

Miód Manuka i jego zastosowanie w medycynie

Manuka Honey and its use in medicine

Mateusz Czajkowski¹, Katarzyna Czajkowska², Małgorzata Sokołowska-Wojdyło²,
Marcin Matuszewski¹, Wojciech Połom¹, Roman Nowicki²

¹ Klinika Urologii, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, Gdańsk

² Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, Gdańsk

Streszczenie

Miód manuka jest naturalnym produktem wytwarzanym przez pszczoły z nektaru kwiatów krzewu manuka (*Leptospermum scoparium*), który występuje naturalnie na obszarze Nowej Zelandii oraz południowo-wschodniej Australii. Prozdrowotne właściwości miodu manuka znane były tubylcom od wieków. Jego zastosowanie w medycynie rozpropagował profesor Peter Molan z Uniwersytetu Waikato w Nowej Zelandii. Powszechnie znane są lecznicze zalety wszystkich rodzajów miodu. Istnieje wiele prac uzasadniających ich stosowanie w różnych schorzeniach, w tym również w walce z infekcjami. W licznych badaniach udowodniono jednak, że przeciwbakteryjne właściwości miodu manuka wynikają z innego mechanizmu, niż w przypadku pozostałych rodzajów miodu. W 2008 roku dwa niezależne laboratoria zidentyfikowały metyloglioksal (MGO), który powstaje w wyniku spontanicznej dehydracji jego prekursora dihydroksyacetonu (DHA), występującego naturalnie w nektarze kwiatów krzewu manuka. Miód manuka hamuje tworzenie biofilmu bakteryjnego oraz wzrost bakterii planktonicznych. W dzisiejszych czasach, w związku z narastającą antybiotykoopornością, niezbędne jest poszukiwanie nowych związków o działaniu przeciwbakteryjnym. (*Farm Współ 2017; 10: 36-41*)

Słowa kluczowe: miód, manuka, metyloglioksal

Summary

Manuka honey is a natural product produced by bees from the nectar of *Leptospermum scoparium* which grows mainly on New Zealand's islands and in south-east Australia. The healthy properties of manuka honey were known through ages by local inhabitants. It was propagated by Professor Peter Molan from Waikato University, New Zealand. Health aspects of various types of honey are well-known and a vast amount of studies encourages for the use of honey in healing illnesses and infections. The antibacterial properties of the manuka honey, however, have been found to result from a unique mechanism. Initially antibacterial properties of manuka honey were recognized as non-peroxide activity as opposed to peroxide activity of other honeys. Finally, in 2008, two laboratories independently identified methylglyoxal (MGO), which is formed by dehydration of its precursor substance dihydroxyacetone (DHA), found in manuka nectar. Manuka honey inhibits the growth of biofilm and planktonic bacteria. Nowadays, because of the rise of antibiotic resistant pathogens developing and using novel antibacterial substances is necessary. (*Farm Współ 2017; 10: 36-41*)

Keywords: honey, manuka, methylglyoxal

Wstęp

Miód manuka jest produktem wytwarzanym przez pszczoły z nektaru kwiatów krzewu manuka

(*Leptospermum scoparium*), wiecznie zielonej rośliny z rodziny mirtowatych, która występuje naturalnie jedynie na obszarze Nowej Zelandii oraz południowo-

-wschodniej Australii. Nazwa manuka pochodzi z języka maoryskiego. Prozdrowotne i antybakteryjne właściwości miodu manuka znane były tubylcom od wieków, jednakże dopiero w latach 80. XX wieku profesor Peter Molan z Uniwersytetu Waikato w Nowej Zelandii zaczął badać wpływ tego naturalnego produktu na różne gatunki bakterii. Nie zidentyfikował jednak substancji bezpośrednio odpowiedzialnej za działanie miodu manuka [1].

Aktywność przeciwbakteryjna większości innych gatunków miodu związana jest głównie z wysoką zawartością nadtlenu wodoru, wysokim stężeniem węglowodanów i niskim pH. Wysokie stężenie cukrów odpowiada za efekt osmotyczny, powodując odwodnienie, a co za tym idzie zniszczenie komórek bakterii, natomiast kwaśne środowisko hamuje wzrost większości mikroorganizmów.

