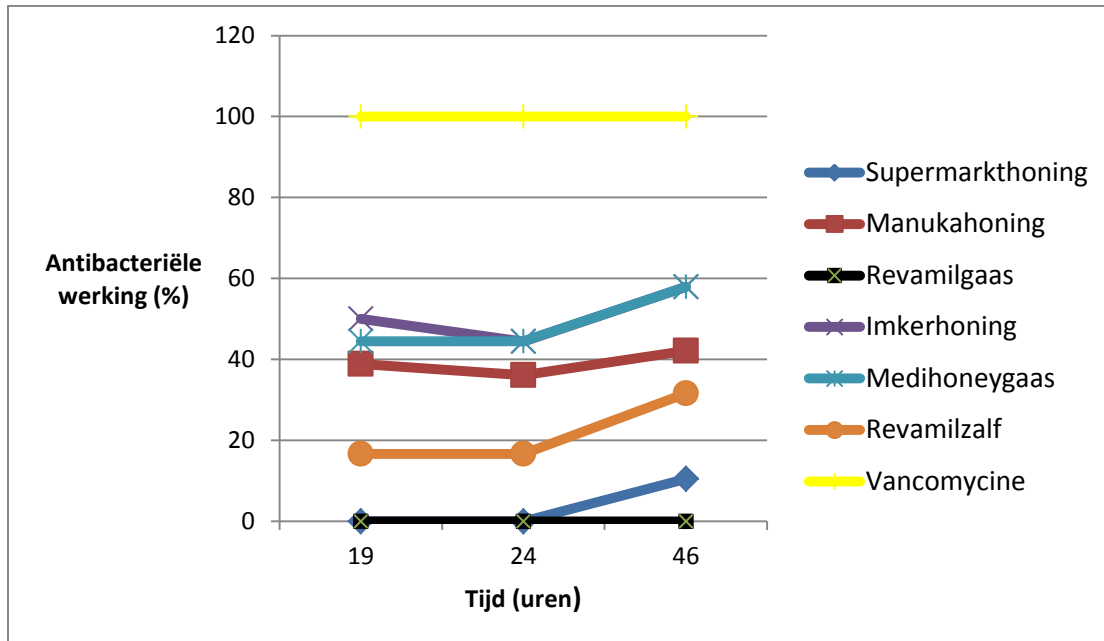
Grafiek 1: De antibacteriële werking van honingsoorten en antibiotica tegen *E. coli*, *S. aureus* en *S. pyogenes*.

In grafiek 1 is te zien dat de honingsoorten in verschillende mate effect hebben op de verschillende bacteriën. Er is duidelijk te zien dat de imkerhoning heel veel effect heeft op de *S. aureus* en minder op *E. coli* en *S. pyogenes*. Wat opvalt, is dat het Medihoneygaas een grote antibacteriële werking heeft bij de *S. aureus* en bijna geen effect heeft op de *S. pyogenes*. Het Revamilgaas werkt alleen bij *S. pyogenes*.

Na het bestrijken van de platen en daarna 48 uur incuberen bij 37 graden, is er na deze 48 uur een honinggaasje op gelegd. Hierbij zijn geen remcirkels ontstaan na nog eens 24 uur.

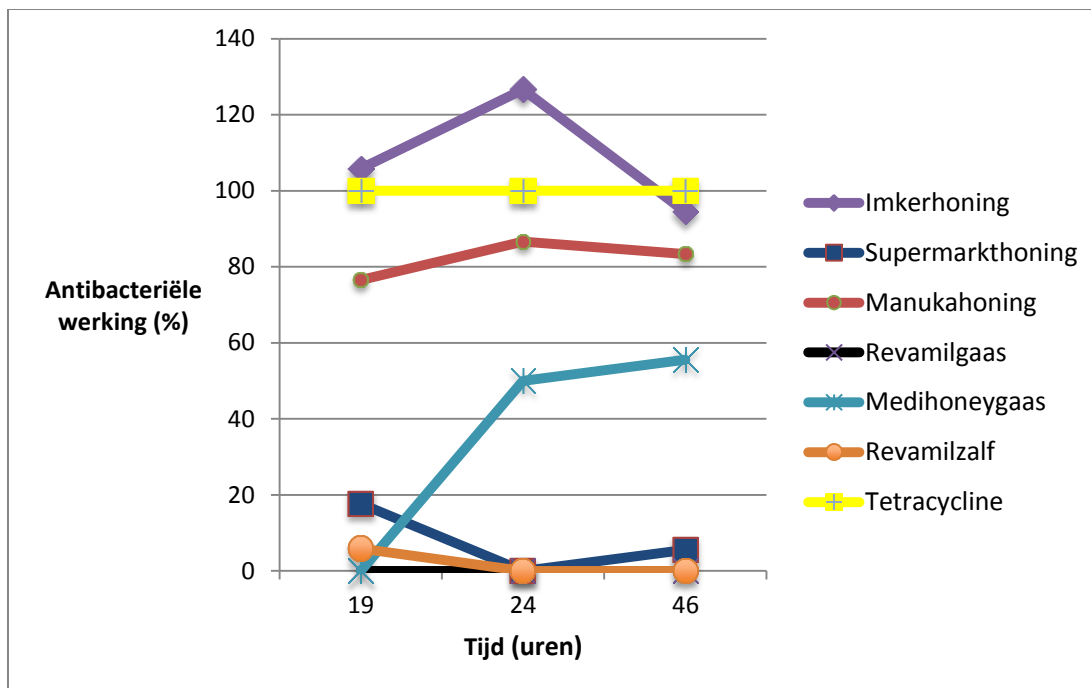
Antibacteriële werking honingsoorten t.o.v. de tijd

