

# Antibakterijska svojstva meda

## Antibacterial properties of honey

Ivana Gobin<sup>1\*</sup>, Darinka Vučković<sup>1</sup>, Dražen Lušić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zavod za mikrobiologiju i parazitologiju,  
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci,  
Rijeka

<sup>2</sup>Zavod za zdravstvenu ekologiju,  
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci,  
Rijeka

Primljeno: 10. 4. 2014.

Prihvaćeno: 22. 4. 2014.

**\*Dopisni autor:**

Doc. dr. sc. Ivana Gobin  
Zavod za mikrobiologiju i parazitologiju,  
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci  
Braće Branchetta 20, 51 000 Rijeka  
e-mail: ivana.gobin@uniri.hr

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

**Sažetak.** Globalni problem bakterijske rezistencije na antibiotike uzrok je potrage za novim antimikrobnim lijekovima. Zbog toga se mnogo očekuje od meda koji ima antimikrobno djelovanje na bakterije otporne na djelovanje antibiotika. Za antibakterijsku aktivnost meda odgovorno je više komponenti prisutnih u medu, u koncentracijama koje se razlikuju kod raznih vrsti meda. Nepredvidiva antibakterijska aktivnost meda, koja nije standardizirana, može otežati njegovu primjenu kao antimikrobnog agensa radi uočenih varijacija u *in vitro* antibakterijskoj aktivnosti različitih vrsta meda. Trenutačno se na tržištu može naći nekoliko vrsti meda sa standardiziranim razinama antibakterijskog djelovanja, od kojih je najpoznatiji med manuke (lat. *Leptospermum scoparium*).

**Ključne riječi:** antibiotska rezistencija; antimikrobna tvar; bakterije; med

**Abstract.** The global problem of antimicrobial resistance in bacterial pathogens increases the need for new antimicrobial agents. Therefore, honey with effective antimicrobial properties against antibiotic-resistant bacteria is much anticipated. Antibacterial activity of honey is very complex due to the involvement of multiple compounds and variations in their concentrations among different honeys. The unpredictable antibacterial activity of non-standardized honey may hamper its introduction as an antimicrobial agent due to variations in the *in vitro* antibacterial activity of various honeys. At present, a number of honeys are put to the market with standardized levels of antibacterial activity, of which the best known is manuka (lat. *Leptospermum scoparium*) honey.

**Key words:** antibiotic resistance; antimicrobial agent; bacteria; honey

## DEFINICIJA I PODRIJETLO MEDA

Prema Pravilniku o medu „med je sladak, gust, viskoznan, tekuć ili kristaliziran proizvod što ga medonosne pčele (lat. *Apis mellifera*) proizvode od nektara medonosnih biljaka, sekreta živih dijelova biljaka ili izlučevina kukaca koji sišu na živim dijelovima biljaka, koji pčele sakupljaju, dodaju mu vlastite specifične tvari, izdvajaju vodu i odlaze u stanice saća do sazrijevanja”<sup>1</sup>.

Dok naziv „uniflorni med” služi za opis meda koji potječe dominantno od nektara (ili medne rose) jedne biljne vrste, postoje i medovi koji potječu od mješavine nektara više različitih biljnih vrsta i kao takvi se nazivaju „multiflorni medovi”<sup>2,3</sup>.

Kada se govori o podrijetlu meda, prije svega se misli na njegovo botaničko podrijetlo, tj. na podrijetlo nektara ili medne rose, koje pčele svojom aktivnošću prerade u med. Nektar je šećerna otopina koja potječe od biljnih sokova viših biljaka, iz cvijeta (floralni) ili pak kao sekret posebnih biljnih organa za lučenje nektara, nektarija (lat. *nectaries*). Nektar biljke luče kako bi privukle kukce, a oni izvršili oprašivanje prilikom pristupa nektaru. Smatra se da danas ima preko 50 tisuća biljnih vrsta, ovisno o aktivnosti pčela kao oprašivača, čime uloga pčela u prirodi postaje izuzetno važna, a prema rezultatima nekih istraživanja, pčele su najzastupljeniji oprašivači medonosnog mediteranskog bilja tijekom proljetnih mjeseci<sup>4,5</sup>. Stoga u mnogim zemljama ratari i voćari stimuliraju pčelare na postavljanje pčelinjih zajednica u blizini njihovih kultura, nasada ili voćnjaka. Drugi izvor meda, mednu rosu, luče parazitski kukci koji za svoj metabolizam ne rabe nektar iz cvijeća biljaka, već svojim stiletima smještenim u rostrumu (specijalni usni aparat) buše ili zarezuju žile listova, odnosno stabljika i hrane se uglavnom bjelančevinama sadržanim u biljnim sokovima koje sišu. Po iskorištenju proteinske dušične komponente za vlastite metaboličke procese, ekskret – mednu rosu, vodenu otopinu bogatu šećerima, izbacuju iz organizma. Ona pada po biljkama i tlu, a pčele je, uz druge zainteresirane kukce, sakupljaju i prerađuju u med<sup>6</sup>.