Wszystkie gatunki miodów wykazują szerokie działanie prozdrowotne. W medycynie ludowej od wieków zalecane było spożywanie miodu jako suplementu diety, działającego pozytywnie na wiele układów ludzkiego organizmu. Współcześnie, w toku badań dowiedziono, że spożywanie miodu działa pozytywnie na zwiększenie odpowiedzi immunologicznej organizmu, działa przeciwzapalnie, antyoksydacyjnie, przeciwmiażdżycowo, obniża ciśnienie krwi, poprawia właściwości reologiczne krwi, chroni wątrobę oraz zwiększa wydzielanie żółci. Miód bogaty w jony metali stymuluje hematopoezę. Miód pszczeli może być stosowany jako suplement zróżnicowanej diety. Jest on szczególnie zalecany u sportowców uprawiających dyscypliny zimowe, ze względu na swoje właściwości zwiększające naturalną odporność organizmu [1].

W pożywkach służących do hodowli bakterii, do stymulacji wzrostu koloni wykorzystywane są wysokie stężenia cukrów. Mogłoby się zatem wydawać, że miód, zawierający dużą ilość węglowodanów, będzie promować wzrost bakterii. Do wzrostu drobnoustrojów nie dochodzi jednak dzięki wpływowi innych czynników występujących w środowisku miodu, które działają przeciwdrobnoustrojowo, do czynników tych należy m.in. niskie pH oraz wysokie stężenie nadtlenu wodoru.

Pod względem wysokiej zawartości cukrów oraz niskiego pH (wahającego się w tym przypadku pomiędzy 3,2 a 4,5) manuka nie różni się od innych miodów, posiada jednak bardzo małe stężenie nadtlenu wodoru, co skłoniło badaczy do dalszego poszukiwania czynnika odpowiedzialnego za jego aktywność [2]. Dopiero w 2008 roku odkryto, że za jego niezwykle

właściwości odpowiedzialny jest metyloglioksal (MGO), który powstaje w wyniku spontanicznej dehydratacji jego prekursora dihydroksyacetonu (DHA) występującego naturalnie w nektarze kwiatów krzewu manuka [3]. Profesor Tomas Henle wykazał liniową korelację pomiędzy zawartością tego składnika, a działaniem antybakteryjnym manuki [2]. W kolejnych badaniach wykazano, że nie tylko wysokie stężenie MGO jest odpowiedzialne za aktywność przeciwbakteryjną miodu manuka. W działaniu tym bierze również udział leptozyne oraz związki fenolowe. Leptozyne jest glikozydem występującym wyłącznie w miodach pochodzących z roślin, z gatunku *Leptospermum*, ma ona wpływ na siłę działania oraz moduluje aktywność przeciwbakteryjną miodu manuka. Związki fenolowe działają jako przeciwutleniacze i mogą być odpowiedzialne za działanie przeciwzapalne oraz stymulujące gojenie ran [3]. Pomimo odkrycia wyżej wymienionych substancji oraz określenia ich znaczenia, dokładny mechanizm działania miodu manuka nadal pozostaje nieznanym.

Działanie przeciwbakteryjne

Bakterie w środowisku naturalnym występują w postaci zbioru rozproszonych komórek (czyli tzw. postaci planktonicznej) oraz w postaci biofilmu. Biofilm to wielokomórkowa struktura bakterii lub innych organizmów (np. grzybów) otoczona produkowaną przez jej elementy macierzą, składającą się z polimerów białek i cukrów, ściśle przylegająca do powierzchni biologicznych jak i abiotycznych. Biofilm bakteryjny tworzy się zarówno w obrębie organizmu człowieka, m.in. na skórze, błonach śluzowych, płycie nazębnej, w ranach, jak i na przedmiotach używanych w codziennej praktyce klinicznej, takich jak cewniki żyłne, moczowodowe czy wprowadzane do pęcherza moczowego [4]. Macierz biofilmu hamuje wnikanie antybiotyków. Wykazano, że stężenie chemioterapeutyków potrzebne do zniszczenia bakterii w postaci biofilmu jest nawet stukrotnie wyższe, niż to działające na postać planktoniczną [5].

Miód manuka działa nie tylko na bakterie planktoniczne, ale również na te tworzące biofilm. W odpowiednim stężeniu wykazuje także działanie zapobiegające tworzeniu się biofilmu. Aktywnym składnikiem odpowiedzialnym za hamowanie procesu łączenia się bakterii i powstawaniu biofilmu jest metyloglioksal wraz ze składnikami wpływającymi na jego aktywność.

