

ZOET NA HET ZUUR

REVAMIL HONINGGEL, EEN GOEDE REMEDIE VOOR WONDEN

W. van Eijk en O. Groenhart*

INLEIDING

Het aantal patiënten met moeilijk genezende wonden neemt de laatste jaren sterk toe. Een aantal factoren werkt de toename van patiënten met chronische wonden in hand:

- Het aantal mensen met suikerziekte neemt per jaar met 60.000 toe. Diabetes is daarmee volksziekte nummer één geworden. Ongeveer 25% van de diabetespatiënten heeft ooit specialistische hulp nodig, ongeveer 10% krijgt te maken met diabetische voetulcera.
- Door stijging van de gemiddelde leeftijd neemt het aantal oude mensen steeds verder toe. Daarmee stijgt ook het aantal patiënten met o.a. *ulcus cruris*. De prevalentie van *ulcus cruris* in de totale bevolking is 1%, maar wel 4 à 5% bij mensen ouder dan 80 jaar.

Bovendien spelen er in toenemende mate een aantal problemen die direct invloed hebben op de wondgenezing. Door de opkomst van antibiotica-resistente bacteriën, zijn wondinfecties steeds moeilijker te bestrijden. In Nederland wordt de prevalentie van wondinfecties veroorzaakt door MRSA bacteriën geschat op 1%, in Japan en Amerika is al 50% van de *Staphylococcus aureus* isolaten methicilline resistent (Landelijke coördinatiestructuur Infectiebestrijding, www.infectieziekten.info). Samenvattend lijkt er een toenemende behoefte te ontstaan aan antibacteriële wondproducten die het wondgenezingsproces juist bevorderen en waartegen geen resistentie wordt opgebouwd. In dit artikel wordt op basis van preklinisch en klinisch onderzoek de rol van honing besproken, in het bijzonder van Revamil® pure honinggel.

WAT IS HONING

In een bijenkast werken vele honderden bijen samen om suikerhoudende nectar uit bloemen te verwerken tot honing. De honingbijen laten de nectar herhaalde malen over hun tong uit rollen zodat het merendeel van de vloeistof verdamppt. Als het watergehalte nog maar rond de 17% is, en de suikerconcentratie rond 83%, is de honing "rijp" en wordt deze opgeslagen in afgedekte honingcellen. Tijdens het indikken van de nectar tot honing voegen de honingbijen verschillende enzymen toe. Eén van deze enzymen is glucoseoxidase (GOX). Dit enzym activeert de geleidelijke omzetting van honingsuiker (glucose) tot gluconzuur en waterstofperoxide (Figuur 1). Gluconzuur is het belangrijkste organische zuur in honing (Inés et al, 1997). In rijpe honing is het enzym GOX niet meer actief, maar blijft wel intact. Komt de honing daarna in contact met vocht, bij-

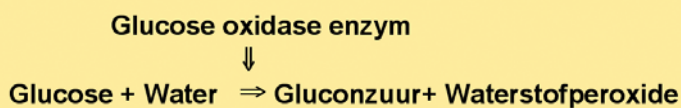
voorbeeld in een wond, dan wordt het enzym weer geactiveerd en komen kleine hoeveelheden waterstofperoxide en gluconzuur vrij. De geleidelijke productie van waterstofperoxide werkt desinfecterend en het gevormde gluconzuur creëert een zuur wondmilieu waardoor bacteriegroei wordt geremd. Het is echter niet vanzelfsprekend dat er in honing voldoende GOX wordt gevormd, en als voldoende GOX aanwezig is wordt de geproduceerde waterstofperoxide vaak weggevangen door stoffen uit de nectar. In de praktijk heeft consumptiehoning een zeer matige antibacteriële werking.

WAT IS REVAMIL HONINGGEL?

