

Synergistische antimikrobielle Aktivität von ergänztem medizinischem Honig gegen die Bildung und Beseitigung von *Pseudomonas aeruginosa*-Biofilmen

Daniela Chrysostomou

Antibiotics

[Original Paper](#) 

Zusammenfassung

Biofilme behindern die Wundheilung. Medizinischer Honig (MGH) ist aufgrund seiner antimikrobiellen Aktivität mit breitem Spektrum und des fehlenden Resistenzrisikos eine vielversprechende Therapie. Diese Studie untersuchte die hemmende und eradikative Aktivität gegen multiresistente *Pseudomonas aeruginosa*-Biofilme durch verschiedene etablierte MGH-basierte Wundversorgungsformulierungen. Sechs verschiedene natürliche Wundversorgungsprodukte (Medihoney, Revamil, Mebo, Melladerm, L-Mesitran Salbe und L-Mesitran Soft) wurden *in vitro* getestet. Die meisten von ihnen enthalten nur MGH, während einige ergänzt wurden. L-Mesitran Soft zeigte die stärkste antimikrobielle Aktivität (6,08-log-Hemmung und 3,18-log-Eradikation). Andere Formulierungen lagen zwischen 0,89-log und 4,80-log Hemmung und 0,65-log und 1,66-log Eradikation. Daher wurde der Beitrag verschiedener Inhaltsstoffe von L-Mesitran Soft genauer untersucht. Die Aktivität derselben Charge von rohem MGH (1,38-log-Hemmung und 2,35-log-Eradikation), Vitamin C und E (0,95-log-Hemmung und 0,94-log-Eradikation) und allen Inhaltsstoffen außer MGH (1,69-log-Hemmung und 0,75-log-Eradikation). log-Eradikation) unterstützen eindeutig eine

synergistische Aktivität der Komponenten innerhalb der Formulierung von L-Mesitran Soft. Mehrere vorgestellte klinische Fälle veranschaulichen die klinische antimikrobielle Wirksamkeit gegen Biofilme von *Pseudomonas aeruginosa*. Zusammenfassend ist MGH eine wirksame Behandlung für *Pseudomonas*-Biofilme. L-Mesitran Soft hat die stärkste antimikrobielle Aktivität, was wahrscheinlich auf die synergistische Aktivität zurückzuführen ist, die durch seine Ergänzungen vermittelt wird.

Einführung

Wunden, die innerhalb von vier Wochen keinen Wundheilungsfortschritt zeigen oder innerhalb von acht Wochen nicht vollständig verheilt sind, gelten allgemein als chronisch [1,2]. In entwickelten Ländern werden die Behandlungskosten für chronische Wunden auf etwa 1-4 % der gesamten Gesundheitsausgaben geschätzt, was eine große wirtschaftliche Belastung darstellt [3,4]. Darüber hinaus beeinträchtigen chronische Wunden die Lebensqualität und beeinträchtigen das körperliche und psychische Wohlbefinden der Patienten [4]. Es wird erwartet, dass die Zahl der Patienten und die Kosten mit der alternden Bevölkerung und der zunehmenden Inzidenz von Komorbiditäten wie Diabetes und Adipositas weiter steigen werden [2]. Zu den wichtigsten Arten chronischer Wunden gehören diabetische Geschwüre, Dekubitus und venöse Beingeschwüre [1,5]. Solche anhaltenden, nicht heilenden Wunden werden durch eine Vielzahl von Faktoren verursacht, wobei bakterielle Infektionen und insbesondere die Bildung von Biofilmen einen wesentlichen Beitrag leisten [2,3]. Vernachlässigte Wundinfektionen können zu systemischen Infektionen, Sepsis und multiplem Organdysfunktionssyndrom führen und lebensbedrohlich werden [6].

Die Prävalenz von Biofilmen in chronischen Wunden wird auf etwa 60 % geschätzt [1,7]. Biofilme wurden als syntrophische Ansammlungen von Bakterienzellen definiert, die in einer Biopolymermatrix eingeschlossen sind und eine erhöhte Resistenz gegenüber Wirtszellreaktionen sowie topisch (Antiseptika) und systemisch verabreichten antimikrobiellen Mitteln zeigen [3,8][9][10]. Die Bildung von Biofilmen ist eine Strategie von Mikroorganismen, sich erfolgreich anzupassen und in feindlichen Umgebungen zu überleben, was ihre Resistenz gegen die Wirkung von antimikrobiellen Mitteln um das 10- bis 1000-fache erhöhen kann [10]. Die Biofilme in chronischen Wunden bestehen oft aus mehreren Bakterienarten, von denen *Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylococcus aureus* die häufigsten sind [11,12]. Die Prävalenz von *Pseudomonas aeruginosa* kann unterschätzt werden, da sich diese Bakterien oft in den tieferen Wundregionen aufhalten, was später auch die Behandlung erschweren kann [13,14]. Chronische Wunden, die *Pseudomonas aeruginosa* beherbergten, waren mit größeren Wunden und einem stärker behinderten Heilungsprozess verbunden [11,13]. Als Folge der Biofilmbildung neigt *Pseudomonas aeruginosa* dazu, Resistenzen gegen Antibiotika zu entwickeln, und die Expression mehrerer Virulenzfaktoren trägt zur häufigen Ineffektivität aktueller Therapien bei [15,16]. *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 ist der am häufigsten verwendete *Pseudomonas*-Stamm für die Forschung, ist eine der

drei häufigsten Ursachen für opportunistische Infektionen beim Menschen und äußerst resistent gegen Antibiotika und Desinfektionsmittel [17,18]. Neuartige Therapien, die Biofilme und Biofilm-assoziierte Infektionen bekämpfen und ein reduziertes Risiko für die Entwicklung von Antibiotikaresistenzen bergen, werden daher dringend benötigt [3]. Medizinischer Honig (MGH) stellt aufgrund seiner antimikrobiellen Aktivität mit breitem Spektrum und des fehlenden Resistenzrisikos eine so vielversprechende Therapie dar [9].

MGH ist streng kontrollierter und ausgiebig getesteter Honig, der seine Sicherheit und Wirksamkeit für medizinische Zwecke garantiert [19]. MGH übt sowohl eine antimikrobielle Breitbandaktivität als auch wundheilungsfördernde Eigenschaften aus [20][21][22][23]. Es wird angenommen, dass die wichtigsten antimikrobiellen Aktivitäten von MGH auf dem niedrigen pH-Wert, der osmotischen Aktivität, der Produktion von Wasserstoffperoxid und dem Vorhandensein antimikrobieller Moleküle (z. B. Phytochemikalien wie Flavonoide) beruhen. Da die antimikrobielle Aktivität auf mehrere Mechanismen zurückgeführt wird, wurden bisher keine Resistenzen gegenüber Honig berichtet [24]. Die wundheilenden Eigenschaften sind vielfältig und werden vermittelt durch die Schaffung eines feuchten Wundmilieus, die Stimulierung des autolytischen Debridements und der Angiogenese, die entzündungshemmende und antioxidative Aktivität, die verstärkte Zellmigration, -proliferation und Reepithelisierung [20][21][22][22]. 23]. In einer kürzlich erschienenen systematischen Übersichtsarbeit über Honig in der Wundversorgung, in der 30 randomisierte kontrollierte Studien analysiert wurden, wurde der Schluss gezogen, dass Honig die Zeit der Wundheilung verkürzt und kostengünstig ist [25]. MGH zeigt ständig vielversprechende Ergebnisse in vitro sowie in der Klinik während der Wundversorgung [2,7,9,26,27]. Interessanterweise war MGH auch in der Lage, einen bestehenden MRSA-Biofilm auf einem Titannetz, das in einer großen ventralen Narbenhernie platziert wurde, effizient zu behandeln und neue Infektionen zu verhindern [28]. MGH kann auch eine prophylaktische Aktivität haben und wird in der Folge auch die Entwicklung von Biofilmen reduzieren [29,30].

Das Ziel dieser Studie war es, die hemmende und eradikative Aktivität verschiedener MGH-basierter Wundversorgungsformulierungen gegen multiresistente *Pseudomonas aeruginosa*-Biofilme zu bewerten, die in einem In-vitro-Biofilm-Wundmodell gebildet wurden [31]. Darüber hinaus werden klinische Fälle von Wunden mit Verdacht auf Infektionen mit *Pseudomonas aeruginosa* und Biofilmen vorgestellt, die effektiv mit MGH behandelt wurden.

Ergebnisse

MGH hemmt stark die Biofilmbildung von *Pseudomonas aeruginosa*, die durch Nahrungsergänzungsmittel weiter verstärkt werden kann

Um die hemmende Wirkung von MGH auf die Bildung von multiresistenten *Pseudomonas aeruginosa*-Biofilmen zu untersuchen, wurden sechs Wundversorgungsprodukte auf MGH-Basis getestet. Die Produkte wurden direkt nach der Inokulation von *Pseudomonas aeruginosa*-Zellen auf die AD gegeben und 24 h lang wachsen gelassen, damit eine Biofilmbildung auf der AD stattfinden konnte.

Alle Produkte zeigten eine signifikante Biofilm-Hemmaktivität (Abbildung 1a). Die höchste inhibitorische Aktivität wurde mit L-Mesitran Soft (6,08-log-Reduktion im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle) und Melladerm (4,80-log) beobachtet, die beide signifikant höher waren als Medihoney (1,45-log), Revamil (2,49-log), Mebo (0,89-log) und L-Mesitran-Salbe (1,26-log). Der Beitrag der verschiedenen Ergänzungen von L-Mesitran Soft, der aktivsten Formulierung, wurde genauer untersucht (Abbildung 1a). Die gleiche Charge MGH wie in L-Mesitran Soft und Salbe (bei einer Konzentration von 40 %, ähnlich wie in L-Mesitran Soft) zeigte eine 1,38-log-Reduktion, die Vitamine C und E hatten eine 0,95-log-Reduktion, und zwar für alle Inhaltsstoffe ohne das MGH wurde eine 1,69-log-Reduktion gemessen. Die einzelnen Inhaltsstoffe zeigten für sich genommen eine geringere Aktivität als in der L-Mesitran Soft-Formulierung kombiniert, was darauf hindeutet, dass sie in Kombination synergistische Aktivität zeigten.

die AD direkt nachdem *Pseudomonas aeruginosa*-Zellen inokuliert und 24 h lang wachsen gelassen wurden, sodass eine Biofilmbildung auf der AD stattfinden konnte.