Wykazano ich hamujące działanie wobec form planktonicznych, jak i wobec biofilmu *Staphylococcus aureus* oraz *Pseudomonas aeruginosa* w badaniu *in vitro* przeprowadzonym przez Kilty i Duval. Autorzy wysunęli hipotezę efektywności manuki w leczeniu zakażeń zatok przynosowych powodowanych przez dwie wymienione bakterie [6].

Częściowe potwierdzenie działania przeciwdrobnoustrojowego wykazano w badaniu *in vitro* z wykorzystaniem szczepów bakterii *Escherichia coli* oraz *Proteus mirabilis* [4]. Miód manuka w różnych stopniach rozcieńczenia był stosowany na powierzchni wykonane z polichloru winylu. W wyższych stężeniach miód manuka hamował wzrost zarówno form planktonicznych, jak i tworzenie biofilmu *Escherichia coli*. *Proteus mirabilis* był natomiast odporny na działanie miodu. Brak aktywności miodu manuka względem *Proteus mirabilis* jest dość zaskakujący zważywszy na fakt, że w badaniu Willix'a i Molan'a bakteria wykazywała wrażliwość na działanie tej naturalnej substancji [7]. Rezultat ten mógł wynikać z zastosowania innej partii miodu, o niższym stężeniu substancji regulujących aktywność lub też ze zbyt dokładnych systemów służących do pomiarów kolonii bakteryjnych [4].

W dzisiejszych czasach borykamy się z coraz większą ilością szczepów bakterii antybiotykoopornych. Uzasadnione wydaje się więc poszukiwanie alternatywnych sposobów zapobiegania i zwalczania infekcji bakteryjnych.

W przeprowadzonych przez Cooper'a i Jenkins'a badaniach *in vitro* miód manuka wykazywał aktywność wobec wszystkich szczepów bakterii, które zostały poddane jego działaniu. Co warto podkreślić, w skład badanej grupy wchodziły również szczepy *Staphylococcus aureus* odporne na metycylinę (MRSA) oraz szczepy *Escherichia coli* wytwarzające β -laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL). Szczególnie ciekawym wydaje się fakt, że żadna z bakterii wykorzystanych w tym badaniu nie wytworzyła oporności na działanie miodu. We wnioskach autorzy podkreślili, że ryzyko wytworzenia oporności przez bakterie pozostaje niskie, o ile utrzymane jest odpowiednio wysokie stężenie badanego miodu [8].

Jakkolwiek stosowanie miodu manuka jako jedynego środka przeciwbakteryjnego, wydaje się być dość kontrowersyjne, tak stosowanie go wraz z antybiotykami może znacząco poprawić wyniki leczenia. Połączenie tych dwóch metod pozwala znacząco obniżyć dawkę stosowanego antybiotyku, a co za tym

idzie przeciwdziała rozwinięciu się antybiotykooporności [3].

Wykazano synergistyczne działanie miodu manuka z oksacyliną, tetracykliną, imipenemem oraz mupirocyną, w stosunku do szczepu MRSA [9]. Efekt ten wydaje się być związany z obniżoną aktywnością genu *mecR*, który koduje penicylinazę charakterystyczną dla MRSA (PBP2A). Dzięki aktywności miodu manuka oksacylina zachowuje swoją skuteczność wobec szczepów *Staphylococcus aureus*, w tym szczepów opornych na metycylinę [3].

Kolejnym antybiotykiem, którego działanie przeciwbakteryjne wykazuje synergizm z miodem manuka jest ryfampicyna. Ryfampicyna jest powszechnie stosowana w infekcjach tkanek głębokich oraz w celu niszczenia tworzących się w ich obrębie ropni, ze względu na bardzo dobrą penetrację w głąb tych struktur. Bakterie *Staphylococcus aureus* są odpowiedzialne za coraz większą ilość przewlekłych zakażeń tkanek miękkich oraz powstawanie ropni [10]. Istotnym ograniczeniem stosowania ryfampicyny w infekcjach powodowanych przez *Staphylococcus aureus* (w tym szczepy MRSA) jest szybko rozwijająca się oporność. Nadzieję na poprawę tego stanu rzeczy można wiązać z coraz szerszym zastosowaniem miodu manuka w leczeniu ciężko gojących się ran. Jak wykazano w badaniu Muller oraz Alber, miód manuka zapobiegał wytwarzaniu oporności na ryfampicynę, a działanie synergistyczne miodu i antybiotyku nie było zależne od MGO [11].