Bij dit experiment zijn er bacteriën op een agarplaat gestreken en is er een honingverbandje op de plaat gelegd. Ook hierbij is voor *S. pyogenes* bloedagar gebruikt. Voor *E. coli* en *S. aureus* is PCA agar gebruikt. Daarna zijn de agarplaten in de stoof gezet bij 37 graden en na 19, 24 en 46 uur eruit gehaald. De antibacteriële werking is berekend door de remcirkel te delen door de remcirkel van de antibiotica.



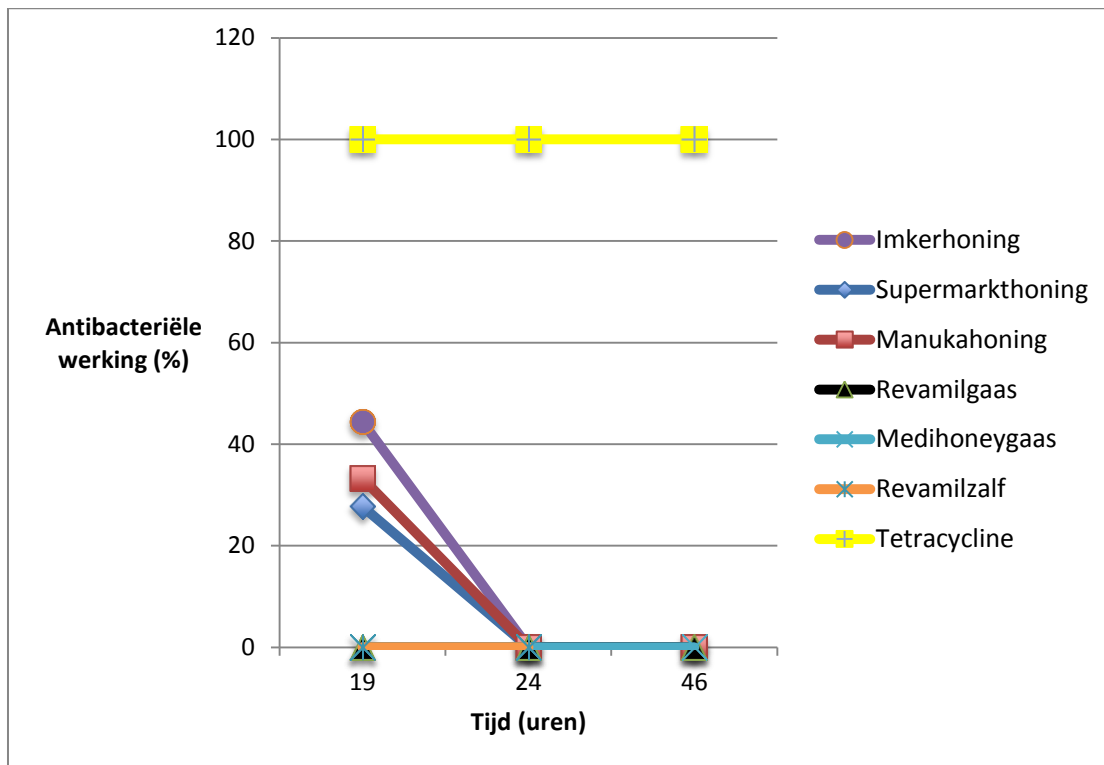
Grafiek 2: De antibacteriële werking (%) van verschillende honingsoorten bij *E. coli*.

In grafiek 2 is te zien dat het Revamilgaas geen antibacteriële werking had bij 19, 24 en 46 uur. Wat opvalt, is dat tussen 19 en 24 uur de antibacteriële werking van supermarkthoning, Manukahoning, imkerhoning, Medihoneygaas en Revamilzalf afneemt en tussen 24 uur en 46 uur weer toeneemt.