Alle Produkte zeigten eine signifikante Biofilm-Hemmaktivität (Abbildung 1a). Die höchste inhibitorische Aktivität wurde mit L-Mesitran Soft (6,08-log-Reduktion im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle) und Melladerm (4,80-log) beobachtet, die beide signifikant höher waren als Medihoney (1,45-log), Revamil (2,49-log), Mebo (0,89-log) und L-Mesitran-Salbe (1,26-log). Der Beitrag der verschiedenen Ergänzungen von L-Mesitran Soft, der aktivsten Formulierung, wurde genauer untersucht (Abbildung 1a). Die gleiche Charge MGH wie in L-Mesitran Soft und Salbe (bei einer Konzentration von 40 %, ähnlich wie in L-Mesitran Soft) zeigte eine 1,38-log-Reduktion, die Vitamine C und E hatten eine 0,95-log-Reduktion, und zwar für alle Inhaltsstoffe ohne das MGH wurde eine 1,69-log-Reduktion gemessen. Die einzelnen Inhaltsstoffe zeigten für sich genommen eine geringere Aktivität als in der L-Mesitran Soft-Formulierung kombiniert, was darauf hindeutet, dass sie in Kombination synergistische Aktivität zeigten.

MGH beseitigt vorhandene Biofilme von *Pseudomonas aeruginosa* mit erhöhter Wirksamkeit durch Nahrungsergänzungsmittel

Als nächstes untersuchten wir, ob die gleichen Wundversorgungsprodukte vorgeformte *Pseudomonas aeruginosa*-Biofilme beseitigen könnten (Abbildung 1b). Auch hier hatte L-

Mesitran Soft die stärkste Antibiofilm-Aktivität (3,18-log-Reduktion im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle), und diese war signifikant höher (alle $p < 0,001$) im Vergleich zu Medihoney (1,20-log), Revamil (0,65-log), Mebo (0,95-log), Melladerm (1,66-log) und L-Mesitran-Salbe (1,27-log). Der Beitrag verschiedener Inhaltsstoffe von L-Mesitran Soft zur Ausrottungswirkung wurde weiter untersucht; Die gleiche Charge von rohem MGH zeigte eine ausrottende Aktivität von 2,35-log, wenn es allein verwendet wurde, was signifikant wirksamer war als alle anderen Produkte. Die Vitamine C und E und alle Inhaltsstoffe außer MGH beseitigten die Biofilme (0,94-log bzw. 0,75-log). Die Ausrottungsaktivität jedes der Inhaltsstoffe war wiederum geringer als die von L-Mesitran Soft, was auf eine synergistische Aktivität hindeutet.

MGH beseitigt vorhandene Biofilme von *Pseudomonas aeruginosa* mit erhöhter Wirksamkeit durch Nahrungsergänzungsmittel

Als nächstes untersuchten wir, ob die gleichen Wundversorgungsprodukte vorgeformte *Pseudomonas aeruginosa*-Biofilme beseitigen könnten (Abbildung 1b). Auch hier hatte L-Mesitran Soft die stärkste Antibiofilm-Aktivität (3,18-log-Reduktion im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle), und diese war signifikant höher (alle $p < 0,001$) im Vergleich zu Medihoney (1,20-log), Revamil (0,65-log), Mebo (0,95-log), Melladerm (1,66-log) und L-Mesitran-Salbe (1,27-log). Der Beitrag verschiedener Inhaltsstoffe von L-Mesitran Soft zur Ausrottungswirkung wurde weiter untersucht; Die gleiche Charge von rohem MGH zeigte eine ausrottende Aktivität von 2,35-log, wenn es allein verwendet wurde, was signifikant wirksamer war als alle anderen Produkte. Die Vitamine C und E und alle Inhaltsstoffe außer MGH beseitigten die Biofilme (0,94-log bzw. 0,75-log). Die Ausrottungsaktivität jedes der Inhaltsstoffe war wiederum geringer als die von L-Mesitran Soft, was auf eine synergistische Aktivität hindeutet.

L-Mesitran Soft hat auch die stärkste Antibiofilm-Aktivität gegen *Staphylococcus aureus*

Um zu untersuchen, ob andere Bakterienarten auch für MGH-basierte Wundversorgungsprodukte empfänglich sind, wurde die hemmende und ausrottende Aktivität gegen *Staphylococcus aureus* (Mu50) untersucht. *Staphylococcus aureus* Mu50 ist der erste klinisch Vancomycin-resistente MRSA-Stamm, der 1997 in Japan isoliert wurde [32]. Die inhibitorische Aktivität von L-Mesitran Soft war im Vergleich zur Kontrolle, Medihoney, Revamil und Mebo signifikant stärker (Abbildung S1a). L-Mesitran-Salbe war signifikant stärker als Medihoney ($* p < 0,05$) und Revamil ($* p < 0,01$). Es wurden keine weiteren signifikanten Unterschiede beobachtet. Die Eradikationsaktivität von L-Mesitran Soft war im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höher ($p < 0,05$) (Abbildung S1b). Es wurden jedoch

keine weiteren signifikanten Unterschiede beobachtet.

Fallberichte zur Veranschaulichung der Antibiofilm-Aktivität in der Klinik

Um diese In-vitro-Ergebnisse in klinische Relevanz zu übersetzen, wird die Wirkung von L-Mesitran Soft auf die Beseitigung etablierter Biofilme in Wunden, die überwiegend mit *Pseudomonas aeruginosa* infiziert sind, durch mehrere Fallberichte weiter belegt.

Fall 1: Infiziertes diabetisches Ulkus

Eine 44-jährige Patientin mit Typ-1-Diabetes mellitus stellte sich auf Überweisung ihres Arztes mit einem diabetischen Fußulkus (DFU) an der Ferse vor (Abbildung 2a). Obwohl die Patientin fettleibig war (BMI 35,7), gab sie an, dass sie sich an das Diabetiker-Versorgungsprotokoll hält, d. h. Diät, Bewegung und Medikamente. HbA1C war innerhalb der normalen Grenzen (6,3) und normale Pedalpulse waren tastbar. Die Patientin hatte große Angst, ihren Fuß zu verlieren, da das Krankenhaus sie bereits für eine Amputation gebucht hatte. Die DFU (Grad 3, Stufe B, gemäß dem texanischen Bewertungssystem [33]) war stark mit *Pseudomonas aeruginosa* infiziert, mit typischer grüner Färbung, seinem charakteristischen Geruch und reichlich Exsudat [34,35]. Die DFU war seit drei Monaten anwesend, und trotz der Anwendung von oralen Antibiotika (Augmentin: Amoxicillin und Clavulanat), Bactroban-Verbänden (Mupirocin) und normalen Mullbinden verschlechterte sich die Wunde und die Infektion blieb bestehen. Beim ersten Besuch wurde aufgrund der schweren lokalen Neuropathie und der Mehrdeutigkeit der Strukturen im Wundbett ein begrenztes scharfes Debridement durchgeführt. Als nächstes wurde eine dicke Schicht L-Mesitran Soft auf die Wunde aufgetragen und mit einem normalen sekundären absorbierenden Verband abgedeckt. Aufgrund der übermäßigen Trümmer in der Wunde, des schlechten Geruchs und der übermäßigen Menge an Exsudat wurde der Verband am nächsten Tag gewechselt. Der Wechsel des Verbands war einfach und die Wundspülung mit Kochsalzlösung zeigte das Vorhandensein von Flecken mit festem Granulationsgewebe, und die Wundversorgung mit L-Mesitran Soft wurde fortgesetzt. Durch das Tragen eines Spezialstiefels wurde der Druck auf die Wunde reduziert. Nach dem nächsten Verbandswechsel (Tag 3) war der schlechte Geruch nicht mehr vorhanden, und die Bildung von Granulationsgewebe nahm weiter zu, Nebenhöhlen wurden freigelegt und das Fersenbein wurde freigelegt. Unter Berücksichtigung der Wundstrukturen wurde erneut ein begrenztes scharfes Debridement durchgeführt. Anschließend wurde die Wunde zweimal pro Woche behandelt und einen Monat lang fortgesetzt (Abbildung 2b, Tag 33). Die Wundgröße war stark reduziert, das Wundbett vollständig granuliert, und die körperliche und geistige Lebensqualität der Patientin hatte sich verbessert.

Fall 2: Massiver Abszess, infiziert mit *Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylococcus aureus*

Eine 65-jährige Patientin mit gut eingestelltem Diabetes mellitus Typ 1 (HbA1C 6,7) stellte sich mit einem massiven Abszess im Rückenbereich in einer Privatklinik vor. Die Ursache des Abszesses war unbekannt, aber ein privater Chirurg schnitt ihn an mehreren Stellen ein und entleerte den Inhalt. Die Patientin sollte sich selbst um die Wundauflagen kümmern, aber sie und ihre Familie waren mit der reichlichen Menge an übelriechendem Exsudat überfordert und benötigten eine professionelle Wundversorgung. Nachdem die Wunde drei Wochen lang mit Kochsalzlösung gespült und normale Gaze verwendet worden war, stellte sich der Patient hilfeschend in der Wundklinik vor. Beim ersten Besuch (Abbildung 3a, Tag 0) hatte der Patient leichtes Fieber, fühlte sich nicht wohl mit Übelkeit und Schwindel und hatte starke Schmerzen am ganzen Rücken (Score von 8 von 10 auf einer visuellen Analogskala). [36]. Sie erklärte, dass sie depressiv, ängstlich und gestresst sei und Angst habe, ihr Leben zu verlieren. Der Abszess bedeckt den Bereich des gesamten Trapezius und einen Teil des Latissimus dorsi auf der linken Seite des Rumpfes und den oberen Teil des rechten Trapezius, und die Wunden sind subkutan verbunden. Infektion und Entzündung waren mit einem stark riechenden eitrigen Exsudat vorhanden. Das Gewebe war nekrotisch mit der Anwesenheit von Schorf und etwas Granulation, die an der Basis der Wunde nach Spülung sichtbar waren, wobei die Ränder der Wunde gerollt und eingekerbt waren. Aufgrund der Schwere der Infektion wurde ein Abstrich genommen, um den bakteriellen Ursprung der Infektion zu identifizieren.