Nakon što pčela unese nektar ili mednu rosu usnim aparatom, ona se apsorbira u mednom mjehuru pčele (lat. *borsa melaria*), gdje mu ona dodaje vlastite enzime i sokove. Takva otopina

prebacuje se u košnice, gdje pčele svojom aktivnošću utječu na isparavanje viška vlage te ga deponiraju u saće da sazrije prije uporabe<sup>7</sup>.

## SASTAV I NUTRITIVNA SVOJSTVA MEDA

Med je namirnica koja je dominantno sastavljena od različitih šećera i vode. Kada se izuzme sadržaj vode (u pravilu 15 – 20 %), ugljikohidrati čine 95 do 99 % suhe tvari meda; uglavnom su to jednostavni šećeri, fruktoza i glukoza (85 – 95 % ukupnih

Vodikov peroksid jedna je od najznačajnijih antimikrobnih komponenti meda uz metilglioksal i antimikrobni peptid pčelinji defensin-1. Zbog utjecaja različitih čimbenika na antibakterijska svojstva meda nije moguće precizno predvidjeti koliko će antibakterijsku aktivnost neki med posjedovati, stoga je prije moguće terapijske primjene neophodno testirati antimikrobna svojstva medova.

šećera) uz nekoliko drugih monosaharida. Većinom je nešto više fruktoze u odnosu na glukozu, a posebice je ta razlika izraženija kod tzv. cvjetnih (nektarnih) vrsta meda u odnosu na medune, odnosno medljikovce. Određeni sadržaj viših šećera također je prisutan i to su uglavnom disaharidi, saharoza, maltoza i izomaltoza te nekoliko trisaharida i oligosaharida, kako je prikazano u tablici 1. Prevladavanje jednostavnih šećera u medu uvelike je odgovorno za većinu fizičkih i nutritivnih svojstava meda<sup>8</sup>. Drugi najzastupljeniji sastojak meda je voda i njezina količina kreće se od 15 % do, zakonski maksimalno dozvoljenih, 20 %<sup>9</sup>.

Ostale tvari prisutne u medu uglavnom se ubrajaju u organske kiseline, mineralne tvari, proteine i slobodne aminokiseline, enzime, vrlo malo u vitamine, hidrosimetilfurfural (HMF), pigmente i tvari arome – kiseline, alkoholi, ketoni, aldehidi i sl. Uzimajući u obzir navedeni sastav šećera, jednostavnom računicom o energetske vrijednosti meda jasno je da je njegova energetska vrijednost barem 15 do 20 % manja (uzimajući u obzir i sadržaj vode) u odnosu na istu količinu običnog, kristalnog šećera (med – 320 cal/100 g, saharoza – 400 cal/100 g)<sup>10</sup>.

Tablica 1. Sastav meda<sup>8</sup>

Komponenta u medu	Prosječni sadržaj (%)
Fruktoza	38
Glukoza	31
Saharoza i ostali disaharidi	8
Ostali ugljikohidrati <sup>a</sup>	2
Voda	17
Ostale tvari <sup>b</sup>	4

<sup>a</sup> Ostali ugljikohidrati: gentobioza, izomaltoza, maltoza, saharoza, trehaloza, centoza, 1-ketoza, erloza i dr.

<sup>b</sup> Ostale tvari: kiseline, minerali, proteini i aminokiseline, enzimi i vitamini, tvari arome, lipidi i čestični elementi.

#### ANTIBAKTERIJSKE KOMPONENTE U MEDU

Antibakterijsku aktivnost meda prvi je otkrio van Ketel 1892. godine<sup>11</sup>. Do danas su uloženi veliki naponi da se jasno protumači antibakterijska aktivnost meda i njegov antibakterijski potencijal iskoristi na najbolji moguć način. Medovi općenito posjeduju dvije osnovne grupe mehanizama kojima ostvaruju antibakterijsku aktivnost. Prvoj grupi pripadaju mehanizmi antibakterijske aktivnosti zasnovani na njegovim fizičko-kemijskim osobinama (osmolarnost, viskoznost, pH vrijednost, odnosno aciditet). Druga grupa mehanizama antibakterijske aktivnosti meda zasnovana je na kemijskim tvarima koje su u njemu prisutne (vodikov peroksid, metilglioksal i antimikrobni peptid pčelinji defensin -1)<sup>12</sup>.