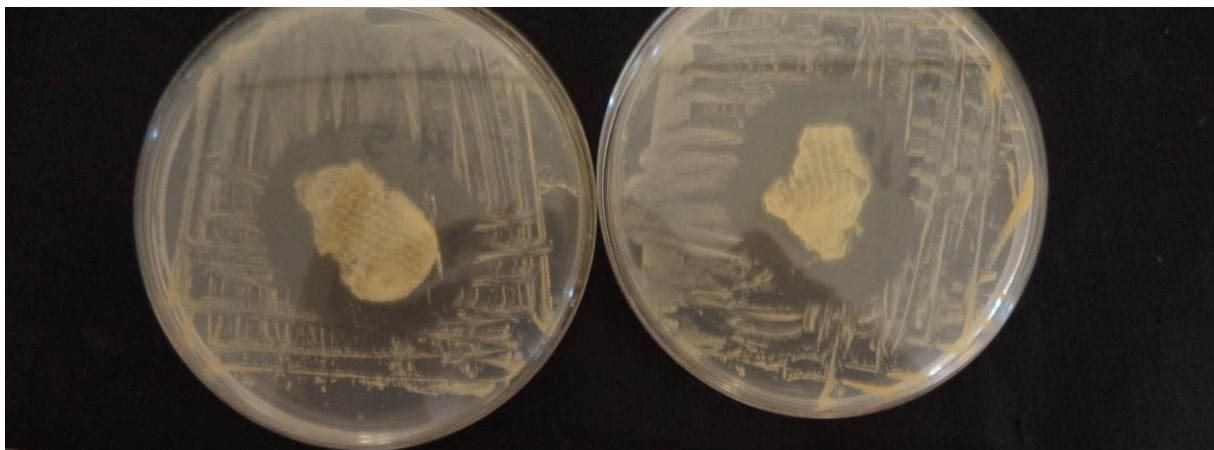
Grafiek 3: De antibacteriële werking (%) van honingsoorten bij *S. aureus*.

In grafiek 3 is te zien dat bij de imkerhoning tussen de 19 en 24 uur de antibacteriële werking toeneemt en daarna weer afneemt. Wat opvallend is, is dat bij het Medihoneygas bij 19 uur bijna geen antibacteriële werking is en het daarna heel erg toeneemt.



Grafiek 4: De antibacteriële werking (%) van honingsoorten bij *S. pyogenes*.

In grafiek 4 is te zien dat de imkerhoning, de supermarkthoning en de Manukahoning een hoge antibacteriële werking hebben bij 19 uur en dat ze bij 24 uur geen antibacteriële werking meer hebben.



Figuur 2: foto van remcirkels bij *S. aureus* met een wondgaasje van imkerhoning.

Deze foto is genomen om te laten zien hoe een remcirkel er uit ziet. Op de foto zijn twee remcirkels te zien van de imkerhoning op net aangebrachte *S. aureus*.

Discussie

Betrouwbaarheid en nauwkeurigheid

De proeven zijn in duplo uitgevoerd. De verschillen tussen de duplo's zijn klein, dit geeft aan dat de proef betrouwbaar is. Onze resultaten zijn nauwkeurig, omdat de resultaten van de petrischalen door tenminste twee personen zijn bekeken. Alle proeven zijn uitgevoerd met een positieve en negatieve test, omdat op meerdere dagen in meerdere weken bacteriën zijn aangebracht. Dit is ook voor de nauwkeurigheid, omdat de bacteriën door ons zelf werden overgeënt. Op deze manier kan de concentratie van de bacteriën per keer dat bacteriën werden aangebracht op de agar verschillen. De positieve en negatieve test zorgt ervoor dat er een mogelijk verschil van de bacterieconcentraties wordt opgeheven.

Honing met net aangebrachte bacteriën

Als er gaasjes aangebracht werden op de petrischalen waar ook net zojuist de bacteriën waren aangebracht, hadden bepaalde gaasjes een antibacteriële werking. Dit is verschillend per bacterie. Bij *E. coli* hebben de imker-, supermarkt- en Manukahoning een remcirkel. Bij *S. aureus* hebben de imker-, supermarkt- en Manukahoning en Medihoneygaas een remcirkel. Bij *S. pyogenes* hebben de imkerhoning, Revamil- en Medihoneygaas een remcirkel. Deze verdeling is niet consequent, behalve voor de imkerhoning. Deze honing komt namelijk voor bij elke gebruikte bacterie. Daarnaast is het ook nog eens de honingsoort met steeds het hoogste percentage antibacteriële werking. Met deze gegevens kan gezegd worden dat imkerhoning het beste werkt. Het doel van deze proeven is gelukt: het vergelijken van de antibacteriële werking door de remcirkels van honingsoorten te vergelijken. Er is namelijk goed te zien of er een remcirkel is ontstaan of niet. Hiervan kan bepaald worden dat de imkerhoning de beste antibacteriële werking heeft.

