

Hamowanie tworzenia biofilmów przy wykorzystaniu miodu Manuka

Rose Cooper, Leighton Jenkins, Rich Rowlands

Streszczenie

Cel: Zbadanie skuteczności miodu Activon® Manuka (Advancis Medical) w hamowaniu tworzenia biofilmów klinicznie istotnych bakterii Gram-dodatnich w warunkach *in vitro*. **Metody:** Biofilmy metycylinowrażliwego gronkowca złocistego (MSSA), metycylinoopornego gronkowca złocistego (MRSA) i wankomycynoopornych enterokoków (VRE) hodowano na płytkach mikrotitracyjnych przez określone okresy w obecności lub pod nieobecność miodu Activon w różnych stężeniach. Ilość biomasy biofilmu oznaczano poprzez barwienie fioletem krystalicznym. **Wyniki:** Stężenia miodu Activon przekraczające 10% (wag./obj.) zakłócały tworzenie biofilmów wszystkich badanych organizmów. Hamowanie powstawania biofilmów wskutek działania miodu Activon zależało od jego stężenia i czasu. **Wnioski:** Możliwe jest zapobieganie i hamowanie tworzenia biofilmów MSSA, MRSA i VRE *in vitro* z zastosowaniem miodu Activon w stężeniach nadających się do stosowania w praktyce klinicznej. Należy zbadać skuteczność miodu Activon w hamowaniu tworzenia biofilmów *in vivo*. **Oświadczenie w sprawie ewentualnych konfliktów interesów:** Badanie było sponsorowane przez firmę Advancis Medical, Nottingham, Wielka Brytania.

SŁOWA KLUCZOWE

Rany przewlekłe
Biofilmy
Miód manuka Activon®

Choć zjawisko tworzenia biofilmów było od dawna wiązane z uporczywymi zakażeniami (Potera, 1999), postulat występowania biofilmów w ranach wysunięto nieco później (Mertz, 2003). Obecnie, po ustaleniu związku między przewlekłymi ranami a powstawaniem biofilmów (James i wsp., 2008) oraz zaproponowaniu mechanizmu, zgodnie z którym biofilmy hamują proces gojenia ran (Bjarnsholt i wsp., 2008), zaistniała potrzeba znalezienia skutecznych metod leczenia hamujących rozwój biofilmów w ranach.

Rose Cooper jest profesorem mikrobiologii; Leighton Jenkins jest technikiem mikrobiologiem/demonstratorem; Rich Rowlands jest starszym technikiem mikrobiologiem w Centrum Nauk Biomedycznych Cardiff School of Health Sciences, University of Wales Institute, Cardiff (Szkocja),

Choć potencjalne inhibitory biofilmów obejmują chlorheksydyne, kadeksomer, czosnek, miód, jodynę, nadtlenuk wodoru, laktoferynę, poliheksanid, kompleks jod-powidon, srebro i ksylitol, ilość dostępnych danych laboratoryjnych jest dość ograniczona, a liczba dowodów

Obecnie, po ustaleniu związku między przewlekłymi ranami a powstawaniem biofilmów, zaistniała potrzeba znalezienia skutecznych metod leczenia hamujących rozwój biofilmów w ranach.

klinicznych niewielka (Cooper, 2010). Niniejsze badanie laboratoryjne zostało zaprojektowane w celu zbadania zdolności miodu manuka Activon® (Advancis Medical) do hamowania rozwoju biofilmów bakterii Gram-dodatnich posiadających znaczenie kliniczne w przypadku ran.

Metody Materiały badawcze

W całym badaniu używano miodu manuka Activon®. Ten wyjaławiany radiacyjnie miód jest zalecany w leczeniu ran częściowo i obejmujących całą grubość skóry, w tym ran z tkanką martwiczą, odleżyn, owrzodzeń na nogach,

ran chirurgicznych, oparzeń, miejsc wszczepiania przeszczepów skóry i ran wydzielających nieprzyjemny zapach. Organizmy testowe wykorzystywane w niniejszym badaniu wyizolowano z faktycznych sytuacji klinicznych - hodowlę metycylinoopornego gronkowca złocistego (MRSA) pobrano z przewlekłej rany pacjenta wyleczonego z użyciem miodu manuka (Natarajan i wsp., 2001); hodowlę penicylinoopornego, metycylinowrażliwego gronkowca złocistego (MSSA) pobrano z zakażonej rany, zaś hodowlę wankomycynoopornych enterokoków (VRE) pobrano z zanieczyszczonej powierzchni szpitalnej.