Fall 3: Dekubitus

Eine 89-jährige Patientin mit fortgeschrittener Demenz und schlechtem Ernährungszustand war bettlägerig und vollständig auf Pflege angewiesen. Sie entwickelte ein großes Druckgeschwür von etwa 20 x 15 cm, das einen großen Teil des lumbosakralen Bereichs bedeckte, nachdem sie wegen einer Lungenentzündung ins Krankenhaus eingeliefert worden war (Abbildung 4a, Tag 0), wonach die Wundversorgung leider vernachlässigt wurde. Der Patient stellte sich wegen eines stark exsudierenden, geruchsintensiven und sehr schmerzhaften Dekubitus im Sakrum in der Wundklinik vor. Die Wunde schien aufgrund der grünen Farbe des reichlichen Exsudats und seines spezifischen Geruchs mit *Pseudomonas aeruginosa* infiziert zu sein.

L-Mesitran Soft wurde auf den Bereich aufgetragen und mit einem normalen, nicht klebenden, absorbierenden Verband abgedeckt, der mit Folien befestigt wurde. Nach 72 h wurde der Verband gewechselt und die Wunde war bereits deutlich fortgeschritten (Abbildung 4b, Tag 3). Nekrotisches Gewebe und Wundtrümmer fast vollständig. Die Spülung der Wunde wurde mit einer Kochsalzlösung über einen an eine Spritze angepassten Schlauch durchgeführt. Anschließend wurden die Wundhöhlen mit L-Mesitran Soft gefüllt und mit

normalen, nicht haftenden, superabsorbierenden Verbänden abgedeckt. Nach zwei Tagen nahmen Geruch und Exsudat ab. Die Laborergebnisse bestätigten das Vorhandensein von multiresistentem *Staphylococcus aureus* (resistent gegen Clindamycin, Erythromycin, Fusidinsäure und Penicillin) und nicht resistentem *Pseudomonas aeruginosa* und aufgrund der unsicheren Tiefe des Abszesses eine Antibiotikatherapie mit Ciprofloxacin (500 mg BD für 10 Tage) und Augmentin (1 g BD für 10 Tage) wurde initiiert, um die systemische Reichweite sicherzustellen. Am 4. Tag waren die Schmerzen nicht mehr vorhanden (Punktzahl 0 von 10), das Allgemeinbefinden besserte sich, die Viskosität und Exsudatmenge nahmen ab, und es gab keinen schlechten Geruch mehr. Nach einer Woche nahm die Entzündung weiter ab (Abbildung 3b, Tag 7). Die Wundtherapie mit L-Mesitran Soft wurde fortgesetzt und mit einer Unterdrucktherapie kombiniert, um zu versuchen, die Exsudatmenge weiter zu kontrollieren und die Infektion vollständig zu beseitigen.

Fall 3: Dekubitus

Eine 89-jährige Patientin mit fortgeschrittener Demenz und schlechtem Ernährungszustand war bettlägerig und vollständig auf Pflege angewiesen. Sie entwickelte ein großes Druckgeschwür von etwa 20 x 15 cm, das einen großen Teil des lumbosakralen Bereichs bedeckte, nachdem sie wegen einer Lungenentzündung ins Krankenhaus eingeliefert worden war (Abbildung 4a, Tag 0), wonach die Wundversorgung leider vernachlässigt wurde. Der Patient stellte sich wegen eines stark exsudierenden, geruchsintensiven und sehr schmerzhaften Dekubitus im Sakrum in der Wundklinik vor. Die Wunde schien aufgrund der grünen Farbe des reichlichen Exsudats und seines spezifischen Geruchs mit *Pseudomonas aeruginosa* infiziert zu sein.

deren Hohlräume zur Behandlung mit L-Mesitran Soft gefüllt wurden. (a) Bild zu Beginn der Behandlung mit L-Mesitran Soft an Tag 0. (b) Deutliche Wundprogression nach drei Verbandswechseln und einer Behandlungswoche.

Fall 3: Dekubitus

Eine 89-jährige Patientin mit fortgeschrittener Demenz und schlechtem Ernährungszustand war bettlägerig und vollständig auf Pflege angewiesen. Sie entwickelte ein großes Druckgeschwür von etwa 20 x 15 cm, das einen großen Teil des lumbosakralen Bereichs bedeckte, nachdem sie wegen einer Lungenentzündung ins Krankenhaus eingeliefert worden war (Abbildung 4a, Tag 0), wonach die Wundversorgung leider vernachlässigt wurde. Der Patient stellte sich wegen eines stark exsudierenden, geruchsintensiven und sehr schmerzhaften Dekubitus im Sakrum in der Wundklinik vor. Die Wunde schien aufgrund der grünen Farbe des reichlichen Exsudats und seines spezifischen Geruchs mit *Pseudomonas aeruginosa* infiziert zu sein.

L-Mesitran Soft wurde auf den Bereich aufgetragen und mit einem normalen, nicht klebenden, absorbierenden Verband abgedeckt, der mit Folien befestigt wurde. Nach 72 h wurde der Verband gewechselt und die Wunde war bereits deutlich fortgeschritten (Abbildung 4b, Tag 3). Nekrotisches Gewebe und Wundtrümmer verschwanden fast vollständig, und die Wunde sah geröteter und vitaler aus. Außerdem ließ der schlechte Geruch stark nach. Aufgrund der extremen Schwierigkeiten beim Transport des Patienten zur Nachsorge und der Wundstelle wurde eine spezielle Pflegekraft geschult, um die Verbandswechsel durchzuführen, mit der Möglichkeit zur digitalen Unterstützung. Leider verstarb der Patient kurz nach Beginn der Wundbehandlung an einer weiteren Lungenentzündung. L-Mesitran Soft wurde auf den Bereich aufgetragen und mit einem normalen, nicht klebenden, absorbierenden Verband abgedeckt, der mit Folien befestigt wurde. Nach 72 h wurde der Verband gewechselt und die Wunde war bereits deutlich fortgeschritten (Abbildung 4b, Tag 3). Nekrotisches Gewebe und Wundtrümmer verschwanden fast vollständig, und die Wunde sah geröteter und vitaler aus. Außerdem ließ der schlechte Geruch stark nach. Aufgrund der extremen Schwierigkeiten beim Transport des Patienten zur Nachsorge und der Wundstelle wurde eine spezielle Pflegekraft geschult, um die Verbandswechsel durchzuführen, mit der Möglichkeit zur digitalen Unterstützung. Leider verstarb der Patient kurz nach Beginn der Wundbehandlung an einer weiteren Lungenentzündung.

Fall 4: Stark infizierte Wunde am Sprunggelenk

Ein 56-jähriger Mann stellte sich in der Wundklinik mit einer großen riechenden Wunde vor, die den vorderen und seitlichen Teil des rechten Knöchels bedeckte. Die Ursache der Wunde war unklar; Der Patient unterzog sich jedoch vor etwa dreißig Jahren einer Knöcheloperation und erneut letztes Jahr zur Behandlung einer Fraktur desselben Knöchels. Es war nicht sicher, ob die Wunde mit dieser Operation zusammenhängt, aber sie befand sich an derselben Stelle wie die alte Narbe. Die Wunde wurde über mehrere Monate größer, obwohl der Patient von mehreren staatlichen Krankenhäusern mit verschiedenen topischen Salben behandelt wurde, darunter Bactroban (Mupirocin) und Fucidin, und er erhielt bei zahlreichen Gelegenheiten verschiedene orale Antibiotika. Der Patient ist Raucher (10 Zigaretten pro Tag und gelegentlich Marihuana).

Das Geschwür war stark mit *Pseudomonas aeruginosa* infiziert, hatte den charakteristischen Geruch und produzierte dicke, grüne, reichliche Mengen an Exsudat (Abbildung 5a). Die Wunde war sehr schmerzhaft und der Patient brauchte Krücken, um gehen zu können. Aufgrund der Gewebestruktur wurde vermutet, dass die Wunde krebsartig war. Dies musste durch eine Biopsie bestätigt werden; die Patientin lehnte dies jedoch ab. L-Mesitran Soft wurde appliziert und mit einem absorbierenden Sekundärverband abgedeckt. Der Patient sollte am nächsten Tag zum Verbandswechsel wiederkommen, erschien aber wegen seines geringen Einkommens nicht und er wollte kein Geld für die Wundversorgung ausgeben. Am Tag 3 wurde der Wundverband pro bono gewechselt. Die Wunde war

aufgeweicht, blutete und die Bandagen waren aufgrund der übermäßigen Menge an Exsudat und des verzögerten Verbandswechsels sehr schmutzig. Am Tag 6 kam die Patientin zum zweiten Verbandswechsel, und nach der Reinigung des Bereichs mit Kochsalzlösung war der Wundgeruch geringer und die Wunde deutlich besser. Dasselbe Protokoll wurde für weitere zwei Wochen ohne Antibiotika verwendet. Am Tag 20 verringerte sich die Wundgröße mit dem Vorhandensein von Granulation und Epithelgewebe, und es gab eine starke Verringerung von Geruch, nekrotischem Gewebe und Schorf (Abbildung 5b). Außerdem wurden die Schmerzen reduziert und der Patient konnte mit nur einer Krücke gehen. Gegen unseren Rat entschied sich der Patient, nicht mehr in die Klinik zu kommen und die Wunde selbst zu versorgen.

Fall 4: Stark infizierte Wunde am Sprunggelenk

Ein 56-jähriger Mann stellte sich in der Wundklinik mit einer großen riechenden Wunde vor, die den vorderen und seitlichen Teil des rechten Knöchels bedeckte. Die Ursache der Wunde war unklar; Der Patient unterzog sich jedoch vor etwa dreißig Jahren einer Knöcheloperation und erneut letztes Jahr zur Behandlung einer Fraktur desselben Knöchels. Es war nicht sicher, ob die Wunde mit dieser Operation zusammenhängt, aber sie befand sich an derselben Stelle wie die alte Narbe. Die Wunde wurde über mehrere Monate größer, obwohl der Patient von mehreren staatlichen Krankenhäusern mit verschiedenen topischen Salben behandelt wurde, darunter Bactroban (Mupirocin) und Fucidin, und er erhielt bei zahlreichen Gelegenheiten verschiedene orale Antibiotika. Der Patient ist Raucher (10 Zigaretten pro Tag und gelegentlich Marihuana).