Honing met 48 uur geïncubeerde bacteriën

Als er honinggaasjes aangebracht werden op de petrischalen met al reeds gegroeide bacteriën, hadden de gaasjes geen antibacteriële werking. De antibacteriële werking is namelijk 0%. Dit kan komen doordat de honing de hoeveelheid bacteriën niet aan kan. De honing remt namelijk even de bacteriegroei en daarna groeien de bacteriën weer. Dit is te verklaren aan de hand van de resultaten van 19 en 24 uur. Dit is het beste te zien in grafiek 4. In grafieken 2 en 3 is het ook te zien bij bepaalde honingsoorten, maar in grafiek 4 is de bacteriegroei het beste te zien. De lijnen dalen allemaal vanaf 19 uur. De resultaten van deze proeven zijn niet verwacht, omdat gedacht was dat er remcirkels zouden ontstaan. Deze zijn niet ontstaan, waarschijnlijk omdat de honing niet sterk genoeg is om de bacteriën te remmen. Het doel van deze proeven is dus ook niet gelukt: het vergelijken van de antibacteriële werking door de remcirkels van honingsoorten te vergelijken.

Antibacteriële werking honingsoorten t.o.v. de tijd

In grafiek 2 staan de soorten honing getest zijn op *E. coli*. Er is te zien dat het Revamilgaas geen effect heeft op de bacteriegroei. Ook is er bij de andere honingsoorten te zien dat bij een langere tijd de antibacteriële werking toeneemt. Dit betekent dat de antibacteriële werking van de honingsoorten, behalve Revamilgaas, op *E. coli* na 46 uur nog steeds aanwezig is. Dit is niet wat er verwacht werd. Er werd juist verwacht dat na 24 uur de antibacteriële werking van de honingsoorten zou afnemen. In grafiek 3 staan de soorten honing getest op *S. aureus*. Er is te zien dat Revamilgaas weer geen effect heeft op de bacteriegroei. Alleen bij het Medihoneygaas en bij de supermarkthoning is er een stijging van de antibacteriële werking op *S. aureus*. Ook valt het op dat de medische honingsoorten, gaas en zalf, laag scoren. De verwachting was dat deze juist de beste antibacteriële werking zouden hebben.

In grafiek 4 staan de honingsoorten getest op *S. pyogenes*. Er is na 24 uur een afname tot 0% van de antibacteriële werking van de honingsoorten. Bij Revamilzalf, Revamilgaas en Medihoneygaas is er na 19 uur een antibacteriële werking van 0% gemeten. De verwachting dat alle honingsoorten na 24 uur een antibacteriële werking van 0% hebben, komt in overeenstemming met de resultaten.

Alle honinggaasjes die op de begroeide platen zijn gelegd, hebben op alle tijdstippen een antibacteriële werking van 0%. Dit is ook tegen de verwachting in. Er werd gedacht dat de medische honingsoorten een hogere antibacteriële werking zouden hebben dan de andere honingsoorten. Wat hiervan de oorzaak is, is onbekend.

Mogelijke verklaringen

In de Manukahoning zit methylglyoxal, zoals beschreven staat in de theoretische achtergrond. Dit kan de hoge antibacteriële werking van de Manukahoning verklaren. Dit is vooral goed te zien in grafiek 3.

Een mogelijke verklaring zou kunnen zijn dat imkerhoning de hoogste suikerconcentratie heeft van de zeven onderzochte honingsoorten. Een hoge suikerconcentratie zorgt voor een hoge osmotische waarde. Hierdoor vindt plasmolyse plaats, omdat water de cel verlaat met behulp van osmose. De bacteriën functioneren dan niet meer. Bovendien geldt er voor de suikerconcentratie: hoe hoger deze is, hoe minder wateractiviteit er is. Bacteriën kunnen niet groeien als er weinig wateractiviteit is. (26) Dit komt doordat er geen water beschikbaar is voor de bacterie om te groeien. Daarbij komt ook nog dat suiker door peroxidase wordt omgezet naar waterstofperoxide, deze stof werkt antibacterieel. Een andere oplossing zou kunnen zijn dat de imkerhoning het zuurste milieu heeft, hierdoor wordt namelijk de bacteriegroei geremd. (26) Imkerhoning is dus het meest antibacterieel van de zeven onderzochte honingsoorten, dit resultaat was niet verwacht.