Po przeprowadzeniu stosownych badań miód manuka może odgrywać dużą rolę w walce ze szczepami szpitalnymi, które powodują coraz większą liczbę zgonów, m.in. wśród chorych w podeszłym wieku oraz pacjentów z niedoborami odporności.

Działanie przeciwwirusowe i przeciwgrzybicze

Miód manuka wykazuje również aktywność przeciwwirusową. Wykazano jego skuteczność w infekcjach wywołanych przez wirusa ospy wietrznej i półpaśca (*Varicella zoster virus*, VZV). Stosowanie miejscowe na wykwity powstające w przebiegu ospy czy półpaśca może mieć szczególne znaczenie w krajach rozwijających się, gdzie leki przeciwwirusowe są zwykle niedostępne [12]. Manuka hamuje replikację wirusa grypy, obniża stężenie oseltamiwiru i zanamiwiru niezbędne do efektywnego działania przeciwwirusowego tych leków (1/1000 w porównaniu do ich

samodzielnego użycia) [13]. Działanie wobec innych wirusów wymaga kolejnych badań [3].

Właściwości przeciwgrzybicze miodu manuka badano w odniesieniu do zakażeń wywołanych przez dermatofity oraz drożdżaki *Candida albicans*. Okazały się one mniej podatne na działanie miodu manuka niż bakterie, jednak do zahamowania ich rozwoju dochodzi w przypadku wysokich stężeń natlenku wodoru w stosowanym produkcie [14, 15].

Zastosowanie miodu manuka w codziennej praktyce klinicznej

Metyloglioksal reaguje niespecyficznym ze składnikami wchodzącymi w skład komórek, takimi jak DNA, RNA i białka [16]. Biorąc pod uwagę mechanizm działania MGO, można by przypuszczać, iż miód manuka jest szkodliwy dla komórek budujących organizm człowieka. Nie istnieją jednak badania potwierdzające tę tezę. Miód manuka może być bezpiecznie stosowany zarówno doustnie jak i miejscowo.

Jak podaje charakterystyka produktów zawierających miód manuka: doustnie stosowany nie traci swoich właściwości po zetknięciu z sokami trawienymi. Jeśli zależy nam w głównej mierze na jego działaniu w obrębie przewodu pokarmowego, przed spożyciem nie należy mieszać go z wodą. Ze względu na dużą zawartość węglowodanów chorzy cierpiący na cukrzycę, przed rozpoczęciem suplementacji powinni skonsultować się z lekarzem diabetologiem.

Dzieci przed ukończeniem pierwszego roku życia nie powinny spożywać miodu, ze względu na możliwą obecność *Clostridium botulinum* [17].

Leczenie ran, odleżyn i owrzodzeń

Przewlekłe rany i owrzodzenia wywołują dolegliwości bólowe, mogą być przyczyną wyobcowania społecznego, nierzadko prowadzą do niepełnosprawności, a w najgorszym wypadku powodują powikłania doprowadzające do śmierci pacjenta. Leczenie długo utrzymujących się ran i owrzodzeń zajmuje medyków na całym świecie od pokoleń. W czasach prehistorycznych używano do tego celu substancji pochodzących z różnych roślin, w tym również miodów [18]. Z nastaniem ery skutecznej antybiotykoterapii leczenie ran przy pomocy miodu zostało uznane za bezużyteczne, aczkolwiek nieszkodliwe [3]. Dopiero w dzisiejszych czasach, w których antybiotykooporność bakterii staje się coraz większym problemem, zaczęto doceniać działanie preparatów pochodzenia