Das Geschwür war stark mit *Pseudomonas aeruginosa* infiziert, hatte den charakteristischen Geruch und produzierte dicke, grüne, reichliche Mengen an Exsudat (Abbildung 5a). Die Wunde war sehr schmerzhaft und der Patient brauchte Krücken, um gehen zu können. Aufgrund der Gewebestruktur wurde vermutet, dass die Wunde krebsartig war. Dies musste durch eine Biopsie bestätigt werden; die Patientin lehnte dies jedoch ab. L-Mesitran Soft wurde appliziert und mit einem absorbierenden Sekundärverband abgedeckt. Der Patient sollte am nächsten Tag zum Verbandswechsel wiederkommen, erschien aber wegen seines geringen Einkommens nicht und er wollte kein Geld für die Wundversorgung ausgeben. Am Tag 3 wurde der Wundverband pro bono gewechselt. Die Wunde war aufgeweicht, blutete und die Bandagen waren aufgrund der übermäßigen Menge an Exsudat und des verzögerten Verbandswechsels sehr schmutzig. Am Tag 6 kam die Patientin zum zweiten Verbandswechsel, und nach der Reinigung des Bereichs mit Kochsalzlösung war der Wundgeruch geringer und die Wunde deutlich besser. Dasselbe Protokoll wurde für weitere zwei Wochen ohne Antibiotika verwendet. Am Tag 20 verringerte sich die Wundgröße mit dem Vorhandensein von Granulation und Epithelgewebe, und es gab eine starke Verringerung von Geruch, nekrotischem Gewebe und Schorf (Abbildung 5b). Darüber hinaus wurden die Schmerzen reduziert und der Patient konnte mit nur einer Krücke gehen. Gegen unseren Rat entschied sich der Patient, nicht mehr in die Klinik zu kommen und die Wunde selbst zu

versorgen.

Diskussion

Alle getesteten Honigprodukte waren hochwirksam bei der Zerstörung von *Pseudomonas aeruginosa*-Bakterien und Biofilmen im verwendeten In-vitro-Biofilm-Wundmodell. L-Mesitran Soft zeigte im Vergleich zu anderen natürlichen und auf MGH basierenden Wundversorgungsprodukten (Medihoney, Melladerm, Revamil, Mebo und L-Mesitran-Salbe) die höchste hemmende und ausrottende Aktivität von *Pseudomonas aeruginosa*-Biofilmen. Die Überlegenheit von L-Mesitran Soft in Bezug auf seine hemmende und ausrottende Aktivität wurde auch gegenüber *Staphylococcus aureus* im Vergleich zu denselben Wundversorgungsprodukten beobachtet. Die separaten Inhaltsstoffe von L-Mesitran Soft: roher Honig, die Vitamine C und E und die Formulierung ohne Honig hatten selbst eine Antibiofilm-Aktivität. Allerdings hatte die Kombination

Diskussion

Alle getesteten Honigprodukte waren hochwirksam bei der Zerstörung von *Pseudomonas aeruginosa*-Bakterien und Biofilmen im verwendeten In-vitro-Biofilm-Wundmodell. L-Mesitran Soft zeigte im Vergleich zu anderen natürlichen und auf MGH basierenden Wundversorgungsprodukten (Medihoney, Melladerm, Revamil, Mebo und L-Mesitran-Salbe) die höchste hemmende und ausrottende Aktivität von *Pseudomonas aeruginosa*-Biofilmen. Die Überlegenheit von L-Mesitran Soft in Bezug auf seine hemmende und ausrottende Aktivität wurde auch gegenüber *Staphylococcus aureus* im Vergleich zu denselben Wundversorgungsprodukten beobachtet. Die separaten Inhaltsstoffe von L-Mesitran Soft: roher Honig, die Vitamine C und E und die Formulierung ohne Honig hatten selbst eine Antibiofilm-Aktivität. Die Kombination hatte jedoch eine synergistische Aktivität, was deutlich zeigt, dass andere Inhaltsstoffe die antimikrobielle Aktivität von MGH verstärken können. Überraschenderweise gab es eine unterschiedliche Wirkung zwischen L-Mesitran Salbe und L-Mesitran Soft. Dies lag wahrscheinlich an den unterschiedlichen Formulierungen. Möglicherweise könnten die Öle und die höhere Konzentration von Lanolin in der L-Mesitran-Salbe die Aktivität der Vitamine gehemmt und gestört haben. Andere Optionen sind, dass das Propylenglykol und das Polyethylenglykol 4000 (PEG 4000), die nur in L-Mesitran Soft enthalten sind, die Unterscheidungsmerkmale sind. Um diese präklinischen Ergebnisse in die klinische Relevanz zu übersetzen, wurden Fallberichte präsentiert, die veranschaulichen, dass L-Mesitran Soft in der Klinik eine starke Aktivität auf *Pseudomonas*-Biofilme in infizierten Geschwüren hat und diese Infektionen sehr schnell abgeheilt sind, während gleichzeitig die Wundheilung verbessert wird Flugbahn.

Wir haben gezeigt, dass eine Kombination aus Vitamin C und E eine starke antimikrobielle

Aktivität ausübt und *Pseudomonas aeruginosa*-Biofilme reduziert, sowohl bei der Hemmung (88,78 %) als auch bei der Eradikation (88,59 %). Das rohe MGH allein war jedoch sogar noch wirksamer, mit einer Verringerung der Wachstumshemmung um 95,88 % und der Beseitigung der Biofilme um 99,56 %. Interessanterweise hatten die kombinierten Inhaltsstoffe, die in der L-Mesitran Soft-Formulierung ohne das MGH verwendet wurden, eine noch stärkere hemmende Aktivität mit einer Verringerung um 97,94 %, aber einer etwas geringeren Aktivität zur Beseitigung des Biofilms (82,13 %). Die stärkste Wirkung wurde bei der vollständigen L-Mesitran Soft-Formulierung beobachtet, die 99,9999 % der *Pseudomonas aeruginosa*-Biofilmbildung hemmte, während 99,93 % der etablierten Biofilme ausgerottet wurden. Diese Daten zeigen deutlich, dass verschiedene Bestandteile von L-Mesitran Soft antimikrobielle Aktivität ausüben. Darüber hinaus gibt es eine starke synergistische Aktivität, wenn sie zusammen in der vollständigen L-Mesitran Soft-Formulierung verwendet werden.

Diese Daten stimmen mit früheren Ergebnissen aus zwei unabhängigen Studien überein, in denen die antimikrobielle Aktivität von L-Mesitran Soft mit der gleichen Charge Rohhonig verglichen wurde, die in der Formulierung verwendet wurde [37,38]. Beide Studien zeigten, dass L-Mesitran Soft eine stärkere antimikrobielle Aktivität als roher Honig gegenüber *Staphylococcus pseudintermedius*, *Malassezia pachydermatis* und *Candida albicans* hat. Diese Ergebnisse stützen die Annahme, dass die hinzugefügten Ergänzungen in der Formulierung von L-Mesitran Soft seine antimikrobielle Aktivität verstärkten [37,38]. Im Gegensatz zu diesen Studien haben wir hier den Beitrag der verschiedenen Nahrungsergänzungsmittel genauer untersucht.

Da wir in der vorliegenden Studie die stärkste antimikrobielle Aktivität unter Verwendung von L-Mesitran Soft beobachtet haben, werden wir auf die verschiedenen Inhaltsstoffe dieser Formulierung näher eingehen und den möglichen Beitrag zu den antimikrobiellen und wundheilenden Aktivitäten diskutieren. L-Mesitran Soft enthält 40 % Honig in medizinischer Qualität, die Vitamine C und E, hypoallergenes Lanolin in medizinischer Qualität, PEG 4000 und Propylenglykol.

Die Vitamine C und E sind Antioxidantien, die eine wichtige Rolle beim Schutz vor oxidativem Stress spielen und dafür bekannt sind, die heilungsfördernde Wirkung von MGH weiter zu verstärken [39][40][41][42][43][44][45] [46]. Vitamin C ist ein bekannter Cofaktor in der Biosynthese von Kollagen und verbessert die Angiogenese und Zugfestigkeit in der Haut [47][48][49]. Vitamin E schützt die Zellen vor Lipidperoxidation, wirkt entzündungshemmend und reduziert die Narbenbildung [43]. Zahlreiche Studien haben gezeigt, dass die Vitamine C und E eine antimikrobielle Aktivität gegen ein breites Spektrum von Mikroorganismen ausüben, darunter Staphylokokken-Arten (einschließlich *Staphylococcus aureus*), Streptokokken-Arten, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Klebsiella pneumoniae* [50][51][52][53]. Darüber hinaus können diese Vitamine synergistische Wirkungen mit Antibiotika haben und die

Wachstumshemmung und die tödlichen Wirkungen von Antibiotika gegen Mikroorganismen verstärken [40, 50, [54] [55] [56] [57] [58] [59] [60]. 61][62][63]. Jüngste Studien betonen, dass die Vitamine C und E auch die antimikrobielle Aktivität von Honig verstärken können [24,37,38,50].

Die Vitamine C und E fördern eine immunmodulatorische Wirkung und erhöhen über diverse Mechanismen die antimikrobielle Empfindlichkeit [63,64]. Niedrige Konzentrationen von Vitamin C reduzieren die Synthese von extrazellulären Polymeren, die die bakteriellen Biofilme bilden, und destabilisieren diese Biofilme, wohingegen hohe Konzentrationen von Vitaminen auch in der Lage sind, Bakterien abzutöten [65,66]. Vitamin C ist auch am bakteriellen Stoffwechsel beteiligt; Während einige Bakterien Vitamin C fermentieren können, können andere nicht zu oxidativem Stress führen, der das Bakterienwachstum hemmt [64]. Vitamin C löst wahrscheinlich die intrazelluläre Produktion reaktiver Sauerstoffspezies in Bakterienzellen aus [50]. Darüber hinaus verändert Vitamin C die bakterielle Zelloberfläche, um sie zunehmend durchlässiger für Antibiotika zu machen und die antimikrobielle Aktivität zu potenzieren [53]. Darüber hinaus gedeiht der Übergang von Mikroorganismen von einem planktonischen in einen Biofilm-sessilen Zustand unter oxidativem Stress, und daher könnten Antioxidantien wie Vitamin C und E eine wirksame ergänzende Therapie sein [67]. Eine kürzlich durchgeführte Studie zeigte, dass die Supplementierung verschiedener Honigsorten mit Vitamin C dosisabhängig zu einer signifikanten Verstärkung der antibakteriellen Aktivität gegen *Pseudomonas aeruginosa* und *Escherichia coli* führte [50]. Darüber hinaus verstärkte Vitamin C in einem Multispezies-Biofilmmodell mit vier Bakterienarten (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Enterococcus faecalis*) die Antibiofilmwirkung von Honigtau-honig gegen alle vier Isolate innerhalb von 24 h [50]. Obwohl die antibakterielle Wirkung von Vitamin C sowohl bakterienstamm- als auch konzentrationsabhängig sein kann [50], deuten diese Ergebnisse auf ein breites Spektrum antimikrobieller Aktivität hin. Daher ist eine mit Vitaminen ergänzte Honigkombination eine sehr vielversprechende Therapie zur Behandlung chronisch infizierter Wunden und wird im klinischen Umfeld zunehmend als wirksam anerkannt [22,50].