Imkerhoning is dus het meest antibacterieel van de zeven onderzochte honingsoorten, dit resultaat was niet verwacht. Daarnaast werken de andere honingsoorten niet allemaal tegen elke bacterie. Medihoneyzalf en Revamilzalf hebben beide geen antibacteriële werking tegen de drie gebruikte bacteriën. Dit was niet verwacht, omdat deze soorten als medisch worden beschouwd. De verklaring waarom deze niet werken, zou kunnen zijn dat er niet genoeg van de zalf was aangebracht op de gaasjes. Dan werkt de honing in de zalf korter. Daarnaast kan het ook nog liggen aan de zalf zelf. Het zou kunnen dat de zalf (een) bepaalde stof(fen) bevat, die niet tegen of door de agar kan/kunnen.

Fabrikant Medihoney

De fabrikant van Medihoney geeft aan dat het verband tot wel 7 dagen kan blijven zitten. Dit kan doordat Medihoney niet afhankelijk is van waterstofperoxide. In de experimenten is niet getest op 7 dagen, maar er is wel gekeken naar de antibacteriële werking in verloop van tijd. Hieruit blijkt dat de antibacteriële werking van Medihoneygaas groter wordt na 46 uur in combinatie met *E. coli* en *S. aureus*. Dit komt dus in overeenstemming met de fabrikant, omdat het gaas nog steeds werkt na 46 uur. De antibacteriële werking van Medihoneygaas in combinatie met *S. pyogenes* is 0%. Medihoneygaas werkt dus niet tegen *S. pyogenes* en wel tegen *E. coli* en *S. aureus*.

In de werkelijkheid

Als honing aangebracht wordt op een wond, komt er wat vocht van de wond bij de honing. Door de kleine hoeveelheid vocht wordt de osmotische waarde lager. Hierdoor wordt ook de suikerconcentratie lager. Toch maakt dit niet uit voor de antibacteriële werking van de honing, omdat uit onze resultaten blijkt dat de meeste honingsoorten nog wel blijven werken.

Conclusie

Honing met net aangebrachte bacteriën

De imkerhoning heeft de beste antibacteriële werking, bij de drie gebruikte bacteriën en alleen bij de methode met nog niet gegroeide bacteriën. Revamil- en Medihoneyzalf werken beide niet, bij beide methoden.

Antibacteriële werking honingsoorten t.o.v. de tijd

Met de resultaten kan gezegd worden dat de honingsoorten een effect hebben op *E. coli* en *S. aureus* na 24 uur. De honingsoorten hebben na 24 uur geen effect op *S. pyogenes*.

De conclusie is dat imkerhoning de beste antibacteriële werking heeft op *E. coli*, *S. aureus* en *S. pyogenes*. De verwachting was echter dat juist de medische honing de beste antibacteriële werking zou hebben. De imkerhoning had ook de grootste remcirkels. De honingsoorten hebben bij *E. coli* en *S. aureus* wel effect na 24 uur, maar bij *S. pyogenes* niet.

Aanbevelingen

Het is voor de volgende keer verstandig om te kijken naar de hoeveelheid honing op de zelfgemaakte gaasjes. Bij de medische honing was het moeilijk de zalf op de gaasjes te krijgen, dus de gaasjes zaten niet helemaal onder de zalf. Niet alle honing was vloeibaar genoeg om het gaasje te verzadigen. Om een optimaal resultaat te krijgen is het dus verstandig om dezelfde hoeveelheid op elk gaasje te hebben.

Niet alle gaasjes waren 1 bij 1 cm. Dat kwam omdat het lastig was te knippen. De gaasjes vielen al uit elkaar. Ook tijdens het aanbrengen van de soorten honing vielen de gaasjes uit elkaar. Dit kan worden voorkomen door stevigere gaasjes te gebruiken.

Het drogen van de gaasjes in de stoof werkte niet goed, de gaasjes met honing waren nog nat. De bedoeling was om gedroogde honinggaasjes op de petrischalen te leggen. Dit is niet gebeurd. De volgende keer is het verstandig om een exsiccator (vacuüm-droogapparaat) te gebruiken.

De volgende keer is het verstandiger om in kleinere tijdsintervallen te meten. Hierdoor wordt er een betrouwbaarder beeld gecreëerd van de antibacteriële werking van de honing per tijd. Als een persoon dan alle metingen doet, wordt een uitschieter eerder opgemerkt.

Aan de hand van de gekregen meetresultaten zijn er nog andere ideeën gegroeid om een vervolgonderzoek te doen.

De honingsoorten kunnen ook onderzocht worden in een medium. Hiervan worden dan na een bepaald aantal uur in de stoof verschillende concentraties gemaakt en gemeten in de spectrofotometer. Hierbij wordt de optische dichtheid gemeten, of er kan een kiemgetalbevestiging worden gedaan. Het voordeel van deze methoden is, is dat er met precieze hoeveelheden honing kan worden gewerkt. Dit maakt deze methodes preciezer dan de well-diffusion test.