#### Visoka osmolarnost meda

Med je u osnovi prezasićena otopina šećera s niskim aktivitetom vode (aw), što znači da je vrlo malo vode na raspolaganju za rast i razvoj bakterija i kvasaca. Mnoge vrste bakterija rast će samo ako je aktivitet vode (aw) 0,94 – 0,99, dok se prosječan aktivitet vode u medu kreće u rasponu od 0,56 do 0,62<sup>12</sup>. Visoka osmolarnost meda važna je u kontekstu kvarljivosti, stoga med ubrajamo u slabo kvarljive namirnice<sup>13</sup>. Cooper i sur. pokazali su da određene vrste meda čak i u koncentraciji od 2 % (v/v) potpuno inhibiraju rast *Staphylococcus aureus*, odnosno u koncentraciji od 4 % (v/v) inhibiraju rast meticilin rezistentnog *S. aureus* (MRSA). U istoj studiji minimalna inhibicijska koncentracija (MIK) za sirup, koji se sastojao od smjese šećera u istoj koncentraciji kao u medu, iznosila je 30 % (v/v) i tek u navedenoj koncentraciji sirup je inhibirao rast spomenutih mikroorganizama<sup>14</sup>.

#### Kiselost meda

Za antibakterijska svojstva meda djelomično je zaslužna i kiselost koja pak ovisi o prisutnosti organskih kiselina, prvenstveno glukonske kiseline. pH meda uglavnom se kreće u rasponu od 3,2 do 4,5 i dovoljno je nizak da djeluje inhibicijski na velik broj mikroorganizama<sup>12</sup>. Studije pokazuju da kiselost meda inhibira rast pojedinih bakterija te je MIK meda za *Corynebacterium diphtheriae* porastao sa 4,5 % na 10 % nakon što je kiselost meda bila neutralizirana<sup>15</sup>. Zanimljivo je da je *Bacillus cereus* pokazao osjetljivost prema parametru kiselosti meda, dok je inhibicija bakterijskog porasta nestala korištenjem neutralizacijskog pufera<sup>15,16</sup>.

#### Vodikov peroksid

Dokazano je da je vodikov peroksid jedna od najznačajnijih antimikrobnih komponenti meda. White i sur. uočili su da se antibakterijska aktivnost meda može smanjiti ili potpuno ukloniti dodatkom enzima katalaze. Također su demonstrirali izravnu povezanost vodikovog peroksida s antibakterijskim djelovanjem različitih vrsta meda<sup>17</sup>. Vodikov peroksid u medu nastaje kao rezultat djelovanja enzima glukoza oksidaze, koju u nektar izlučuje pčela. Produkcija vodikovog peroksida tijekom sazrijevanja meda sprječava kvarenje meda<sup>18</sup>. Doprinos vodikovog peroksida na antibakterijsku aktivnost meda može se odrediti neutralizacijom tog spoja pomoću enzima katalaze. Neutralizacija vodikovog peroksida smanjuje antibakterijsku aktivnost većine testiranih uzoraka meda. Dio uzoraka meda nakon neutralizacije vodikovog peroksida ipak je zadržao minimalnu antibakterijsku aktivnost<sup>19,20</sup>. Na smanjenje nakupljanja vodikovog peroksida u medu

utječe inaktivacija enzima glukoza oksidaze kao posljedica izlaganja meda toplini ili svjetlosti, radi čega dolazi do razgradnje vodikovog peroksida u medu<sup>12</sup>. Koncentracija vodikova peroksida u razrijeđenom medu varira od uzorka do uzorka, odnosno ovisi o različitim vrstama meda. To se povezuje s botaničkim izvorom, budući da neke biljne komponente sastava mogu djelovati na enzimsku aktivnost koja će rezultirati ili povećanjem količine ili uništavanjem vodikova peroksida<sup>12</sup>.

### Metilglioksal (MGO)

Mnogi medovi posjeduju znatnu neperoksidnu antibakterijsku aktivnost (NPA)<sup>12,21</sup>. Med manuke (podrijetlom s grma manuke – lat. *Leptospermum scoparium*) najdetaljnije je ispitan i u njemu su identificirani mnogi neperoksidni antimikrobni sastojci. Nedavno je pronađena iznimno visoka razina antimikrobnog spoja MGO u medu manuke<sup>22</sup>. Visoka razina MGO-a u medu manuke nastaje konverzijom dihidroksiacetona (DHA) prisutnog u izuzetno visokim koncentracijama u nektaru cvjetova grma *L. scoparium*<sup>23</sup>. U usporedbi s drugim namirnicama (žitarice), u kojima koncentracija MGO-a varira između 3 – 47 mg/kg, ispitivanja su pokazala da koncentracije ovog spoja u medu manuke iznose od 38 mg/kg do 1541 mg/kg. MGO je također prisutan i u medovima podrijetlom iz drugih medonosnih biljaka, ali u ispitivanja 106 različitih uzoraka meda koncentracija MGO-a nije prešla 24 mg/kg<sup>22,24</sup>.