Anekdotisch wird behauptet, dass Lanolin antimikrobiell ist, aber es gibt wenig wissenschaftliche Beweise, um dies zu untermauern [37]. Neben einer möglichen antimikrobiellen Aktivität kann Lanolin zu einer verbesserten Wundheilung beitragen, wie in experimentellen Wunden und klinischen Studien an rissigen und wunden Brustwarzen gezeigt wurde [68][69][70][71][72]. Darüber hinaus wird Lanolin topisch zur Behandlung trockener und gereizter Haut angewendet, hauptsächlich in den Bereichen Kosmetik und Gesundheitswesen, da es die Wiederherstellung der epidermalen Barriere unterstützt und den Wasserverlust der Haut reduziert [73][74][75]. Diese hydratisierenden Eigenschaften machen es zu einem hervorragenden Vehikel zum Zurückhalten von wasserlöslichen pharmazeutischen, kosmetischen und antimikrobiellen Wirkstoffen wie MGH [62,74,75].

PEG 4000, dessen Zahl sein Molekulargewicht angibt, ist eine Substanz, die häufig als Vehikel oder Co-Lösungsmittel in einer Vielzahl von pharmazeutischen, kosmetischen, ophthalmischen Lösungen und oralen pharmazeutischen Anwendungen mit verzögerter Freisetzung verwendet wird [76,77]. In einer randomisierten kontrollierten Studie wurden 84 Patienten mit oberflächlichen Verbrennungen in zwei gleiche Gruppen eingeteilt, die entweder nur mit Honig oder mit Antioxidantien (Vitamine C und E) und PEG 4000 angereicherter Honig behandelt wurden. Die Verbrennungen in der letzteren Gruppe heilten schneller als in der Gruppe allein mit Honig behandelt (Mittelwert 6,4 Tage versus 8,3 Tage) [78]. Die gleichen Ergänzungen werden auch in L-Mesitran Soft verwendet und werden daher wahrscheinlich auch die heilenden Eigenschaften von Honig verbessern. PEG soll eine antimikrobielle Aktivität haben, wobei PEG 1000 stärker ist als PEG 400 [79].

Propylenglykol wird häufig als dermatologischer Träger für Gele und Salben verwendet und ermöglicht ein besseres Eindringen in die Haut und das subkutane Gewebe [80]. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass Propylenglykol antimikrobielle Aktivität besitzt [79,81].

Es gibt mehrere Wirkmechanismen bezüglich der antimikrobiellen Aktivität von Honig gegen *Pseudomonas aeruginosa*. Honig induziert unter anderem den Verlust der strukturellen Integrität und deutliche Veränderungen der Zellform und -oberfläche, möglicherweise durch Erhöhung der algD- und Verringerung der oprF-Genexpression, was zu Membrandepolarisation und -permeabilisierung und anschließender Zelllyse führt [82][83][84]. Honig reduziert die Fähigkeit, Eisen aufzunehmen, indem er die Produktion von Siderophoren verringert, die ein wichtiger Virulenzfaktor von *Pseudomonas* spp. [85]. Darüber hinaus hemmt Honig die bakterielle Adhäsion an Keratinozyten sowie die Gewebeproteine Fibronectin, Fibrinogen und Kollagen und macht so Wundpathogene weniger virulent [86]. Darüber hinaus unterdrückt Honig Flagellen-assoziierte Gene (*fleQ*, *fleN*, *fliA*, *fliC*), was zur Deflagellierung von *Pseudomonas aeruginosa* und anschließend zu einer verringerten Motilität, Adhärenz und Virulenz führt [87].

Es gibt einen 100-fachen Unterschied in der antimikrobiellen Potenz zwischen verschiedenen Honigsorten [88]. Manukahonig wird wahrscheinlich am häufigsten für die Wundversorgung verwendet, da dies der erste Honig war, der umfassend auf seine antimikrobiellen Eigenschaften untersucht wurde [24,89]. Darüber hinaus haben andere Arten von Honig eine ähnliche oder überlegene antimikrobielle Aktivität und können für die Wundheilung wirksamer sein [22, [90] [91] [92] [93] [94]. Die aktuellen Ergebnisse stimmen mit früheren In-vitro-Ergebnissen überein, die die antimikrobielle Aktivität von L-Mesitran Soft und Medihoney gegen elf Staphylokokken und elf *Pseudomonas* spp. Krankheitserreger [24]. L-Mesitran Soft war in seiner Aktivität konsistent und bei etwa zweifach stärkerer Verdünnung wirksamer als Medihoney, obwohl es bereits die Hälfte der Konzentration von Honig enthielt [24]. Aufgrund der Unterschiede in der antimikrobiellen Aktivität zwischen den getesteten Wundversorgungsprodukten empfehlen wir, bei der Auswahl des geeigneten Produkts

sorgfältig vorzugehen. Der Hauptunterschied zwischen Manuka und anderen Arten von MGH ist ihr antimikrobieller Mechanismus. Die durch Manukahonig vermittelte antimikrobielle Aktivität wird hauptsächlich Methylglyoxal zugeschrieben, während andere Honigsorten hauptsächlich auf Wasserstoffperoxid zurückzuführen sind [94][95][96].

Die meisten Studien zeigen, dass unabhängig von der Honigsorte eine Konzentration von mindestens 40 % Honig ausreicht, um fast alle getesteten Mikroorganismen abzutöten [97][98][99][100]. Daher wird eine Konzentration über 40 % die antimikrobielle Aktivität nicht weiter verstärken und wird in MGH-Formulierungen nicht benötigt. Im Gegensatz dazu können hohe Konzentrationen von Manukahonig kontraproduktiv sein und mit Zytotoxizität verbunden sein, höchstwahrscheinlich als Folge der Toxizität von Methylglyoxal, das in anderen Honigsorten fehlt [101][102][103]. Es wurde vorgeschlagen, mindestens 25 % Honig für therapeutische Zwecke zu verwenden [104] oder mindestens 33 %, um gegen Biofilme wirksam zu sein [101]. Der Vorteil einer Konzentration von 40 % Honig besteht darin, dass andere nützliche Inhaltsstoffe hinzugefügt werden können, um beispielsweise die antimikrobielle oder wundheilende Wirkung zu verstärken oder die Anwendung zu erleichtern. Reiner Honig ist sehr klebrig und temperaturempfindlich; Honig ist hart, wenn er kalt ist, und tropft unter warmen Bedingungen, was seine Anwendbarkeit beeinträchtigt. Das Hinzufügen von Inhaltsstoffen zur einfacheren Anwendung würde dem Wundpflegeprodukt zugute kommen [19]. Auf dieser Grundlage ist L-Mesitran Soft zusätzlich zu seiner überlegenen antimikrobiellen Aktivität im Allgemeinen praktischer als reine Honigformulierungen. Die klinische Wirksamkeit wird auch durch die vorgestellten Fälle gestützt.

Materialien und Methoden

Bewertung der Biofilm-hemmenden und ausrottenden Aktivität von MGH-haltigen Wundversorgungsprodukten unter Verwendung eines In-vitro-Wundmodells

Pseudomonas aeruginosa PA01 und *Staphylococcus aureus* Mu50 wurden aerob auf tryptischem Soja-Agar bei 37 °C gezüchtet. Biofilme wurden in einem in vitro Wundbiofilmmodell gezüchtet, das eine künstliche Dermis (AD) enthielt, wie zuvor beschrieben [31]. Kurz gesagt, eine Übernachtskultur des getesteten Stamms wurde pelletiert, gewaschen, in physiologischer Kochsalzlösung (PS) resuspendiert und auf 10^6 CFU pro ml verdünnt (bestimmt unter Verwendung der Messung der optischen Dichte (OD) und einer zuvor erstellten Kalibrierungskurve Verknüpfung von OD und Anzahl der CFU/mL). Die ADs wurden in ein Biofilmmedium für chronische Wunden eingeweicht (Bolton-Bouillon mit 50 % Plasma, 5 % gefrier-auftaugelacktem Pferdeblut und 10 U/ml Heparin). Sie wurden in die Vertiefungen einer Mikrotiterplatte mit 24 Vertiefungen (TPP) gegeben, und 10^{-8} ml-

Aliquots der Zellsuspension wurden auf jede AD getüpfelt. Ein Volumen von 0,5 ml Biofilmmedium für chronische Wunden wurde in jede Vertiefung gegeben. Die Sterilität von AD, Wundbiofilmmedium und Wundversorgungsprodukten wurde bestätigt.

Um die mögliche Hemmwirkung der Produkte auf die Bildung des Biofilms zu bewerten, wurden 250 mg des Produkts (siehe Tabelle 1) unmittelbar nach der Inokulation auf jede AD gegeben, und das Biofilmmodell wurde für 24 h bei 37 °C inkubiert, um einen Biofilm zu ermöglichen Bildung auf der AD. Um die ausrottenden Wirkungen der Produkte (Tabelle 1) auf den Biofilm zu bewerten, ließ man Biofilme zunächst 24 h lang sich bilden, danach wurde das Produkt wie oben beschrieben aufgebracht und weitere 24 h inkubiert.

Um die inhibitorische und ausrottende Aktivität nach der Behandlung zu messen, wurde der gesamte Inhalt der Vertiefung entfernt und in 10 ml PS gegeben. Aggregate wurden durch wiederholtes Vortexen und Beschallen (drei Zyklen von 30 s Vortexen und Beschallen; Beschallungstyp: Branson Ultrasonic Bath (Hach Company, Loveland, CO, USA)) entfernt und die Anzahl der CFU wurde durch Ausplattieren der resultierenden Suspensionen bestimmt. Die getesteten Produkte wurden auf die unbehandelte Kontrolle bezogen und die logarithmische Reduktion in den Ergebnissen dargestellt.