Ook kan, om er een minder uitgebreid project van te maken, er enkel alleen gekeken worden naar de commerciële honing(imker-, supermarkt-, Manukahoning) of naar de medische honing (Revamil en Medihoney – gaas en zalf). Hierdoor kan je het vaker meten en heb je meerdere resultaten.

Daarnaast is er ook een idee om alleen naar verschillende soorten imkerhoning te kijken. Hierbij wordt er bij verschillende imkers honing gehaald. Deze wordt dan onderzocht of er verschil zit in de soorten imkershoning met betrekking tot antibacteriële werking. Er kan namelijk een verschil zitten van welke soort bloemen de honing is gemaakt. Een vervolgonderzoek zou kunnen kijken of een bepaalde bloemsoort invloed heeft op de antibacteriële werking van de honing.

Literatuurlijst

1. kennislink. [Online] [Citaat van: 10 april 2014.] <http://www.kennislink.nl/publicaties/honing-als-nieuw-antibioticum> .
2. E.coli. *rivm*. [Online] http://www.rivm.nl/Onderwerpen/E/Escherichia_coli_E_coli.
3. klinion. [Online] [Citaat van: 10 april 2014.] <http://www.klinion.nl/geïnfecteerde-wonden/> .
4. imkerpedia honing. [Online] 15 augustus 2013. <http://www.imkerpedia.nl/wiki/index.php/Honing>.
5. imkerverenigingen, Commissie van Nederlandse. [Online] oktober 2003. <http://www.bijenhouders.nl/files/pdf/Honingcursusboek.pdf>.
6. Bijenproducten, Nederlandse Commissie voor. bitsandbees. [Online] juni 2006. <http://www.bitsandbees.nl/Keuringsreglement.pdf>.
7. chefshop. [Online] [Citaat van: 7 april 2014.] <http://chefshop.com/Methylglyoxal-and-the-Health-Benefits-of-Honey-Article-P7373.aspx>.
8. wissensdrang. [Online] [Citaat van: 10 april 2014.] <http://www.wissensdrang.com/media/wis9t.gif>.
9. bbc. [Online] 21 november 2002. http://news.bbc.co.uk/2/hi/uk_news/wales/2497183.stm.
10. honingland. [Online] [Citaat van: 7 april 2014.] <http://www.honingland.nl/waarom-honing-van-honingland.html>.
11. suikerwijzer. [Online] 9 juli 2009. <http://suikerwijzer.nl/alles-over-honing/>.
12. imkerij erik. [Online] [Citaat van: 7 april 2014.] <http://www.imkerijerik.nl/index.php/alles-over-honing/honing-van-de-imker-duur>.
13. dewerkbij. [Online] [Citaat van: 7 april 2014.] <http://www.dewerkbij.nl/webwinkel.php?ag=13100>.
14. honingshop heidehoning. [Online] <http://www.honingshop.nl/heidehoning>.
15. mediqcombicare. [Online] [Citaat van: 21 maart 2014.] <https://www.mediqcombicare.nl/producten/REVSD02/revamil-hydrofiele-honinggel-2ml.aspx#>.
16. springmedical. [Online] [Citaat van: 21 maart 2014.] <http://www.springmedical.nl/page/58/de-meest-gestelde-vragen-over-medicinale-honing-medi-honey-bestellen-barriere-creme-wondzalf-honingzalf-honingzalf.html#watismedi-honey>.
17. medihoney. [Online] [Citaat van: 21 maart 2014.] <http://www.medihoney.nl/>.
18. Riet, Conny van der. [Online] [Citaat van: 7 April 2014.] <http://home.concepts.nl/~patron/pdf/manuka.pdf>.
19. Manuka. *Wikipedia*. [Online] 16 maart 2013. <http://nl.wikipedia.org/wiki/Manuka>.
20. independent. [Online] 13 april 2011. <http://www.independent.co.uk/life-style/health-and-families/health-news/superbugs-may-have-found-their-match-in-manuka-bees-2266938.html>.
21. honinggezond. [Online] 7 april 2014. <http://www.honinggezond.nl/manuka-honing/>.
22. manukahoning. [Online] [Citaat van: 7 april 2014.] <http://www.manukahoning.nl/manuka-health-mgo-manuka-honing.html>, .
23. UMF springmedical. [Online] [Citaat van: 9 april 2014.] <http://www.springmedical.nl/page/68/alles-over-medi-honey-manuka-honing-honingzalf.html>.
24. besmetting. [Online] [Citaat van: 04 04 2014.] http://www.apotheek.nl/Medische_informatie/Klachten___ziektes/Aandoeningen/Wondroos.aspx?mId=10701&riD=79 .
25. informatie bacterien. [Online] [Citaat van: 04 04 2014.] http://www.rivm.nl/Documenten_en_publicaties/Professioneel_Praktisch/Richtlijnen/Infectieziekten/LCI_richtlijnen/LCI_richtlijn_Groep_A_streptokokkeninfectie_GAS .
26. *Honing als nieuw antibioticum*. Heemert, Kees van. 10, sl : Nederlandse Bijenhoudersvereniging, 2010 oktober 2010.
27. Adams, Stephen. honingland. [Online] 13 april 2011. <http://www.honingland.nl/manuka-honing-in-de-media.html>.
28. honingshop. [Online] [Citaat van: 7 april 2014.] <http://www.honingshop.nl/wat-is-honing>.
29. [Online] [Citaat van: 9 april 2014.] [http://www.ijidonline.com/article/S1201-9712\(03\)00006-7/fulltext#section6](http://www.ijidonline.com/article/S1201-9712(03)00006-7/fulltext#section6).