Zbog jake korelacije između razine MGO-a i inhibicije rasta *S. aureus* pretpostavilo se da je ovaj spoj zaslužan za uočena snažna antibakterijska svojstva meda manuke. No iako je neutralizacija ovog spoja poništila antibakterijsku aktivnost protiv *S. aureus* te smanjila antibakterijsku aktivnost protiv *Bacillus subtilis*, nije utjecala na antibakterijsko djelovanje protiv *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*<sup>25</sup>. Stoga MGO zasigurno ne predstavlja jedinu komponentu sastava odgovornu za neperoksidnu antibakterijsku aktivnost meda manuke.

### Pčelinji defensin-1

Nedavno je identificiran antimikrobni peptid pčela defensin-1 u medicinskom medu<sup>24</sup> Revamil®. Ovaj peptid (poznat i pod nazivom rojalisin) prethodno

je identificiran u organizmu pčele te u matičnoj mlijечи, ali nikada nije bio otkriven u sastavu meda<sup>26</sup>. Pčelinji defensin-1 ima snažno djelovanje, ali samo protiv gram-pozitivnih bakterija, uključujući *B. subtilis*, *S. aureus* i *Paenibacillus larvae*<sup>24,27</sup>. Potonja vrsta uzročnik je američke gnjiloće pčelinjeg legla, široko rasprostranjene i vrlo tvrdokorne bolesti pčela. Nakon eksperimentalne infekcije s *E. coli*, u hemilimfi pčela stvaraju se četiri vrste različitih antimikrobnih peptida: hemenoptecin, pčelinji defensin-1, apidaecin i skupina abaeicin peptida. Svaki od tih antimikrobnih peptida ima različit spektar antimikrobnog djelovanja<sup>28</sup>.

Iako je pčelinji defensin-1 relativno lako detektirati u medicinskom medu Revamil®, u medu manuke nije dokazana njegova prisutnost<sup>25</sup>. Prisutnost pčelinjeg defensina-1 u različitim vrstama meda još nije sustavno istražena.

### Ostale antimikrobne tvari u medu

Fenolni spojevi koji potječu iz biljnog nektara predloženi su kao važni čimbenici za neperoksidno antibakterijsko djelovanje meda. Nekoliko antibakterijskih fenolnih spojeva identificirano je u medu, ali njihov doprinos na ukupnu aktivnost meda za sada ipak ostaje nejasan, s obzirom na to da je koncentracija pojedinačnih fenola izoliranih iz meda suviše niska da bi mogla značajnije pridonijeti antibakterijskom djelovanju<sup>12,29</sup>. Bakterije i gljive izolirane iz meda također mogu biti potencijalni izvor antimikrobnih tvari u medu. U *in vitro* pokusima pokazano je da bakterije iz meda produciraju aktivne antimikrobne tvari, ali još uvijek se ne zna jesu li one prisutne u medu i u kojoj koncentraciji<sup>30</sup>.

### MEDICINSKI MED

Sirovi med može sadržavati bakterijske spore, uglavnom apatogenih vrsta roda *Bacillus*, ali i spore *Clostridium botulinum*, koje mogu izazvati botulizam rana ili dojenački botulizam<sup>31</sup>. Stoga tzv. medicinski med, koji je namijenjen kliničkoj uporabi, mora biti steriliziran kako bi se uništile sve potencijalno prisutne bakterijske spore. To se obično postiže pomoću gama-zračenja<sup>32</sup>. Najpoznatiji medicinski med koji je odobren za kliničku primjenu je med Manuka®. Med manuke potiče od nektara cvijeta grma manuke (lat. *L. scopari-*

um), koji je kao biljka autohton na Novom Zelandu i Australiji.

Antibakterijska neperoksidna aktivnost meda manuke izražava se kao tzv. jedinstveni faktor manuke (engl. *Unique Manuka Factor*; UMF®). UMF® je zaštitni znak kvalitete i terapijskog djelovanja i mogu ga koristiti samo oni proizvođači meda manuke koji zadovoljavaju najstrože kriterije izvrsnosti. Antibakterijsko djelovanje meda manuke protiv test organizma *S. aureus*, ispituje se korištenjem agar difuzijske metode<sup>21</sup>. Zbog velike varijacije u anti-

Medicinski med, koji je namijenjen kliničkoj uporabi, mora biti steriliziran kako bi se uništile sve potencijalno prisutne bakterijske spore. Najpoznatiji medicinski med koji je odobren za kliničku primjenu je med Manuka®.

bakterijskoj aktivnosti među šaržama proizvedenog meda manuke, antibakterijska aktivnost ispituje se za svaku šaržu. Općenito je prihvaćeno da je za medicinsku uporabu prihvatljiv med manuke čiji je UMF® viši od 10, dok najviša UMF® vrijednost može iznositi 20, pa i više<sup>21</sup>.