roślinnego, w tym miodu manuka, jako substancji wspomagających leczenie ran. Aplikowany na rany ma działanie przeciwdrobnoustrojowe, immunostymulujące, przeciwzapalne, ponadto przyspiesza usuwanie martwych komórek oraz stymuluje proces gojenia i ogranicza formującą się bliznę. Właściwości miodu manuka wpływają korzystnie na proces gojenia ran, dzięki jego zastosowaniu wytwarzane jest wilgotne, sprzyjające gojeniu środowisko, jednocześnie jednak hamowany jest wzrost bakterii mogących zakłócić ten proces [19]. Niskie pH powoduje zakwaszenie rany, sprzyja uwalnianiu tlenu z cząsteczek hemoglobiny, jak również hamuje aktywność proteinaz, które niszczą białka niezbędne w procesie gojenia [20, 21]. Wysoka osmolarność, wynikająca z zawartości cukrów, powoduje destrukcję drobnoustrojów oraz działa korzystnie stymulując odpływ chłonki z okolicy rany. Nie istnieją przeciwwskazania do stosowania opatrunków z miodem manuka u pacjentów z rozpoznaniem cukrzycy, nie wpływają one na poziom glikemii [22].

Opatrunki z miodem manuka ograniczają nieprzyjemny zapach towarzyszący niejednokrotnie odleżynom i owrzodzeniom [23].

Na rynku polskim dostępnych jest obecnie kilka form opatrunków z miodem manuka. W zależności od wskazania zastosować można cienki opatrunek tiulowy nasączony miodem- do ran płytkich, powierzchownych, oparzeń, ran chirurgicznych; opatrunek z wysoką koncentracją miodu- do ran o dużej powierzchni; alginian nasączony miodem- do ran o obfitym wysięku; aktywny miód manuka w tubce- do ran głębokich i odleżyn. Powyższe informacje pochodzą z charakterystyki produktu podanej przez producenta wyrobów medycznych zawierających miód manuka.

Zastosowanie miodu manuka w leczeniu stopy cukrzycowej

Zespół stopy cukrzycowej jest powikłaniem występującym u 4 do 10% chorych z cukrzycą, dotyczy głównie chorych cierpiących na cukrzycę typu 2. Jest przyczyną 85% zabiegów amputacji w tej populacji chorych. Wystąpienie stopy cukrzycowej związane jest m.in. z zaburzeniem procesu gojenia, przetrwałym stanem zapalnym oraz nawracającymi zakażeniami [24].

Efektywność miodu manuka w leczeniu stopy cukrzycowej w porównaniu z nanokrystalicznym srebrem oraz metodami tradycyjnymi przedstawiono w pracy Tsang i Kwong, gdzie porównywano

wyniki kuracji uzyskane w trzech grupach chorych. Całkowite wyleczenie uzyskano u 81,8% pacjentów przy zastosowaniu opatrunków z nanokrystalicznym srebrem, 50% przy zastosowaniu miodu manuka oraz 40% przy zastosowaniu opatrunków tradycyjnych. Redukcja wielkości owrzodzenia również okazała się największa w grupie opatrunków ze srebrem. We wnioskach autorzy zawarli zatem tezę, iż opatrunki z nanokrystalicznym srebrem wydają się wykazywać większą skuteczność w leczeniu stopy cukrzycowej, niż opatrunki z miodem manuka oraz tradycyjne [25].

Pomimo wielu doniesień przemawiających za skutecznością i bezpieczeństwem stosowania miodu manuka w leczeniu przewlekłych ran, jest to wciąż temat kontrowersyjny. Niektóre podsumowania zarzucają brak wystarczającej ilości właściwie przeprowadzonych, kontrolowanych i randomizowanych badań dotyczących jego zastosowania w tym wskazaniu [26].

Nowe perspektywy

Gram ujemna bakteria *Helicobacter pylori* bierze udział w patogenezie powstawania wrzodów żołądka i dwunastnicy. Jej przetrwanie w kwaśnym środowisku żołądka jest zależne od wytwarzanego przez tę bakterię enzymu ureazy, która katalizuje rozkład mocznika do amoniaku i dwutlenku węgla, doprowadzając do zobojętnienia soku żołądkowego. Narastająca oporność *Helicobacter pylori* na antybiotyki stosowane w celu jej eradykacji zmusza do poszukiwania nowych potencjalnych czynników wspomagających to leczenie. W przeprowadzonym *in vitro* badaniu Matongo i Nwodo udowodnili, że składniki miodu manuka hamują ureazę *Helicobacter pylori* i mogą służyć jako wzór w procesie wytwarzania inhibitorów ureazy i ich zastosowania w lekach [27].