Voor medische toepassing is het van belang dat de honing een constante kwaliteit heeft en een reproduceerbare effectiviteit. De antibacteriële werking van honing wordt voor een belangrijk deel bepaald door de hoe-

veelheid actief GOX enzym. Uit onderzoek blijkt dat er tussen honingsoorten heel veel variatie is wat betreft de enzymactiviteit (Kerkvliet, 1996). Deze variatie wordt veroorzaakt door:

1. *Nectarsamenstelling*. Sommige planten produceren nectar die de werking van GOX remmen. Een voorbeeld is tijmhoning die van nature een hoog vitamine C gehalte heeft. Vitamine C vangt waterstofperoxide direct weg en verlaagt daarmee de antibacteriële werking van de honing. Ook kunnen metaalionen (bijvoorbeeld ijzer en zinkoxide) de enzymwerking remmen.
2. *Honingbewerking en opslag*. Verwarming van honing tijdens oogsten, opslag en bewerking leidt tot inactivatie van de honingenzymen. Door directe inwerking van licht op honing neemt de enzymactiviteit in honing geleidelijk af.
3. *Klimaatcondities*. Wisselende weersomstandigheden zorgen ervoor dat honingbijen meer of minder actief zijn en variabele hoeveelheden enzymen toevoegen aan de honing.
4. *Conditie bijenvolken*. Ziekten, plagen en voedselschaarste kunnen een bijenvolk verzwakken waar-



Figuur 1. In een verdunde honingoplossing zorgt het enzym glucoseoxidase (GOX) voor de omzetting van glucose (honingsuiker) in gluconzuur en waterstofperoxide.

door ze minder enzymen zullen produceren in de honing.

Binnen de Universiteit van Wageningen is een honingtype ontwikkeld speciaal voor toepassing op wonden. Deze honing (Revamil®) wordt onder gecontroleerde omstandigheden in kassen geproduceerd. Het procédé is zo ontwikkeld dat precies bekend is welke nectar de bijen verzamelen. Bovendien wordt met super gezonde bijenvolken gewerkt, waardoor er geen ziekten in de bijenvolken voorkomen en er dus geen bestrijdingsmiddelen hoeven worden toegepast. Een gezond en krachtig bijenvolk produceert ook veel enzymen in de honing. Dit alles resulteert in een 100% residuvrije honing met een reproduceerbaar hoog enzymgehalte en een lage pH. Voordat de honing wordt verwerkt in Revamil wordt deze gecontroleerd op enzymgehalte, pH, zuurgehalte en watergehalte. Alleen honingbatches die voldoen aan alle kwaliteitseisen worden voor Revamil gebruikt.

ANTIBACTERIËLE WERKING

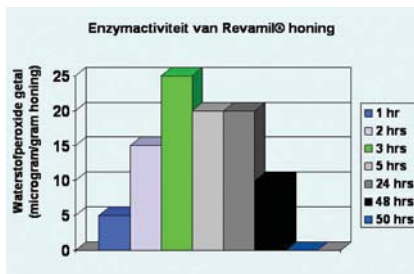
Uit case studies en klinische studies blijkt dat de antibacteriële werking gezien wordt als de belangrijkste rol van honing in het wondhelingsproces (Molan 2006, Hoeksema et al, 2005). De antibacteriële activiteit van Revamil® honing werd bepaald door:

- Meting van de enzymactiviteit van Glucose oxidase (GOX)
- De antibacteriële werking ten opzichte van belangrijke wondinfectiebacteriën zoals *Staphylococcus aureus* en *Pseudomonas aeruginosa*
- De antibacteriële werking ten opzichte van antibiotica resistente (MRSA) en antibiotica gevoelige (MSSA) *Staphylococcus aureus*

ENZYMACTIVITEIT

De enzymactiviteit van glucose oxidase (GOX) kan worden gemeten door honing te verdunnen met water en op verschillende tijdstippen de hoeveelheid geproduceerde waterstofperoxide te meten met een teststrip (Kerkvliet, 1996). Honing werd 5x verdund met water en na 1, 2, 3, 5, 24, 48 en 50 uur werd het waterstofperoxide getal bepaald. Het

waterstofperoxidegetal geeft aan hoeveel mg waterstofperoxide wordt geproduceerd per gram product per uur.