Bakterie MSSA i VRE zostały dostarczone przez Laboratorium Mikrobiologii Medycznej i Zdrowia Publicznego Walijskiego Szpitala Uniwersyteckiego przez śp. Alana Paull. Hodowle przechowywano do czasu użycia w temperaturze -80°C z zastosowaniem systemu Protect (Technical Service Consultants Ltd, Heywood, Wielka Brytania), powlekając zawieszynami bakteryjnymi barwne kulki umieszczone w dostarczonym roztworze do kriokonserwacji. Hodowle kultywowano przez noc w bulionie Tryptone Soya Broth (TSB) (Oxoid), a pomiędzy doświadczeniami utrzymywano na pożywce agarowej (Oxoid).

Tworzenie 24-godzinnych biofilmów

Metody hodowli i badań biofilmów zostały zaczerpnięte z pracy Christensena i wsp. (1985). Każdy organizm testowy hodowano przez noc w 10 ml TSB, a następnie rozcieńczano w stosunku 1:100 z użyciem jałowego TSB; podwielokrotności 200 μ l rozcieńczonej hodowli nanoszono do zagłębień płytek mikrotitracyjnych z 96 zagłębieniami o płaskim dnie (Nunc, Roskilde, Dania) i inkubowano w temperaturze 37°C przez 24 godziny bez wstrząsania, w celu umożliwienia powstania biofilmu (Rycina 1). Posiewy rozprowadzano na płytkach z pożywką (Oxoid, Cambridge, Wielka Brytania) w celu potwierdzenia czystości hodowli. Dokonano zliczania całkowitej liczby żywych kolonii (Miles i Misra, 1938) w celu potwierdzenia, że do każdego eksperymentu użyto posiewu tej samej wielkości (około 5×10^5 jtk/ml).

Ocena biofilmów

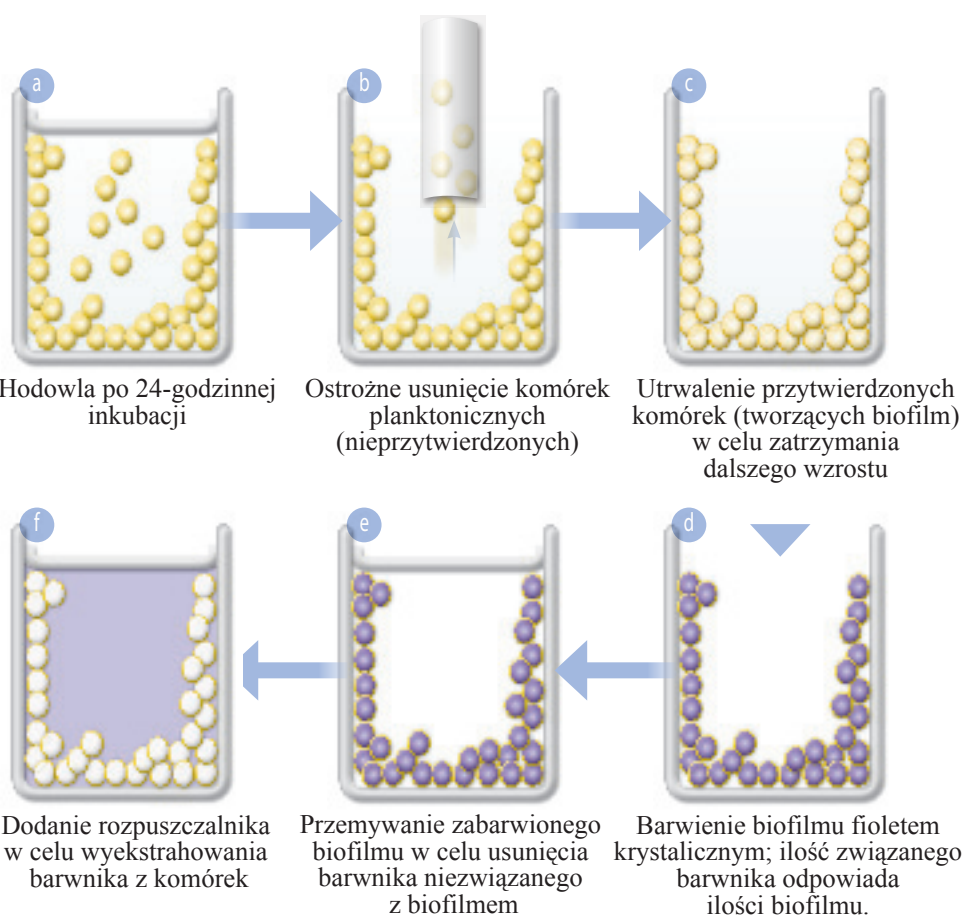
Stopień wzrostu biofilmu lub jego lub biomasę (Rycina 2a) oceniano delikatnie zdejmując i odrzucając komórki planktoniczne (faza ciekła) z każdego zagłębienia płytki mikrotitracyjnej (Rycina 2b) i utrwalając pozostały, przylegający do ścianek biofilm aldehydem glutarowym 2,5% (Fluka, Wielka Brytania) przez 5 minut, w celu zatrzymania dalszego wzrostu (Rycina 2c). Utrwalacz usuwano, a zagłębienia przemywano dwukrotnie roztworem soli fizjologicznej buforowanej fosforanami (PBS; Oxoid, Cambridge, Wielka Brytania) (nie uwzględniono na Rycinie 2). Następnie biofilm barwiono fioletem krystalicznym 0,25% przez 5 minut (Rycina 2d) i delikatnie przemywano osiem razy przy użyciu pipety wielokanałowej (Rycina 2e). Zabarwione płytki mikrotitracyjne suszono przez noc, barwnik z biofilmu przeprowadzano do roztworu przy użyciu 200 μ l mieszaniny aceton--etanol absolutny (1:1) (Rycina 2f), a 20 μ l powstałego w ten sposób roztworu dodawano do 180 μ l rozpuszczalnika umieszczonego w zagłębieniach drugiej, podobnej płytki mikrotitracyjnej. W celu dokonania oceny ilości biomasy biofilmu oznaczano absorbancję przy 570 nm z użyciem czytnika płytek mikrotitracyjnych Infinite M200 (Tecan, Szwajcaria) (ilustracja na Rycinie 3).