Brojna istraživanja provedena na medu manuke pokazala su da je učinkovit protiv različitih humanih patogena kao što su *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium*, *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes* i drugi (tablica 2)<sup>33-39</sup>. Laboratorijska istraživanja pokazala su da je med manuke učinkovit i protiv rezistentnih sojeva nekih vrsta bakterija koje su se pokazale osjetljive na nj, kao i

osjetljivi sojevi istih vrsta bakterija. Osjetljivost na med dokazana je i kod MRSA, vankomicin – rezistentnog enterokoka (VRE), sojeva *E. coli* i *Enterobacter cloacae* koji produciraju beta-laktamaze proširenog spektra (engl. *extended spectrum beta-lactamase*; ESBL) kao i multirezistentnih sojeva *Stenotrophomonas maltophilia* i *Burkholderia cepacia* (tablica 3)<sup>13,37,38,40-42</sup>.

#### METODE U ISPITIVANJU ANTIBAKTERIJSKE AKTIVNOSTI MEDA

Agar–difuzijska metoda kojim se ispituje osjetljivost bakterije *S. aureus* na antimikrobne tvari trenutno je najčešće korištena metoda za procjenu antibakterijske aktivnosti meda<sup>19</sup>. Ova metoda ipak posjeduje nekoliko ograničenja. Ispituje se samo antibakterijsko djelovanje meda protiv *S. aureus*, a poznato je da su različite vrste bakterija različito osjetljive na različite vrste meda. Nadalje, agar-difuzijskom metodom aktivnost meda procjenjuje se prema veličini zone inhibicije rasta koja ne ovisi samo o antimikrobnoj aktivnosti, već i o brzini difuzije antibakterijskih komponenti kroz agar. Antibakterijska aktivnost meda, zbog spojeva relativno visoke molekulske mase koji su ograničeni u migraciji kroz agar, može posljedično biti pogrešno okarakterizirana kao niska aktivnost. Pomoću ove metode također nije moguće odrediti ima li određeni med i baktericidno djelovanje ili kvantificirati ga i odrediti kinetiku baktericidnog djelovanja toga meda<sup>43</sup>. Navedena ograničenja nastoje se prevla-

Tablica 2. Antibakterijska aktivnost meda manuke prema odabranim bakterijama

Vrsta mikroorganizma	MIK (% meda u otopini)	NPA (% meda u otopini)	Izvor (literatura)
<b>Gram-negativne bakterije</b>			
<i>Escherichia coli</i>	5	13,2	38
<i>Proteus mirabilis</i>	7,3	13,2	36
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10,8	13,2	36
<i>Serratia marcescens</i>	6,3	13,2	36
<i>Salmonella Typhimurium</i>	6	13,2	36
<i>Salmonella Enteritidis</i>	6,8	16,5	37
<i>Helicobacter pylori</i>	5	16,5	39
<i>Shigella flexneri</i>	9,4	16,5	37
<b>Gram-pozitivne bakterije</b>			
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	13,2	38
<i>Streptococcus pyogenes</i>	3,6	13,2	36
<i>Enterococcus faecalis</i>	7	13,2	38

MIK – minimalna inhibicijska koncentracija; NPA – neperoksidna antibakterijska aktivnost (nakon neutralizacije vodikovom katalazom)



**Tablica 3.** Antibakterijska aktivnost meda manuke prema rezistentnim vrstama bakterija

Vrsta mikroorganizma	MIK (% meda u otopini)	NPA (% meda u otopini)	Izvor (literatura)
ESBL <i>Escherichia coli</i>	6,6	16	37
ESBL <i>Enterobacter cloacae</i>	9,2	16,5	37
Meticilin rezistentan <i>Staphylococcus aureus</i>	3	13,2	38
	2,98	18	14
Multirezistentan <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	14,1	≥ 15	41
Vankomicin rezistentan <i>Enterococcus faecalis</i>	4,59	18	14
Vankomicin rezistentan <i>Enterococcus faecium</i>	4,86	16,8	14
Multirezistentna <i>Burkholderia cepacia</i>	2,9	13,2	42

MIK – minimalna inhibicijska koncentracija; NPA – neperoksidna antibakterijska aktivnost (nakon neutralizacije vodikovom katalazom) ESBL *Escherichia coli*: *E. coli* koja proizvodi prošireni spektar beta laktamaza; ESBL *Enterobacter cloacae*: *E. cloacae* koji proizvodi prošireni spektar beta laktamaza

dati određivanjem MIK-a i minimalne baktericidne koncentracije (MBK) meda dilucijskom metodom. Ovaj kvantitativni test koristi se i za karakterizaciju pojedinačnih komponenti meda koje imaju antibakterijsko djelovanje.