Honigproben und andere Testbedingungen

Die antimikrobielle Aktivität von neun verschiedenen Produkten wurde bewertet, darunter sechs Wundversorgungsprodukte und drei verschiedene Kombinationen von Inhaltsstoffen, die in L-Mesitran Soft verwendet wurden, und mit der unbehandelten Kontrolle verglichen (Tabelle 1).

Fallserie

Um die Anti-Biofilm-Aktivität von L-Mesitran Soft in der Klinik zu veranschaulichen, wurden vier Patienten eingeschlossen, die in die Wundversorgungsklinik kamen und sich mit Wunden vorstellten, die vermutlich mit *Pseudomonas aeruginosa*-Biofilmen infiziert waren. Es werden Bilder zu Beginn der Behandlung und während der Nachsorge präsentiert, die einen deutlichen Wundverlauf zeigen. Die Patienten wurden über die Studie aufgeklärt und alle gaben schriftlich ihr Einverständnis zur Verwendung ihrer Fotos und Daten zur Veröffentlichung. Dabei wurden die Prinzipien der Deklaration von Helsinki des Weltärztebundes befolgt.

Statistiken

Die statistische Analyse wurde unter Verwendung der Software GraphPad Prism 5.01 (San Diego, CA, USA) durchgeführt. Die Daten wurden unter Verwendung einer Einweg-Varianzanalyse (ANOVA) mit Bonferroni's Mehrfachvergleichs-Post-Hoc-Test als Korrektur für Mehrfachvergleiche analysiert. Die Ergebnisse wurden bei $p < 0,05$ als signifikant unterschiedlich angesehen (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ und *** $p < 0,001$).

Schlussfolgerungen

Alle getesteten Wundversorgungsprodukte auf MGH-Basis bilden eine wirksame Behandlung zur Hemmung und Eradikation des Biofilms von *Pseudomonas aeruginosa*. Dennoch gibt es eine Variabilität der Antibiofilm-Aktivität zwischen verschiedenen Wundversorgungsformulierungen in Abhängigkeit von ihren Zusammensetzungen. Unterschiedliche Inhaltsstoffe, wie die Vitamine C und E, üben eine separate antimikrobielle Aktivität aus. In Kombination kann jedoch eine synergistische Wirkung auftreten. L-Mesitran Soft zeigte aufgrund seiner Ergänzungen die stärkste Aktivität. Diese Wirksamkeit wurde auch in klinischen Fällen von hartnäckigen Biofilmen ohne die Notwendigkeit des Einsatzes von Antibiotika nachgewiesen.

Ergänzende Materialien: Die folgenden Materialien sind online verfügbar unter <http://www.mdpi.com/2079-6382/9/12/866/s1>, Abbildung S1: Antimikrobielle Aktivität verschiedener Naturstoffe auf Biofilme von *Staphylococcus aureus* (Mu50). Finanzierung: Diese Forschung erhielt keine externe Finanzierung.

Interessenskonflikte:

NAJC ist bei Triticum Exploitation BV beschäftigt. Triticum Exploitation ist der Hersteller von L-Mesitran und stellte die in der Studie getesteten Verbindungen zur Verfügung. NAJC war nicht an der Konzeption der Studie, der Erhebung, Analyse oder Interpretation der Daten und der Präsentation der Ergebnisse beteiligt. Alle anderen Autoren geben keine Interessenskonflikte an.

Referenzen

Wu, Y.K.; Cheng, N.C.; Cheng, C.M. Biofilms in Chronic Wounds: Pathogenesis and Diagnosis. *Trends Biotechnol.* 2019, 37, 505–517. [CrossRef]

Lu, J.; Turnbull, L.; Burke, C.M.; Liu, M.; Carter, D.A.; Schlothauer, R.C.; Whitchurch, C.B.; Harry, E.J. Manuka-type honeys can eradicate biofilms produced by *Staphylococcus aureus* strains with different biofilm-forming abilities. *PeerJ* 2014, 2, e326. [CrossRef]

Bianchi, T.; Wolcott, R.D.; Peghetti, A.; Leaper, D.; Cutting, K.; Polignano, R.; Rosa Rita, Z.; Moscatelli, A.; Greco, A.; Romanelli, M.; et al. Recommendations for the management of biofilm: A consensus document. *J. Wound Care* 2016, 25, 305–317. [CrossRef]

Olsson, M.; Jarbrink, K.; Divakar, U.; Bajpai, R.; Upton, Z.; Schmidtchen, A.; Car, J. The humanistic and economic burden of chronic wounds: A systematic review. *Wound Repair Regen.* 2019, 27, 114–125. [CrossRef]

Frykberg, R.G.; Banks, J. Challenges in the Treatment of Chronic Wounds. *Adv. Wound Care* 2015, 4, 560–582. [CrossRef] [PubMed]

Leaper, D.; Assadian, O.; Edmiston, C.E. Approach to chronic wound infections. *Br. J. Dermatol.* 2015, 173, 351–358. [CrossRef] [PubMed]

Halstead, F.D.; Webber, M.A.; Oppenheim, B.A. Use of an engineered honey to eradicate preformed biofilms of important wound pathogens: An in vitro study. *J. Wound Care* 2017, 26, 442–450. [CrossRef] [PubMed]

Burmolle, M.; Thomsen, T.R.; Fazli, M.; Dige, I.; Christensen, L.; Homoe, P.; Tvede, M.; Nyvad, B.; Tolker-Nielsen, T.; Givskov, M.; et al. Biofilms in chronic infections—A matter of opportunity—monospecies biofilms in multispecies infections. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2010, 59, 324–336. [CrossRef]

Lu, J.; Cokcetin, N.N.; Burke, C.M.; Turnbull, L.; Liu, M.; Carter, D.A.; Whitchurch, C.B.; Harry, E.J. Honey can inhibit and eliminate biofilms produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *Sci. Rep.* 2019, 9, 18160. [CrossRef] [PubMed]

Mah, T.F.; O'Toole, G.A. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol.* 2001, 9, 34–39. [CrossRef]

Gjodsbol, K.; Christensen, J.J.; Karlsmark, T.; Jorgensen, B.; Klein, B.M.; Kroghfelt, K.A. Multiple bacterial species reside in chronic wounds: A longitudinal study. *Int. Wound J.* 2006, 3, 225–231. [CrossRef] [PubMed]

Donlan, R.M.; Costerton, J.W. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002, 15, 167–193. [CrossRef] [PubMed]

Fazli, M.; Bjarnsholt, T.; Kirketerp-Moller, K.; Jorgensen, B.; Andersen, A.S.; Kroghfelt, K.A.; Givskov, M.; Tolker-Nielsen, T. Nonrandom distribution of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in chronic wounds. *J. Clin. Microbiol.* 2009, 47, 4084–4089. [CrossRef]

Dryden, M.S. Complicated skin and soft tissue infection. *J. Antimicrob. Chemother.* 2010, 65 (Suppl. S3), iii35–iii44. [CrossRef] [PubMed]

Veesenmeyer, J.L.; Hauser, A.R.; Lisboa, T.; Rello, J. *Pseudomonas aeruginosa* virulence and therapy: Evolving translational strategies. *Crit. Care Med.* 2009, 37, 1777–1786. [CrossRef]

Drenkard, E. Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Microbes Infect.* 2003, 5, 1213–1219. [CrossRef]

Stover, C.K.; Pham, X.Q.; Erwin, A.L.; Mizoguchi, S.D.; Warrenner, P.; Hickey, M.J.; Brinkman, F.S.; Hufnagle, W.O.; Kowalik, D.J.; Lagrou, M.; et al. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature* 2000, 406, 959–964. [CrossRef]

Klockgether, J.; Munder, A.; Neugebauer, J.; Davenport, C.F.; Stanke, F.; Larbig, K.D.; Heeb, S.; Schock, U.; Pohl, T.M.; Wiehlmann, L.; et al. Genome diversity of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 laboratory strains. *J. Bacteriol.* 2010, 192, 1113–1121. [CrossRef]

Hermanns, R.; Mateescu, C.; Thrasyvoulou, A.; Tananaki, C.; Wagener, F.A.D.T.G.; Cremers, N.A.J. Defining the standards for medical grade honey. *J. Apic. Res.* 2020, 59, 125–135. [CrossRef]

Smaropoulos, E.; Cremers, N.A. Medical grade honey for the treatment of paediatric abdominal wounds: A case series. *J. Wound Care* 2020, 29, 94–99. [CrossRef]

Smaropoulos, E.; Cremers, N.A.J. The pro-healing effects of medical grade honey supported by a pediatric case series. *Complement. Ther. Med.* 2019, 45, 14–18. [CrossRef] [PubMed]

Smaropoulos, E.; Cremers, N.A.J. Medical grade honey for the treatment of extravasation-induced injuries in preterm neonates—A case series. *Adv. Neonatal Care* 2020, in press. [CrossRef] [PubMed]

Smaropoulos, E.; Cremers, N.A.J. Treating severe wounds in pediatrics with medical grade honey: A case series. *Clin. Case Rep.* 2020, 8, 469–476. [CrossRef] [PubMed]

Cremers, N.; Belas, A.; Santos Costa, S.; Couto, I.; de Rooster, H.; Pomba, C. In vitro antimicrobial efficacy of two medical grade honey formulations against common high-risk meticillin-resistant staphylococci and *Pseudomonas* spp. pathogens. *Vet. Dermatol.* 2020, 31, 90–96. [CrossRef] [PubMed]

Yilmaz, A.C.; Aygin, D. Honey Dressing in Wound Treatment: A Systematic Review. *Complement. Ther. Med.* 2020, 51, 102388. [CrossRef] [PubMed]

Merckoll, P.; Jonassen, T.O.; Vad, M.E.; Jeansson, S.L.; Melby, K.K. 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, 341–347. [CrossRef]

Vallabha, T.; Ragate, A.; Sindagikar, V.; Deshpande, H.; Narasanagi, B. Is Honey an Answer for Eradication of Biofilms? *Indian J. Surg.* 2018. [CrossRef]