Czas 0: Wprowadzenie komórek bakteryjnych na pożywkę (TSB)

Po upływie 24 godzin komórki przywierające do ścianek stanowiły biofilm, zaś komórki nieprzywierające stanowiły frakcję planktoniczną.

Rycina 1. Tworzenie biofilmu.



Hodowla po 24-godzinnej inkubacji

Ostrożne usunięcie komórek planktonicznych (nieprzytwierdzonych)

Utrwalenie przytwierdzonych komórek (tworzących biofilm) w celu zatrzymania dalszego wzrostu

Dodanie rozpuszczalnika w celu wyekstrahowania barwnika z komórek

Przemywanie zabarwionego biofilmu w celu usunięcia barwnika niezwiązanego z biofilmem

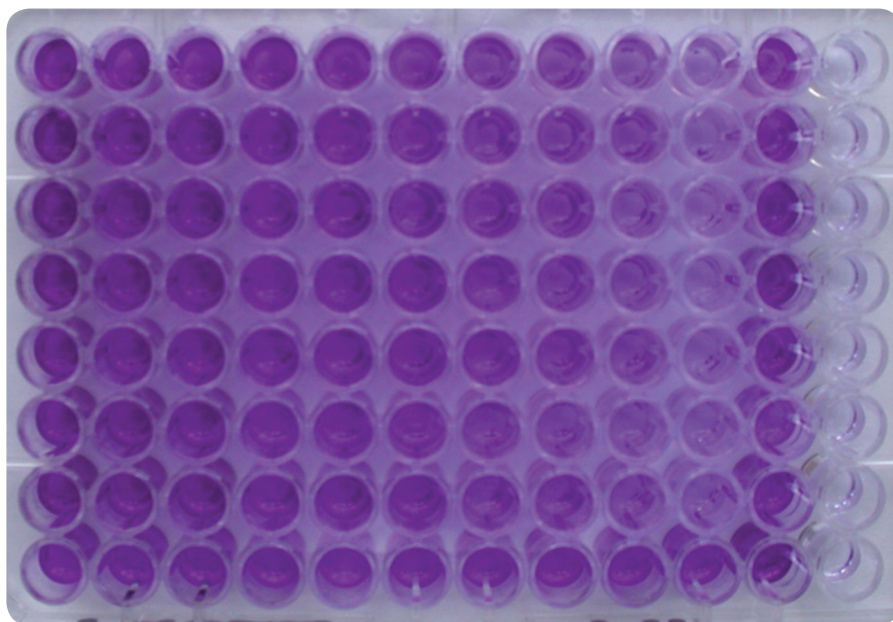
Barwienie biofilmu fioletem krystalicznym; ilość związanego barwnika odpowiada ilości biofilmu.