#### VARIJACIJE U ANTIBAKTERIJSKOJ AKTIVNOSTI MEDA

MIK meda najniža je koncentracija nekog meda koja zaustavlja rast bakterija u suspenziji. Brojna su istraživanja o osjetljivosti bakterija i gljiva na različite vrste meda, no vrlo je teško uspoređivati dobivene rezultate, jer se vrlo često koristila samo jedna koncentracija meda. Ponekad je ta koncentracija meda inhibirala rast mikroorganizama, najvjerojatnije samo uslijed osmotskog učinka šećera u medu. Isto tako, u mnogim objavljenim istraživanjima, gdje su prikazane vrijednosti MIK-a za ispitivani med, nedostaju usporedbe s već ispitivanim vrstama meda kao što je meda manuke, tako da nerijetko rezultati među različitim vrstama meda variraju čak i 100 puta. Stoga je preporučljivo da se antibakterijsko djelovanje meda ocjenjuje u odnosu na standardni protokol koji se primjenjuje za antiseptik, fenol. Kada bi se antibakterijska svojstva meda ispitivala standardiziranom metodom, tada bi se moglo usporediti potentnost različitih vrsta meda<sup>18</sup>.

Iako je općenito uvriježena percepcija da pojedine vrste meda, zbog medonosnih biljaka od kojih potječu, posjeduju i bolju antibakterijsku aktivnost od drugih, još uvijek ne postoji dovoljno dokaza koji bi potkrijepili takvu tvrdnju. U velikom broju studija ispitivao se mali broj uzoraka, odnosno, pokazane su samo varijacije među različitim

uzorcima meda podrijetlom od istih medonosnih botaničkih izvora<sup>18</sup>.

Nekoliko je studija provedeno na tzv. „tamnom medu” iz planinskih dijelova srednje Europe za koji je dokazano da ima jaku antibakterijsku aktivnost<sup>18,41</sup>. Riječ je o medunu, tj. medu koji za svoju osnovu nema nektar već mednu rosu ili medljiku. Uzimajući u obzir važnost reprezentativnosti uzoraka meda, odnosno pripadnosti određenoj vrsti meda, uzorci meda podvrgnuti su standardnoj provjeri njihova sastava i botaničkog podrijetla, kako bi se pouzdano utvrdila njihova autentičnost. Rezultati našeg ispitivanja također su ukazali na visoku antimikrobnu aktivnost uzoraka meduna jele (lat. *Abies alba* L.) u odnosu na ostale ispitivane medove (tablica 4). Osim uzoraka meduna jele, antibakterijsku aktivnost pokazali su i uzorci multiflornih livadnih medova te uzorci uniflornog meda kestena (lat. *Castanea sativa* Mill.). Najmanju antimikrobnu aktivnost pokazali su uzorci meda javora (lat. *Acer* sp.) i meda bagrema (lat. *Robinia pseudoacacia* L.), kako je prikazano u tablici 3<sup>44</sup>.

#### Osjetljivost rezistentnih bakterija na med

Otpornost na antibiotike često nastaje kao rezultat selektivnog uzgoja i križanja različitih sojeva bakterija. Zbog visokog osmotskog djelovanja, med u pravilu nije medij u kojem bakterije mogu preživjeti, stoga su i prilike za razvijanje rezistencije minimalne. U studiji u kojoj su različite vrste bakterija bile izlagane različitim koncentracijama ovog meda ispitano je dolazi li do razvijanja otpornosti na med manuke. Rezultati su pokazali da niti jedna od ispitivanih bakterija nije razvila rezistenciju na ovaj med te su autori zaključili da je rizik za razvijanje otpornosti na ovaj med vrlo nizak<sup>45</sup>.

**Tablica 4.** Antibakterijska aktivnost različitih vrsta meda (prikazano kao % meda u otopini) prema bakterijama *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli*<sup>44</sup>

Vrsta meda	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Escherichia coli</i>	
	MIK	MBK	MIK	MBK
Medun jele ( <i>Abies alba</i> L.)	5	5	10	10
Livadni proljetni med	5	5	10	10
Med lipe ( <i>Tilia</i> spp.)	10	10	20	20
Med bagrema ( <i>Robinia pseudoacacia</i> L.)	40	40	40	40
Med kadulje ( <i>Salvia officinalis</i> L.)	10	10	20	20
Med javora ( <i>Acer</i> spp.)	40	40	40	40

MIK – minimalna inhibicijska koncentracija

MBK – minimalna baktericidna koncentracija

### Osjetljivost bakterija u biofilmu na med

Poznato je da neke vrste bakterija mogu formirati biofilm. Biofilm prekriva površinu od čvrstog materijala i omogućuje bakterijama da ostanu vezane za površinu te im osigurava zaštitu od antimikrobnih tvari. Bakterije mogu stvarati biofilm i na površini otvorenih rana i sluznici paranazalnih sinusa. Liječenje ovakvih infekcija je vrlo složeno i vrlo često neefikasno. Nedavno je pokazano da je med manuke pokazao učinkovitost i prema bakterijama u biofilmu te se pokazalo da je 33 %-tna otopina meda manuke (NPA 28) bila dovoljna za uništavanje *S. aureus* u biofilmu. Medicinski med (NPA  $\geq$  18) u koncentraciji od 6 % uništio je MRSA i meticilin rezistentnog *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) u biofilmu, a koncentracija od 12 % bila je dovoljna za uništavanje *P. aeruginosa* i ESBL sojeva *K. pneumoniae* u biofilmu. Dodatno, čak upola manja koncentracija meda bila je dovoljna za sprječavanje formiranja biofilma od strane navedenih bakterija<sup>46</sup>.