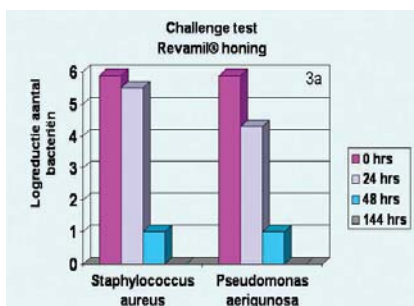
Figuur 2. De enzymactiviteit van Revamil® honing, weergegeven als de hoeveelheid waterstofperoxide die wordt geproduceerd per gram honing.

Figuur 2 laat zien dat de enzymactiviteit van Revamil® honing na drie uur maximaal is. De productie van waterstofperoxide neemt daarna af, maar blijft tot 48 uur op een voldoende hoog peil (>10 microgram per gram honing).

ANTIBACTERIËLE WERKING

Met Revamil® honing werd een Challenge Test uitgevoerd met *Staphylococcus aureus* en *Pseudomonas aeruginosa*, bacteriën die vaak wondinfecties veroorzaken (figuur 3). In deze Challenge Test worden op tijdstip nul 1-10 miljoen bacteriën toegevoegd per gram honing. Vervolgens worden op verschillende tijdstippen monsters uit de honing gehaald om het aantal overlevende bacteriën te bepalen.

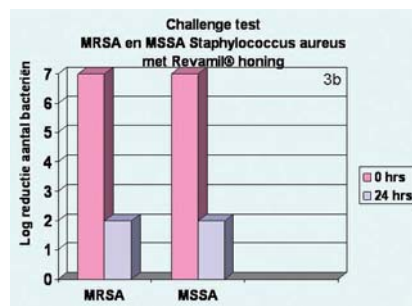
De resultaten van de Challenge test (uitgevoerd volgens richtlijnen van de Europese Pharmacopoeia, Figuur 3a) laten zien dat in Revamil® honing een snelle afname van het aantal bacteriën plaatsvindt. Na 48 uur zijn er van beide typen bacteriën



nog maar 10 levende bacteriën per gram honing te tellen (logreductie 5), na 6 dagen zijn alle bacteriën dood (logreductie 6). Om te testen of Revamil® honing ook effectief is tegen antibioticaresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA), werd een vergelijkbare Challenge test uitgevoerd door de afdeling Medische Microbiologie van het AMC. De resultaten weergegeven in Figuur 3b laten zien dat Revamil® honing in 24 uur een significante reductie van 10⁷ naar 100 bacteriën per gram honing bewerkstelligt (logreductie 5), zowel bij MRSA als bij antibiotica gevoelige MSSA bacteriën.

SLOW RELEASE ANTIBACTERIËLE WERKING

De antibacteriële werking van honing wordt voor een groot deel toegeschreven aan de productie van waterstofperoxide in de met (wond)vocht verdunde honing. De productie van waterstofperoxide door honing is echter niet vergelijkbaar met het in onbruik geraakte wondtoilet waarbij 3% waterstofperoxide werd gebruikt. Bekend is dat waterstofperoxide in hoge concentraties schade toebrengt aan het wondweefsel door de productie van vrije radicalen (Saïssy et al, 1995). De concentratie waterstofperoxide die vrijkomt in verdunde honing is echter 1000 maal zo laag, dus rond 0,003% (Molan, 1992). Uit onderzoek blijkt dat een continue aanwezigheid van een lage concentratie waterstofperoxide veel effectiever pathogene bacteriën doodt dan eenmalig een hoge concentratie (Pruitt et al, 1985) en fibroblasten hierbij geen schade ondervinden (Hyslop et al., 1995). Revamil® honing produceert over een lange periode (48



Figuur 3. Challenge test voor *Pseudomonas aeruginosa* en *Staphylococcus aureus* met Revamil® pure honing (3a), voor methicilline resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) en methicilline sensitieve *Staphylococcus aureus* (MSSA)(3b).

uur) kleine hoeveelheden waterstof peroxide, waardoor een effectieve desinfectie van de wond kan plaatsvinden, zonder schade aan te richten door de productie van vrije radicalen.