Cewniki Foley'a są stosowane do cewnikowania pęcherza moczowego na wszystkich rodzajach oddziałów szpitalnych. Wskazania do założenia cewnika do pęcherza moczowego są szerokie, czynność ta jest wykonywana zarówno u pacjentów z pierwotnie jałowym moczem, jak i u chorych w trakcie infekcji dróg moczowych. Szczególnie ważnym aspektem dotyczącym procedury cewnikowania jest zachowanie jałowości. Standardowo w tej procedurze stosowany jest żel z lignokainą, która jest lekiem miejscowo znieczulającym, a dodatkowo zapewnia odpowiednie nawilżenie, ułatwiając wprowadzenie cewnika. Lignokaina nie posiada właściwości zapobiegających

rozwojowi drobnoustrojów. Ciekawą alternatywą wydaje się być zastosowanie jałowego miodu manuka bezpośrednio na cewnik dopęcherzowy. Jak wykazało badanie Emineke i Cooper, miód manuka w odpowiednim stężeniu zapobiega osadzaniu się na cewnikach formy planktonicznej i biofilmu *Escherichia coli*- bakterii, która odpowiada za przeważającą część zakażeń układu moczowego zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn [4].

Obecność biofilmu bakteryjnego *Staphylococcus aureus* u pacjentów z przewlekłym zapaleniem zatok przynosowych odpowiada za nawracający charakter tych dolegliwości. W badaniu *in vitro* Kilty i Duval wykazano efektywność miodu manuka w usuwaniu biofilmu gronkowca złocistego [6]. Bezpieczeństwo miodu manuka oraz metylogliksalu wobec śluzówek zatok przynosowych oraz skuteczność eliminacji biofilmu *Staphylococcus aureus* wykazano w przeprowadzonym *in vivo* badaniu Paramasivan'a oraz Drilling'a. Stężenia metylogliksalu w zakresie 0,9 a 1,8 mg/mL okazały się skuteczne w eliminacji bakterii, a zarazem bezpieczne wobec badanych śluzówek. Irygacje zatok przynosowych miodem manuka mogłyby stanowić leczenie wspomagające w przypadku pacjentów cierpiących na ich przewlekłe zapalenie [25]. Zastosowanie w tym wskazaniu wymaga jednak dalszych analiz.

Podsumowanie

Zastosowanie miodu manuka otwiera nowe perspektywy w wielu dziedzinach medycyny. Liczne doniesienia wskazują na jego wyjątkowe działanie przeciwdrobnoustrojowe, mogące przyczynić się do bardziej skutecznego leczenia ran, owrzodzeń, odleżyn, stopy cukrzycowej, a także eliminacji biofilmu bakteryjnego w różnych sytuacjach klinicznych. Nie wydaje się jednak, by ten naturalny środek zrewolucjonizował przyszłość antybiotykoterapii oraz przełamał lekooporność bakterii. Dodatkowo wysoki koszt i ograniczona dostępność oryginalnego miodu manuka może być przeszkodą w jego powszechnym stosowaniu. Badania porównawcze zawartości substancji czynnych, efektywności zastosowania innych gatunków miodu w tych samych wskazaniach dałyby odpowiedź na pytanie, czy miód manuka jest jedynym rodzajem miodu, który może mieć zastosowanie w medycynie, czy też może zostać zastąpiony przez inne rodzaje, dostępne w poszczególnych rejonach świata.

Konflikt interesów / Conflict of interest

Brak/None

Adres do korespondencji:

✉ Mateusz Czajkowski

Klinika Urologii, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne
Mariana Smoluchowskiego 17; 80-214 Gdańsk