Chatzoulis, G.; Chatzoulis, K.; Spyridopoulos, P.; Pappas, P.; Ploumis, A. Salvage of an infected titanium mesh in a large incisional ventral hernia using medicinal honey and vacuum-assisted closure: A case report and literature review. *Hernia* 2012, 16, 475–479. [CrossRef]

Mancuso, E.; Tonda-Turo, C.; Ceresa, C.; Pensabene, V.; Connell, S.D.; Fracchia, L.; Gentile, P. Potential of Manuka Honey as a Natural Polyelectrolyte to Develop Biomimetic Nanostructured Meshes with Antimicrobial Properties. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2019, 7, 344. [CrossRef]

Mandel, H.H.; Sutton, G.A.; Abu, E.; Kelmer, G. Intralesional application of medical grade honey improves healing of surgically treated lacerations in horses. *Equine Vet. J.* 2020, 52, 41–45. [CrossRef]

Brackman, G.; Garcia-Fernandez, M.J.; Lenoir, J.; De Meyer, L.; Remon, J.P.; De Beer, T.; Concheiro, A.; Alvarez-Lorenzo, C.; Coenye, T. Dressings Loaded with Cyclodextrin-Hamamelitannin Complexes Increase *Staphylococcus aureus* Susceptibility Toward Antibiotics Both in Single as well as in Mixed Biofilm Communities. *Macromol. Biosci.* 2016, 16, 859–869. [CrossRef] [PubMed]

Avison, M.B.; Bennett, P.M.; Howe, R.A.; Walsh, T.R. Preliminary analysis of the genetic basis for vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus* strain Mu50. *J. Antimicrob. Chemother.* 2002, 49, 255–260. [CrossRef] [PubMed]

Oyibo, S.O.; Jude, E.B.; Tarawneh, I.; Nguyen, H.C.; Harkless, L.B.; Boulton, A.J. A comparison of two diabetic foot ulcer classification systems: The Wagner and the University of Texas wound classification systems. *Diabetes Care* 2001, 24, 84–88. [CrossRef] [PubMed]

Mutluoglu, M.; Uzun, G. *Pseudomonas* infection in a postoperative foot wound. *CMAJ* 2011, 183, E499. [CrossRef] [PubMed]

Wu, D.C.; Chan, W.W.; Metelitsa, A.I.; Fiorillo, L.; Lin, A.N. *Pseudomonas* skin infection: Clinical features, epidemiology, and management. *Am. J. Clin. Dermatol.* 2011, 12, 157–169. [CrossRef] [PubMed]

Hawker, G.A.; Mian, S.; Kendzerska, T.; French, M. Measures of adult pain: Visual Analog Scale for Pain (VAS Pain), Numeric Rating Scale for Pain (NRS Pain), McGill Pain Questionnaire (MPQ), Short-Form McGill Pain Questionnaire (SF-MPQ), Chronic Pain Grade Scale (CPGS), Short Form-36 Bodily Pain Scale (SF-36 BPS), and Measure of Intermittent and Constant Osteoarthritis Pain (ICOAP). *Arthritis Care Res.* 2011, 63 (Suppl. S11), S240–S252. [CrossRef] [PubMed]

Hermanns, R.; Cremers, N.A.J.; Leeming, J.P.; van der Werf, E.T. Sweet Relief: Determining the Antimicrobial Activity of Medical Grade Honey Against Vaginal Isolates of *Candida albicans*. *J. Fungi* 2019, 5, 85. [CrossRef]

Oliveira, A.M.P.; Devesa, J.S.P.; Hill, P.B. In vitro efficacy of a honey-based gel against canine clinical isolates of *Staphylococcus pseudintermedius* and *Malassezia pachydermatis*. *Vet. Dermatol.* 2018, 29, 180-e165. [CrossRef]

Burgess, C. Topical vitamins. *J. Drugs Dermatol.* 2008, 7, s2–s6.

Keen, M.A.; Hassan, I. Vitamin E in dermatology. *Indian Dermatol. Online J.* 2016, 7, 311–315. [CrossRef]

Burke, K.E. Interaction of vitamins C and E as better cosmeceuticals. *Dermatol. Ther.* 2007, 20, 314–321. [CrossRef] [PubMed]

Lin, F.H.; Lin, J.Y.; Gupta, R.D.; Tournas, J.A.; Burch, J.A.; Selim, M.A.; Monteiro-Riviere, N.A.; Grichnik, J.M.; Zielinski, J.; Pinnell, S.R. Ferulic acid stabilizes a solution of vitamins C and E and doubles its photoprotection of skin. *J. Investig. Dermatol.* 2005, 125, 826–832. [CrossRef] [PubMed]

Sinno, S.; Lee, D.S.; Khachemoune, A. Vitamins and cutaneous wound healing. *J. Wound Care* 2011, 20, 287–293. [CrossRef] [PubMed]

Al-Waili, N.; Salom, K.; Al-Ghamdi, A.A. Honey for wound healing, ulcers, and burns; data supporting its use in clinical practice. *ScientificWorldJournal* 2011, 11, 766–787. [CrossRef] [PubMed]

Lima, C.C.; Pereira, A.P.; Silva, J.R.; Oliveira, L.S.; Resck, M.C.; Grechi, C.O.; Bernardes, M.T.; Olimpio, F.M.; Santos, A.M.; Incerpi, E.K.; et al. Ascorbic acid for the healing of skin wounds in rats. *Braz. J. Biol.* 2009, 69, 1195–1201. [CrossRef]

Schencke, C.; Vasconcellos, A.; Sandoval, C.; Torres, P.; Acevedo, F.; Del Sol, M. Morphometric evaluation of wound healing in burns treated with *Ulmo* (*Eucryphia cordifolia*) honey alone

and supplemented with ascorbic acid in guinea pig (*Cavia porcellus*). *Burns Trauma* 2016, 4, 25. [CrossRef]

Moore, J. Vitamin C: A wound healing perspective. *Br. J. Community Nurs.* 2013, 18 (Suppl. S6), S8–S11. [CrossRef]

Mohammed, B.M.; Fisher, B.J.; Kraskauskas, D.; Ward, S.; Wayne, J.S.; Brophy, D.F.; Fowler, A.A., 3rd;

Yager, D.R.; Natarajan, R. Vitamin C promotes wound healing through novel pleiotropic mechanisms. *Int. Wound J.* 2016, 13, 572–584. [CrossRef]

Dickerson, J.W. Ascorbic acid, zinc and wound healing. *J. Wound Care* 1993, 2, 350–353. [CrossRef]

Majtan, J.; Sojka, M.; Palenikova, H.; Bucekova, M.; Majtan, V. Vitamin C Enhances the Antibacterial Activity of Honey against Planktonic and Biofilm-Embedded Bacteria. *Molecules* 2020, 25, 992. [CrossRef]

Myrvik, Q.N.; Volk, W.A. Comparative study of the antibacterial properties of ascorbic acid and reductogenic compounds. *J. Bacteriol.* 1954, 68, 622–626. [CrossRef] [PubMed]

Stacpoole, P.W. Role of vitamin C in infectious disease and allergic reactions. *Med. Hypotheses* 1975, 1, 43–45. [CrossRef]

Rawal, B.D. Bactericidal action of ascorbic acid on *Pseudomonas aeruginosa*: Alteration of cell surface as a possible mechanism. *Chemotherapy* 1978, 24, 166–171. [CrossRef] [PubMed]

Shahzad, S.; Ashraf, M.A.; Sajid, M.; Shahzad, A.; Rafique, A.; Mahmood, M.S. Evaluation of synergistic antimicrobial effect of vitamins (A, B1, B2, B6, B12, C, D, E and K) with antibiotics against resistant bacterial strains. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 2018, 13, 231–236. [CrossRef] [PubMed]

Hussain, A.; Tabrez, E.; Peela, J.; Honnavar, P.D.; Tabrez, S.S.M. Vitamin C: A Preventative, Therapeutic Agent Against *Helicobacter pylori*. *Cureus* 2018, 10, e3062. [CrossRef] [PubMed]

Pierpaoli, E.; Cirioni, O.; Barucca, A.; Orlando, F.; Silvestri, C.; Giacometti, A.; Provinciali, M. Vitamin E supplementation in old mice induces antimicrobial activity and improves the efficacy of daptomycin in an animal model of wounds infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2011, 66, 2184–2185. [CrossRef]

Provinciali, M.; Cirioni, O.; Orlando, F.; Pierpaoli, E.; Barucca, A.; Silvestri, C.; Ghiselli, R.; Scalise, A.; Brescini, L.; Guerrieri, M.; et al. Vitamin E improves the in vivo efficacy of tigecycline and daptomycin in an animal model of wounds infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Med. Microbiol.* 2011, 60, 1806–1812. [CrossRef]

Kallio, J.; Jaakkola, M.; Maki, M.; Kilpelainen, P.; Virtanen, V. Vitamin C inhibits *Staphylococcus aureus* growth and enhances the inhibitory effect of quercetin on growth of *Escherichia coli* in vitro. *Planta Med.* 2012, 78, 1824–1830. [CrossRef]

Vergheze, R.; Mathew, S.; David, A. Antimicrobial Activity of Vitamin C Demonstrated on Uropathogenic *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *J. Curr. Res. Sci. Med.* 2017, 3, 88.