ANTI-INFLAMMATOIRE WERKING REVAMIL® HONING

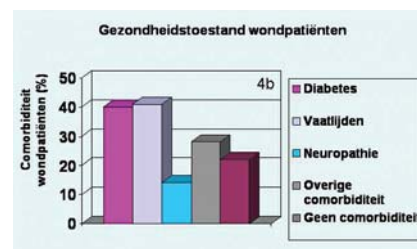
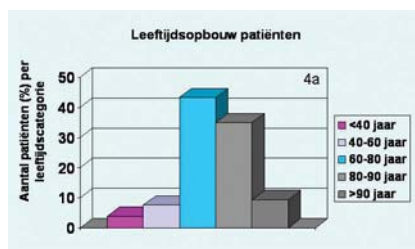
De ontstekingsremmende werking van honing kan voor een deel worden verklaard door de aanwezigheid van flavonoïden afkomstig van nectar en stuifmeel (Siess et al., 1996). Flavonoïden hebben een sterke antioxidantwerking en vangen dus schadelijke zuurstofradicalen weg. In chronische wonden zijn relatief veel inflammatoire cellen aanwezig (Loots et al., 1998). Deze cellen produceren o.a. zuurstofradicalen waardoor de wond onrustig en pijnlijk blijft. Chronische wonden komen tot rust na applicatie van honing en kunnen daardoor overgaan naar de proliferatiefase. Uit onderzoek van Tonks et al. (2003) blijkt bovendien dat honing de productie van anti-inflammatoire cytokines in de wond stimuleert. De anti-inflammatoire werking van Revamil® honing werd getest in een bioluminescentie assay met humane leucocyten. De leucocyten werden geactiveerd om schadelijke zuurstofradicalen te produceren, vervolgens werd gekeken of de productie van zuurstofradicalen kan worden geremd door honing. Uit deze tests bleek dat 2% Revamil® honing al een 50% remming teweegbracht van de productie van zuurstofradicalen.

KLINISCH ONDERZOEK SPECIALISTISCHE WONDPOLI BRONOVO-ZIEKENHUIS

Begin 2004 is in het Bronovoziekenhuis een nieuwe specialistische wondpoli van start gegaan. De specialistische wondpoli van het Bronovo-ziekenhuis behandelt vooral patiënten met chronische ulcera aan het onderbeen, die via de chirurgische wondpoli en ziekenhuizen uit de wijde omtrek worden doorverwezen. Deze patiënten hebben meestal een uitgebreide comorbiditeit. Dit betekent dat deze wondpoli alleen de meest ernstige en

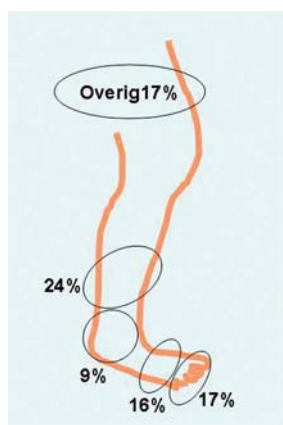
moelijk te genezen wonden te behandelen krijgt. Vanaf een vroege fase is men op deze wondpoli gaan werken met honinggel. In eerste instantie experimenteel en incidenteel, maar vanwege de goede resultaten zijn van 1 februari 2005 tot 1 september 2005 tachtig patiënten met moeilijk genezende wonden behandeld met Revamil® vloeibare honing. Van deze patiënten zijn tijdens de behandeling alle gegevens geregistreerd. De wonden die werden behandeld met Revamil® bestonden minimaal 3 weken, tot 6 maanden. De wonden vertoonden geen genezings-tendensen en verergerden onder de tot dan toe toegepaste behandeling.