Foto's:

Pagina 1 foto: <http://www.beautyreviews.be/beauty/honing-als-gezichtsreiniger/> (geraadpleegd op 04-04-2014)

Pagina 2 foto: http://www.lush.nl/?route=lush/lushopaedia&ingredient_id=363 (geraadpleegd op 04-04-2014)

Figuur 2: Pagina 17 foto: eigen foto

Bijlagen

Protocollen

Werkwijze maken(gieten) van PCA agarplaten

Benodigdheden:

- Petrischalen
- 87.5 gram PCA
- 6000 ml demiwater
- glaswerk

Werkwijze:

1. Voor elke 500 ml is er 8,75 gram PCA nodig. Zorg dat er genoeg PCA aanwezig is.
2. Neem 105 gram PCA en voeg er 6000 ml demiwater aan toe.
3. Verhit tot de agar vloeistof kookt.
4. Steriliseer het bloedagar 15 minuten op 121 graden Celsius en laat het afkoelen tot 50° C.
5. Giet vervolgens de gemaakte agar in de petrischalen.
6. Laat dit afkoelen.

Werkwijze maken(gieten) van bloedagarplaten en PCA agarplaten

Benodigdheden:

- Petrischalen
- 60 gram bloedagar
- 1500 ml demiwater
- 94.5 ml schapenbloed

Werkwijze:

1. Voor elke 500 ml is er 20 gram bloedagar nodig.
2. Neem 60 gram bloedagar en voeg er 1500 ml demiwater aan toe.
3. Verhit tot de agar vloeistof kookt.
4. Steriliseer het bloedagar 15 minuten op 121 graden Celsius en laat het afkoelen tot 50° C.
5. Voeg vervolgens per 500 ml bloedagar 31.5 ml steriel schapenbloed toe.
6. Giet de gemaakte agar in de petrischalen.
7. Laat dit afkoelen.

Werkwijze wondgaasjes maken

Benodigdheden:

- Manuka honing
- Supermarkt honing
- Heide honing
- Revamil zalf
- Medihoney zalf
- Wondgaasjes (steriel)
- Schaar
- Liniaal
- Brander
- prepareernaald

Werkwijze:

1. Klarleggen van de wondgaasjes.
2. Maak met een prepareernaald, die eerst door een de vlam gehaald wordt, 4 gaatjes in de petrischalen.
3. Vierkantjes knippen van 1 bij 1 cm uit de wondgaasjes.
4. Leg de gaasjes in de soorten honing totdat deze verzadigd zijn.
5. Leg de gaasjes met honing in steriele petrischalen.
6. Zet de steriele petrischalen 48 uur in de stoof op 37 graden Celsius.

Meetresultaten

Tabel 2: Antibacteriële werking (%) zonder groei van *E. coli* van honingsoorten

	1	2	gem
Imkerhoning	64,9	54,1	59,5
Supermarkthoning	10,8	10,8	10,8
Manukahoning	54,1	54,1	54,1
Revamilgaas	0	0	0
Medihoneygaas	0	0	0
Revamilzalf	0	0	0
Medihoneyzalf	0	0	0

Tabel 3: Antibacteriële werking (%) met groei van de *E. coli* van honingsoorten

	1	2	gem
Imkerhoning	0	0	0
Supermarkthoning	0	0	0
Manukahoning	0	0	0
Revamilgaas	0	0	0
Medihoneygaas	0	0	0
Revamilzalf	0	0	0
Medihoneyzalf	0	0	0

Tabel 4: Antibacteriële werking (%) zonder groei van *S. aureus* van honingsoorten

	1	2	gem
Imkerhoning	105,3	115,8	110,55
Supermarkthoning	31,6	42,1	36,85
Manukahoning	52,6	84,2	68,4
Revamilgaas	0	0	0
Medihoneygaas	63,2	42,1	52,65
Revamilzalf	0	0	0
Medihoneyzalf	0	0	0