Avci, P.; Freire, F.; Banvolgyi, A.; Mylonakis, E.; Wikonkal, N.M.; Hamblin, M.R. Sodium ascorbate kills *Candida albicans* in vitro via iron-catalyzed Fenton reaction: Importance of oxygenation and metabolism. *Future Microbiol.* 2016, 11, 1535–1547. [CrossRef]

Helgadóttir, S.; Pandit, S.; Mokkalapati, V.R.S.S.; Westerlund, F.; Apell, P.; Mijakovic, I. Vitamin C Pretreatment Enhances the Antibacterial Effect of Cold Atmospheric Plasma. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017, 7, 43. [CrossRef] [PubMed]

Hanna, C.; Fraunfelder, F.T.; Cable, M.; Hardberger, R.E. The effect of ophthalmic ointments on corneal wound healing. *Am. J. Ophthalmol.* 1973, 76, 193–200. [CrossRef]

Naguib, M.M.; Valvano, M.A. Vitamin E Increases Antimicrobial Sensitivity by Inhibiting Bacterial Lipocalin Antibiotic Binding. *mSphere* 2018, 3, e00564-18. [CrossRef] [PubMed]

Mousavi, S.; Bereswill, S.; Heimesaat, M.M. Immunomodulatory and Antimicrobial Effects of Vitamin C. *Eur. J. Microbiol. Immunol.* 2019, 9, 73–79. [CrossRef] [PubMed]

Pandit, S.; Ravikumar, V.; Abdel-Haleem, A.M.; Derouiche, A.; Mokkalapati, V.; Sihlbom, C.; Mineta, K.; Gojobori, T.; Gao, X.; Westerlund, F.; et al. Low Concentrations of Vitamin C Reduce the Synthesis of Extracellular Polymers and Destabilize Bacterial Biofilms. *Front. Microbiol.* 2017, 8, 2599. [CrossRef]

Ali Mirani, Z.; Khan, M.N.; Siddiqui, A.; Khan, F.; Aziz, M.; Naz, S.; Ahmed, A.; Khan, S.I. Ascorbic acid augments colony spreading by reducing biofilm formation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Iran. J. Basic Med. Sci.* 2018, 21, 175–180. [CrossRef]

Ong, K.S.; Mawang, C.I.; Daniel-Jambun, D.; Lim, Y.Y.; Lee, S.M. Current anti-biofilm strategies and potential of antioxidants in biofilm control. *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.* 2018, 16, 855–864. [CrossRef]

Chvapil, M.; Gaines, J.A.; Gilman, T. Lanolin and epidermal growth factor in healing of partial-thickness pig wounds. *J. Burn. Care Rehabil.* 1988, 9, 279–284. [CrossRef]

Brent, N.; Rudy, S.J.; Redd, B.; Rudy, T.E.; Roth, L.A. Sore nipples in breast-feeding women: A clinical trial of wound dressings vs conventional care. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* 1998, 152, 1077–1082. [CrossRef]

Dennis, C.L.; Schottle, N.; Hodnett, E.; McQueen, K. An all-purpose nipple ointment versus lanolin in treating painful damaged nipples in breastfeeding women: A randomized controlled trial. *Breastfeed. Med.* 2012, 7, 473–479. [CrossRef]

Huml, S. Sore nipples. A new look at an old problem through the eyes of a dermatologist. *Pract. Midwife* 1999, 2, 28–31. [PubMed]

Abou-Dakn, M.; Fluhr, J.W.; Gensch, M.; Wockel, A. Positive effect of HPA lanolin versus expressed breastmilk on painful and damaged nipples during lactation. *Skin Pharmacol. Physiol.* 2011, 24, 27–35. [CrossRef] [PubMed]

Sengupta, A.; Behera, J. Comprehensive view on chemistry, manufacturing & applications of lanolin extracted from wool pretreatment. *Am. J. Eng. Res.* 2014, 3, 33–43.

Clark, E.W.; Steel, I. Investigations into biomechanisms of the moisturizing function of lanolin. *J. Cosmet. Sci.* 1993, 44, 181–195.

Stone, L. Medilan: A hypoallergenic lanolin for emollient therapy. *Br. J. Nurs.* 2000, 9, 54–57. [CrossRef]

Biondi, O.; Motta, S.; Mosesso, P. Low molecular weight polyethylene glycol induces chromosome aberrations in Chinese hamster cells cultured in vitro. *Mutagenesis* 2002, 17, 261–264. [CrossRef]

Klonne, D.R.; Dodd, D.E.; Losco, P.E.; Troup, C.M.; Tyler, T.R. Two-week aerosol inhalation study on polyethylene glycol (PEG) 3350 in F-344 rats. *Drug Chem. Toxicol.* 1989, 12, 39–48. [CrossRef]

Subrahmanyam, N. Addition of antioxidants and polyethylene glycol 4000 enhances the healing properties of honey in burns. *Ann. Burns Fire Dis.* 1996, 9, 2.

Nalawade, T.M.; Bhat, K.; Sogi, S.H. Bactericidal activity of propylene glycol, glycerine, polyethylene glycol 400, and polyethylene glycol 1000 against selected microorganisms. *J. Int. Soc. Prev. Community Dent.* 2015, 5, 114–119. [CrossRef]

Leibson, T.; Davies, P.; Nickel, C.; Koren, G. Hyperosmolar metabolic acidosis in burn patients exposed to glycol based topical antimicrobials-A systematic review. *Burns* 2018, 44, 776–783. [CrossRef]

Kinnunen, T.; Koskela, M. Antibacterial and antifungal properties of propylene glycol, hexylene glycol, and 1,3-butylene glycol in vitro. *Acta Derm. Venereol.* 1991, 71, 148–150. [PubMed]

Henriques, A.F.; Jenkins, R.E.; Burton, N.F.; Cooper, R.A. The effect of manuka honey on the structure of *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2011, 30, 167–171. [CrossRef] [PubMed]

Roberts, A.E.L.; Maddocks, S.E.; Cooper, R.A. Manuka honey is bactericidal against *Pseudomonas aeruginosa* and results in differential expression of *oprF* and *algD*. *Microbiology* 2012, 158, 3005–3013. [CrossRef] [PubMed]

Bouzo, D.; Cokcetin, N.N.; Li, L.; Ballerin, G.; Bottomley, A.L.; Lazenby, J.; Whitchurch, C.B.; Paulsen, I.T.; Hassan, K.A.; Harry, E.J. Characterizing the Mechanism of Action of an Ancient Antimicrobial, Manuka Honey, against *Pseudomonas aeruginosa* Using Modern Transcriptomics. *mSystems* 2020, 5, e00106-20. [CrossRef] [PubMed]

Krona, J.M.; Cooper, R.A.; Maddocks, S.E. Manuka honey inhibits siderophore production in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Appl. Microbiol.* 2013, 115, 86–90. [CrossRef] [PubMed]

Maddocks, S.E.; Jenkins, R.E.; Rowlands, R.S.; Purdy, K.J.; Cooper, R.A. Manuka honey inhibits adhesion and invasion of medically important wound bacteria in vitro. *Future Microbiol.* 2013, 8, 1523–1536. [CrossRef]

Roberts, A.E.; Maddocks, S.E.; Cooper, R.A. Manuka honey reduces the motility of *Pseudomonas aeruginosa* by suppression of flagella-associated genes. *J. Antimicrob. Chemother.* 2015, 70, 716–725. [CrossRef]

Mandal, M.D.; Mandal, S. Honey: Its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2011, 1, 154–160. [CrossRef]

Molan, P.C. Re-introducing honey in the management of wounds and ulcers—Theory and practice. *Ostomy Wound Manag.* 2002, 48, 28–40.

Grego, E.; Robino, P.; Tramuta, C.; Giusto, G.; Boi, M.; Colombo, R.; Serra, G.; Chiado-Cutin, S.; Gandini, M.; Nebbia, P. Evaluation of antimicrobial activity of Italian honey for wound healing application in veterinary medicine. *Schweiz Arch. Tierheilkd* 2016, 158, 521–527. [CrossRef]

Lusby, P.E.; Coombes, A.L.; Wilkinson, J.M. Bactericidal activity of different honeys against pathogenic bacteria. *Arch. Med. Res.* 2005, 36, 464–467. [CrossRef] [PubMed]

Sherlock, O.; Dolan, A.; Athman, R.; Power, A.; Gethin, G.; Cowman, S.; Humphreys, H. Comparison of the antimicrobial activity of Ulmo honey from Chile and Manuka honey against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Complementary Altern. Med.* 2010, 10, 47. [CrossRef] [PubMed]

Kus, P.M.; Szweda, P.; Jerkovic, I.; Tuberoso, C.I. Activity of Polish unifloral honeys against pathogenic bacteria and its correlation with colour, phenolic content, antioxidant capacity and other parameters. *Lett. Appl. Microbiol.* 2016, 62, 269–276. [CrossRef] [PubMed]

Majtan, J.; Bohova, J.; Prochazka, E.; Klaudivy, J. Methylglyoxal may affect hydrogen peroxide accumulation in manuka honey through the inhibition of glucose oxidase. *J. Med. Food* 2014, 17, 290–293. [CrossRef] [PubMed]

Sindi, A.; Chawn, M.V.B.; Hernandez, M.E.; Green, K.; Islam, M.K.; Locher, C.; Hammer, K. Antibiofilm effects and characterisation of the hydrogen peroxide activity of a range of Western Australian honeys compared to Manuka and multifloral honeys. *Sci. Rep.* 2019, 9, 17666. [CrossRef]

Molan, P.; Rhodes, T. Honey: A Biologic Wound Dressing. *Wounds* 2015, 27, 141–151.

Jeddar, A.; Kharsany, A.; Ramsaroop, U.G.; Bhamjee, A.; Haffejee, I.E.; Moosa, A. The antibacterial action of honey. An in vitro study. *S. Afr. Med. J.* 1985, 67, 257–258.

Albaridi, N.A. Antibacterial Potency of Honey. *Int. J. Microbiol.* 2019, 2019, 2464507. [CrossRef]

Abbas, H.A. Comparative Antibacterial and Antibiofilm Activities of Manuka Honey and Egyptian Clover Honey. *Asian J. Appl. Sci.* 2014, 2, 110–115.

Gambogou, B.; Khadimallah, H.; Bouacha, M.; Ameyapoh, Y.A. Antibacterial activity of various honey monofloral and polyfloral from different regions of Algeria against uropathogenic Gram-Negative Bacilli. *J. Apither.* 2018, 4, 1–8. [CrossRef]

Minden-Birkenmaier, B.A.; Bowlin, G.L. Honey-Based Templates in Wound Healing and Tissue Engineering. *Bioengineering* 2018, 5, 46. [CrossRef] [PubMed]

Rossiter, K.; Cooper, A.J.; Voegeli, D.; Lwaleed, B.A. Honey promotes angiogenic activity in the rat aortic ring assay. *J. Wound Care* 2010, 19, 440, 442–446. [CrossRef] [PubMed]

Aron, M.; Victoria Akinpelu, O.; Dorion, D.; Daniel, S. Otologic safety of manuka honey. *J. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2012, 41 (Suppl. S1), S21–S30.

Grecka, K.; Kus, P.M.; Worobo, R.W.; Szweda, P. Study of the Anti-Staphylococcal Potential of Honeys Produced in Northern Poland. *Molecules* 2018, 23, 260. [CrossRef] [PubMed]