### ZAKLJUČAK

Ovim je radom pokazano da potencijal antibakterijske aktivnosti meda značajno varira, ovisno o botaničkom podrijetlu meda. Utvrđivanje botaničkog podrijetla meda te njihove lokacije proizvodnje stvara pretpostavku autentičnosti uzorka meda kojima se određuje antimikrobni potencijal. Isto tako, potrebno je istaknuti važnost poznavanja postupaka proizvodnje meda koji uvelike determiniraju njegovu kakvoću, odnosno fizikalno-kemijska svojstva odgovorna za antimikrobni učinak. Zbog utjecaja različitih faktora na antibakterijska svojstva meda nije mogu-

će precizno predvidjeti koliku će antibakterijsku aktivnost neki med posjedovati. Stoga je neophodno testirati antimikrobna svojstva svih vrsti meda za moguću terapijsku primjenu.

### ZAHVALA

Rad je dio projekata Mehanizmi patogeneze eksperimentalne legioneloze (voditeljice doc. dr. sc. I. Gobin) i Molekularni mehanizmi bakterijske patogeneze i odgovora na stres (voditeljice prof. dr. sc. M. Abram) koji su dobili financijsku potporu Sveučilišta u Rijeci.

**Izjava o sukobu interesa:** autori izjavljuju da ne postoji sukob interesa.

### LITERATURA

1. Pravilnik o medu (NN 93/09) [Internet]. Narodne novine: Zagreb, 2009 [cited 2014 Mar 31]. Available from: <http://http://narodne-novine.nn.hr/default.aspx>.
2. Malacalza NH, Caccavari MA, Fagúndez G, Lupano CE. Unifloral honeys of the province of Buenos Aires, Argentine. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2005;85:1389–96.
3. Persano Oddo L, Piro R, Bruneau E, Guyot-Declerck CIT, Piškulovala J, Flamini C et al. Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie* 2004;35:38–81.
4. Umeljčić V. Atlas medonosnog bilja. U svijetu cvijeća i pčela. 1. dio. Split: Borkolić Ilija, Sinj, 2004;3–15.
5. Bosch J, Retana J, Cerdá X. Flowering phenology, floral traits and pollinator composition in a herbaceous Mediterranean plant community. *Oecologia* 1997;109:583–91.
6. Faria CA, Wäckers FL, Turlings TCJ. The nutritional value of aphid honeydew for non-aphid parasitoids. *Basic Appl Ecol* 2008;9:286–97.
7. Sabatini A, Bortolotti L, Marcazzan G. Conoscere il miele. Bologna, Milano: CRA-API, Istituto Nazionale di Apicoltura, Bologna, 2009:5–20.
8. Sabatini A, Marcazzan G, Colombo R, Carpana E, Serra G. Determinazione analitica degli zuccheri nel miele. *Industria Alimentari* 2001;40:623–7.