KENMERKEN PATIËNTENGROEP EN WONDEN



Figuur 4. Leeftijdsoopbouw patiënten (4a) en comorbiditeit patiënten (4b).

De gemiddelde leeftijd van de behandelde patiënten was zeer hoog. Bijna 90% van de patiënten is ouder dan 60 jaar en 45% van de patiënten was zelfs ouder dan 80 jaar (Figuur 4a). Verder leed 35% van de patiënten aan diabetes, 41% van de patiënten had een ernstige vorm van vaatlijden, 14% leed aan neuropathie (Figuur 4b). De wonden die werden behandeld waren voornamelijk gelokaliseerd aan het onderbeen en de voeten (Figuur 5).



Figuur 5. Lokalisatie van de wonden.

RESULTATEN BEHANDELING MET REVAMIL®

Behandeling met Revamil® honing leidt in de meeste gevallen tot het snel schoon worden van de wond. Van de wonden is 45% binnen 30 dagen schoon. Revamil® in combinatie met een vet gaas blijkt zeer effectief te werken om pocketvorming in diepe wonden te voorkomen. Door het gaas in de pocket te stoppen ontstaat er o.a. door het temperatuurverschil een luchtstroom (tunnelwerking) waardoor er zuurstof in de wond komt. Hierdoor krijgen anaerobe bacteriën geen kans zich te nestelen in de wond. Wat verder opvalt, is dat Revamil® een positieve invloed heeft op de ontwikkeling van granulerend weefsel. Het merendeel van de wonden (57%) is

volledig binnen drie maanden genezen, de overige wonden na drie tot zes maanden (28%) of langer dan zes maanden (14%). Revamil® kan worden toegepast totdat de wond is gesloten, maar in sommige gevallen werden additionele producten gebruikt om de wond sneller te sluiten. Ongeveer acht procent van de patiënten klaagde over pijn direct na behandeling met Revamil®. Honing werd in die gevallen beter verdragen als de wond eerst licht werd bevochtigd met schoon water of fysiologisch zout.

CASUS 1: DIABETISCHE VOET ULCUS

De eerste casus betreft een 84-jarige patiënt met insulineafhankelijke diabetes mellitus, slechte vaten en neuropathie. De patiënt heeft een teenwond van 5mm diep en een oppervlak van 20x30 mm². De wond heeft een sterke rottingsgeur en is geïnfecteerd. De teen zou spoedig geamputeerd worden, tenzij behandeling met Revamil® zou aanslaan. De



Figuur 6. Behandeling tot full closure van diabetische voet ulcer met Revamil®

behandeling met Revamil® wordt gestart op 7 maart 2005. Elke twee dagen wordt het verband verschoond en de wond met Revamil® behandeld. Na 45 dagen is de wond volledig schoon en is het eerste granulatieweefsel zichtbaar. Na 75 dagen is de wond gesloten. De teen is voor amputatie behoed!

CASUS 2: GEÏNFECTEERDE WOND

De tweede casus betreft een kind met een geïnfecteerde wond. De wond is ontstaan als gevolg van een valincident, waardoor de eerder gehechte wond is opengesprongen. De wond is 3mm diep en heeft een oppervlak van 50x10mm. De behandeling met Revamil® is gestart op 18 maart. Na 2 weken is de wond schoon en is de aanmaak van granulatieweefsel gestart. Na 8 weken is de wond gesloten.