Tabel 5: Antibacteriële werking (%) met groei van *S. aureus* van honingsoorten

	1	2	gem
Imkerhoning	0	0	0
Supermarkthoning	0	0	0
Manukahoning	0	0	0
Revamilgaas	0	0	0
Medihoneygaas	0	0	0
Revamilzalf	0	0	0
Medihoneyzalf	0	0	0

Tabel 6: Antibacteriële werking (%) zonder groei van *S.* van honingsoorten

	1	2	gem
Imkerhoning	24,2	12,1	18,15
Supermarkthoning	0	0	0
Manukahoning	0	0	0
Revamilgaas	12,1	12,1	12,1
Medihoneygaas	24,2	6,1	15,15
Revamilzalf	0	0	0
Medihoneyzalf	0	0	0

Tabel 7: Antibacteriële werking (%) met groei van *S. pyogenes* van honingsoorten

	1	2	gem
Imkerhoning	0	0	0
Supermarkthoning	0	0	0
Manukahoning	0	0	0
Revamilgaas	0	0	0
Medihoneygaas	0	0	0
Revamilzalf	0	0	0
Medihoneyzalf	0	0	0

Tabel 8: Antibacteriële werking (%) zonder groei van *E. coli* van honingsoorten

	19 uur			24 uur			46 uur		
	1	2	gem	1	2	gem	1	2	gem
Imkerhoning	44,4	55,6	50	44,4	44,4	44,4	63,2	52,6	57,9
Supermarkthoning	0	0	0	0	0	0	10,5	10,5	10,5
Manukahoning	44,4	33,3	38,85	38,9	33,3	36,1	52,6	31,6	42,1
Revamilgaas	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Medihoneygaas	33,3	55,6	44,45	33,3	55,6	44,45	52,6	63,2	57,9
Revamilzalf	33,3	0	16,65	33,3	0	16,65	31,6	31,6	31,6

Tabel 9: Antibacteriële werking (%) met groei van *E. coli* van honingsoorten

	19 uur			24 uur			46 uur		
	1	2	gem	1	2	gem	1	2	gem
Imkerhoning	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Supermarkthoning	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Manukahoning	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Revamilgaas	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Medihoneygaas	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Revamilzalf	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabel 10: Antibacteriële werking (%) zonder groei van *S. aureus* van honingsoorten

	19 uur			24 uur			46 uur		
	1	2	gem	1	2	gem	1	2	gem
Imkerhoning	94,1	117,6	105,85	133,3	120	126,65	88,9	100	94,45
Supermarkthoning	11,8	23,5	17,65	0	0	0	11,1	0	5,55
Manukahoning	82,4	70,6	76,5	80	93,3	86,65	88,9	77,8	83,35
Revamilgaas	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Medihoneygaas	0	0	0	46,7	53,3	50	66,7	44,4	55,55
Revamilzalf	0	11,8	5,9	0	0	0	0	0	0

Tabel 11: Antibacteriële werking (%) met groei van *S. aureus* van honingsoorten

	19 uur			24 uur			46 uur		
	1	2	gem	1	2	gem	1	2	gem
Imkerhoning	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Supermarkthoning	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Manukahoning	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Revamilgaas	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Medihoneygaas	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Revamilzalf	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabel 12: Antibacteriële werking (%) zonder groei van *S. pyogenes* van honingsoorten

	19 uur			24 uur			46 uur		
	1	2	gem	1	2	gem	1	2	gem
Imkerhoning	55,6	33,3	44,45	0	0	0	0	0	0
Supermarkthoning	22,2	33,3	27,75	0	0	0	0	0	0
Manukahoning	33,3	33,3	33,3	0	0	0	0	0	0
Revamilgaas	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Medihoneygaas	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Revamilzalf	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabel 13: Antibacteriële werking (%) met groei van *S. pyogenes* van honingsoorten

	19 uur			24 uur			46 uur		
	1	2	gem	1	2	gem	1	2	gem
Imkerhoning	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Supermarkthoning	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Manukahoning	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Revamilgaas	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Medihoneygaas	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Revamilzalf	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabel 14: Straal en diameter van de positieve en negatieve test

	Antibiotica	
	diameter (cm)	Straal (cm)
<i>E. coli</i> tetracycline 3	2,5	1,25
<i>E. coli</i> tetracycline 4	2,4	1,2
<i>S. aureus</i> vancomycine 3	2,5	1,25
<i>S. aureus</i> vancomycine 4	2,5	1,25
<i>S. pyogenes</i> vancomycine 3	4,4	2,2
<i>S. pyogenes</i> vancomycine 4	4,6	2,3