9. The Council of the European Union [Internet]. Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey, 2001 [Cited 2014 April 2] Available from: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:010:0047:0052:EN:PDF>.
10. Bogdanov S, Jurendić T, Sieber R, Gallman P. Honey for Nutrition and Health: a Review. *J Am Coll Nutr* 2008;27:677–89.
11. Dustmann JH. Antibacterial effect of honey. *Apiacta* 1979;14:7–11.
12. Molan PC. The antibacterial activity of honey I: The nature of the antibacterial activity. *Bee World* 1992;73:5–28.
13. Lušić D. Specifična obilježja meda kadulje (*Salvia officinalis* L). Zagreb: Prehrambeno biotehnoški fakultet, 2011. PhD thesis.
14. 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.
15. Molan PC. Honey: antimicrobial actions and role in disease management, in *New Strategies Combating Bacterial Infection*. Weinheim: Wiley VCH, 2009;229–53.
16. Roth LA, Kwan S, Sporns P. Use of a disc-assay system to detect oxytetracycline residues in honey. *J Food Prot* 1986;49:436–41.
17. White JW, Subers MH. Studies on honey inhibine. 2. A chemical assay. *J Apicult Res* 1963;2:93–100.
18. Molan PC. The antibacterial activity of honey. 2. Variation in the potency of the antibacterial activity. *Bee World* 1992;73:59–76.
19. Allen KL, Molan PC, Reid GM. A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. *J Pharm Pharmacol* 1991;3:817–22.
20. Mundo MA, Padilla-Zakour OI, Worobo RW. Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys. *Int J Food Microbiol* 2004;97:1–8.
21. Allen KL, Molan PC, Reid GM. A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. *J Pharm Pharmacol* 1991;43:817–22.
22. Mavric E, Wittmann S, Barth G, Henle T. Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of Manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand. *Mol Nutr Food Res* 2008;52:483–9.
23. Adams CJ, Manley-Harris M, Molan PC. The origin of methylglyoxal in New Zealand manuka (*Leptospermum scoparium*) honey. *Carbohydr Res* 2009;344:1050–3.
24. Kwakman PHS, Te Velde AA, de Boer L, Speijer D, Vandenbroucke-Grauls C MJE et al. How honey kills bacteria. *FASEB J* 2010;24:2576–82.
25. Kwakman PHS, Te Velde AA, de Boer L, Vandenbroucke-Grauls C MJE, Zaat SAJ. Two major medicinal honeys have different mechanisms of bactericidal activity. *PLoS One* [Internet]. 2011;6. [cited 2014 March 29]. Available from: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0017709>.
26. Klaudiny J, Albert S, Bachanova K, Kopernicky J, Simuth J. Two structurally different defensin genes, one of them encoding a novel defensin isoform, are expressed in honeybee *Apis mellifera*. *Insect Biochem Mol Biol* 2005;35:1–22.
27. Bachanova K, Klaudiny J, Kopernicky J, Simuth J. Identification of honeybee peptide active against *Paenibacillus larvae* larvae through bacterial growth-inhibition assay on polyacrylamide gel. *Apidologie* 2002;33:259–69.
28. Casteels-Josson K, Zhang W, Capaci T, Casteels P, Tempst P. Acute transcriptional response of the honeybee peptide-antibiotics gene repertoire and required post-translational conversion of the precursor structures. *J Biol Chem* 1994;269:28569–75.
29. Weston RJ, Brocklebank LK, Lu YR. Identification and quantitative levels of antibacterial components of some New Zealand honeys. *Food Chem* 2000;70:427–35.
30. Lee HJ, Churey JJ, Worobo RW. Antimicrobial activity of bacterial isolates from different floral sources of honey. *Int J Food Microbiol* 2008;126:240–4.
31. Postmes T, van den Bogaard AE, Hazen M. Honey for wounds, ulcers, and skin graft preservation. *Lancet* 1993;341:756–7.
32. Postmes T, van den Bogaard AE, Hazen M. The sterilization of honey with cobalt 60 gamma radiation: a study of honey spiked with spores of *Clostridium botulinum* and *Bacillus subtilis*. *Experientia* 1995;51:986–9.
33. Visavadia BG, Honeysett J, Danford MH. Manuka honey dressing: An effective treatment for chronic wound infections. *Br J Maxillofac Surg* 2006;44:38–41.
34. Lusby PE, Coombes AL, Wilkinson JM. Bactericidal activity of different honeys against pathogenic bacteria. *Arch Med Res* 2005;36:464–7.
35. Cooper RA. The inhibition of bacteria isolated from chronic venous leg ulcers by honey. *J Med Microbiol* 1998;47:1140.
36. Willix DJ, Molan PC, Harfoot CJ. A comparison of the sensitivity of wound-infecting species of bacteria to the antibacterial activity of manuka honey and other honey. *J Appl Bacteriol* 1992;73:388–94.
37. Lin SM, Molan PC, Cursons RT. The controlled In vitro susceptibility of gastrointestinal pathogens to the antibacterial effect of manuka honey. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011;30:569–74.
38. Cooper RA. The inhibition of bacteria isolated from chronic venous leg ulcers by honey. *J Med Microbiol* 1998;47:1140.
39. Al Somai N, Coley KE, Molan PC, Hancock BM. Susceptibility of *Helicobacter pylori* to the antibacterial activity of manuka honey. *J R Soc Med* 1994;87:9–12.
40. Kingsley A. The use of honey in the treatment of infected wound. *Br J Nurs* 2001;10:13–6.
41. Majtan J, Majtanova L, Bohova J, Majtan V. Honeydew honey as a potent antibacterial agent in eradication of multi-drug resistant *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from cancer patients. *Phytother Res* 2011;25:584–7.
42. Cooper RA, Wigley P, Burton NF. Susceptibility of multi-resistant strains of *Burkholderia cepacia* to honey. *Lett Appl Microbiol* 2000;31:20–4.
43. Kwakman PH, Zaat SA. Antibacterial components of honey. *IUBMB Life* 2012;64:48–55.
44. Magdalenic M, Rebić D, Lušić D, Gobin I. Antibacterial activity of Croatian honey of different botanical origin. Zagreb: Abstracts of the 10<sup>th</sup> Zagreb International Medical Summit (ZIMS), 2010;47.
45. Cooper RA, Jenkins L, Henriques AFM, Duggan RS, Burton NF. Absence of bacterial resistance to medical-grade manuka honey. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010;29:1237–41.
46. Merckoll P, Jonassen TØ, Vad ME, Jeansson SL, Melby KK. Bacteria, biofilm and honey: A study of the effects of honey on 'planktonic' and biofilm-embedded chronic wound bacteria. *Scand J Infect Dis* 2009;41:341–7.