CONCLUSIES

HONING BREED TOEPASBAAR

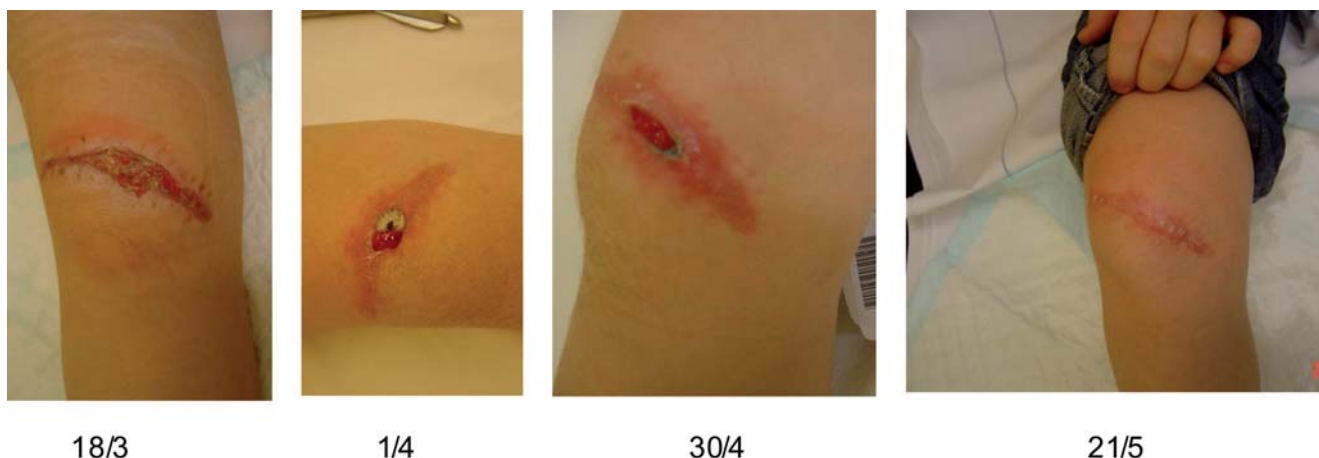
Uit het klinisch onderzoek komt

naar voren dat er veel winst is te behalen met de toepassing van gestandaardiseerde Revamil® honing bij wondheling:

- **Geïnfecteerde wonden.** Geïnfecteerde wonden worden snel schoon en de honing laat geen residuen achter.
- **Chronische wonden.** De chronische staat waarin de wond verkeert wordt doorbroken. De wond wordt schoon terwijl tegelijkertijd de vorming van granulatieweefsel wordt gestimuleerd.
- **Acute wonden.** Honing creëert een vochtig wondmilieu en beschermt de wond tegen het ontstaan van infecties.
- **MRSA.** MRSA bacteriën zijn even gevoelig voor Revamil® honing als MSSA bacteriën.
- **Diabetes patiënten.** Honing op een wond heeft geen invloed op de bloedsuikerspiegel en kan dus ook veilig bij diabetespatiënten worden toegepast (Molan, 2001).

GECONTROLEERDE HONINGPRODUCTIE

Hoewel de wondhelende werking van honing al in tal van andere studies is aangetoond (zie ook review van Molan, 2006), blijkt er in de praktijk nog steeds sepsis te bestaan over de effectiviteit van honing in wondheling. De vraag die vaak wordt gesteld is of elke honing dezelfde werking heeft en in hoeverre de samenstelling van honing constant is. Natuurlijke honing is inderdaad zeer variabel in samenstelling en de effectiviteit van de honing varieert daardoor ook. In samenwerking met de Universiteit van Wageningen is daarom een honing ontwikkeld die constant van kwaliteit is, doordat de honing onder gecontroleerde omstandigheden in kassen wordt geproduceerd. De productlijn Revamil® is hieruit voortgekomen, gebaseerd op zuivere honing met een reproduceerbaar hoog enzymgehalte, een lage pH en een constante samenstelling.



Figuur 7. Behandeling tot full closure van geïnfecteerde wond na valincident met Revamil®