☎ (+48 58) 349 31 60

✉ blondas@gumed.edu.pl

Piśmiennictwo

1. Grzebisz N, Grzebisz E. Health-promoting effects of manuka honey. *Health Problems of Civilization*. 2016;10(2):43-50.
2. Atrott J, Henle T. Methylglyoxal in manuka honey- correlation with antibacterial properties. *Czech J Food Sci*. 2009;27(supplement):163-5.
3. Carter DA, Blair SE, Cokcetin NN i wsp. Therapeutic manuka honey: no longer so alternative. *Front Microbiol*. 2016;7:569.
4. Emineke S, Cooper AJ, Fouch S i wsp. Diluted honey inhibits biofilm formation: potential application in urinary catheter management? *J Clin Pathol*. 2017;70(2):140-4.
5. Huang R, Li M, Gregory RL. Bacterial interactions in dental biofilm. *Virulence*. 2011;2(5):435-44.
6. Kilty SJ, Duval M, Chan FT i wsp. Methylglyoxal: (active agent of manuka honey) in vitro activity against bacterial biofilms. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2011;1(5):348-50.
7. Willix DJ, Molan PC, Harfoot CG. 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(5):388-94.
8. Cooper RA, Jenkins L, Henriques AF i wsp. Absence of bacterial resistance to medical-grade manuka honey. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2010;29(10):1237-41.
9. Jenkins R, Cooper R. Improving antibiotic activity against wound pathogens with manuka honey in vitro. *PLoS One*. 2012;7(9):e45600.
10. Fazli M, Bjarnsholt T, Kirketerp-Moller K i wsp. Nonrandom distribution of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in chronic wounds. *J Clin Microbiol*. 2009;47(12):4084-9.
11. Muller P, Alber DG, Turnbull L i wsp. Synergism between Medihoney and rifampicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *PLoS One*. 2013;8(2):e57679.
12. Shazad A, Cohrs RJ. In vitro antiviral activity of honey against varicella zoster virus (VZV): a translation medicine study for potential remedy for shingles. *Transl Biomed*. 2012;3(2):2.
13. Watanabe K, Rahmasar R, Matsunaga A i wsp. Anti-influenza viral effects of honey in vitro: potent high activity of manuka honey. *Arch Med Res*. 2014;45(5):359-65.
14. Brady NF, Molan PC, Harfoot CG. The sensitivity of dermatophytes to the antimicrobial activity of manuka honey and other honey. *Pharm Pharmacol Commun*. 1996;2(10):471-3.
15. Irish J, Carter DA, Shokohi T i wsp. Honey has an antifungal effects against *Candida* species. *Med Mycol*. 2006;44(3):289-91.
16. Majtan J, Bohova J, Prochazka E i wsp. Methylglyoxal may affect hydrogen peroxide accumulation in manuka honey through the inhibition of glucose oxidase. *J Med Food*. 2014;17(2):290-3.
17. Cox N, Hinkle R. Infant botulism. *Am Fam Physician*. 2002;65(7):1388-92.
18. Forrest RD. Early history of wound treatment. *J R Soc Med*. 1982;75(3):198-205.
19. Molan PC. The evidence supporting the use of honey as a wound dressing. *Int J Low Extrem Wounds*. 2006;5(1):40-54.
20. Kaufman T, Eichenlaub EH, Angel MF i wsp. Topical acidification promotes healing of experimental deep partial thickness skin burns: a randomised double-blind preliminary study. *Burns Incl Therm Inj*. 1985;12(2):84-90.
21. Greener B, Hughes AA, Bannister NP i wsp. Proteases and pH in chronic wounds. *J Wound Care*. 2005;14(2):59-61.
22. Saini J. A honey-based dressing for diabetic foot ulcers: A controlled study. *Diabet Foot J*. 2008;11(2):87-91.
23. Seckam A, Cooper R. Understanding how honey impacts on wounds: an update of recent research findings. *Wounds Int*. 2013;4(1):20-4.
24. Tsang KK, Kwong EW, Woo KY i wsp. The anti-inflammatory and antibacterial action of nanocrystalline silver and manuka honey on the molecular alternation of diabetic foot ulcer; a comprehensive literature review. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015;2015:218283.
25. Tsang KK, Kwong EW, To TSS i wsp. A pilot randomized, controlled study of nanocrystalline silver, manuka honey, and conventional dressing in healing diabetic foot ulcer. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2017;2017:5294890.
26. Molan P, Rhodes T. Honey: a biologic wound dressing. *Wounds*. 2015;27(6):141-51.
27. Matongo F, Nwodo UU. In vitro assessment of *Helicobacter pylori* ureases inhibition by honey fractions. *Arch Med Res*. 2014;45(7):540-6.
28. Paramasivan S, Drilling AJ, Jardeleza C i wsp. Methylglyoxal-augmented manuka honey as a topical anti-*Staphylococcus aureus* biofilm agent: safety and efficacy in an in vivo model. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2014;4(3):187-95.