Rycina 2. Ocena biofilmów.

Hamowanie rozwoju biofilmu

Wpływ miodu manuka na rozwój biofilmu każdego z trzech organizmów testowych badano w trzech różnych eksperymentach. W celu stwierdzenia, czy miód Activon może zapobiegać tworzeniu biofilmu oraz ustalenia najniższego stężenia miodu mogącego zapobiegać powstawaniu biofilmu, przygotowano serię stężeń miodu Activon, różniących się o 1% (wag./obj.) w TSB. Uzyskane próbki zmieszano z rozcieńczonymi posiewami i inkubowano na płytkach mikrotitracyjnych przez 24 godziny

w temperaturze 37°C (Rycina 1). Użyto ostatecznych stężeń miodu Activon z zakresu od 1 do 20% (wag./obj.), a każde stężenie miodu badano w co najmniej siedmiu zagłębieniach każdej płytki mikrotitracyjnej. Równolegle, siedem zagłębien na każdej płytce mikrotitracyjnej nie zawierało miodu (próbka kontrolna dodatnia), zaś siedem zagłębien zawierało sam TSB, bez miodu i bez badanych bakterii (próbka kontrolna ujemna). Po inkubacji oznaczano wielkość biofilmu w każdym



Rycina 3. Płytkę mikrotitracyjną gotową do analizy w czytniku.

zagłębieniu (Rycina 2), i sporządzono wykres wartości średnich pomniejszych o wartości uzyskane dla próbki ujemnej w funkcji stężenia miodu (Ryciny 4, 5 i 6). Dla każdego mikroorganizmu testowego użyto oddzielnych płytek mikrotitracyjnych.

W celu zbadania wpływu miodu Activon na istniejące biofilmy pozwolono na wytworzenie 24-godzinnych biofilmów każdego z organizmów testowych w zagłębieniach oddzielnych płytek mikrotitracyjnych, zgodnie z opisem powyżej (Rycina 1). Następnie z każdego zagłębienia ostrożnie, bez naruszania komórek przytwierdzonych do ścianek, usunięto organizmy planktoniczne, a następnie dodano świeży TSB z dodatkiem miodu Activon Manuka w stężeniach od 0% do 50% (wag./obj.) i inkubowano przez 24 godziny. Ilość biofilmu w każdym zagłębieniu oznaczano w sposób opisany powyżej (Rycina 2) i nanoszono na wykres funkcji stężenia miodu (Ryciny 7, 8 i 9).

W celu zbadania wpływu czasu kontaktu z miodem Activon Manuka na utworzone biofilmy, biofilmy każdego z organizmów testowych utworzono w zagłębieniach oddzielnych mikropłytek (Rycina 1). Bakterie planktoniczne usuwano zgodnie z opisem powyżej. Do zagłębień jednej płytki mikrotitracyjnej każdego organizmu testowego dodano 200 μ l

czystego TSB. Płytkę oznaczono jako nietraktowaną. Do zagłębień drugiej płytki mikrotitracyjnej zawierającej te same bakterie dodano po 200 μ l TSB zawierającego 40% (wag./obj.) miodu Activon Manuka. Płytkę oznaczono jako traktowaną miodem. Rejestrowano godzinę, o której ponownie napełniano zagłębienia, po czym wszystkie płytki inkubowano w 37°C. W znanych odstępach czasowych (po upływie 1, 2, 3, 4, 5, 6 i 24 godzin) oznaczano ilość biofilmu w ośmiu zagłębieniach każdej płytki mikrotitracyjnej (Rycina 2) i sporządzano wykres tej ilości w funkcji czasu (Ryciny 10, 11 i 12). Doświadczenia prowadzono w dwóch powtórzeniach.

Wyniki - Zapobieganie tworzeniu biofilmu.

W opisywanym doświadczeniu zawiesiny bakterii testowych szczepiono na pożywkę bulionowej (TSB) zawierającej różne stężenia miodu Activon Manuka, po czym prowadzono inkubację w temperaturze 37°C przez okres 24 godzin w celu stwierdzenia, czy doszło do wytworzenia biofilmu. Stężenia powyżej 10% (wag./obj.) zapobiegały tworzeniu biofilmów w przypadku wszystkich badanych bakterii (Ryciny 4, 5 i 6). Zdolność miodu Activon Manuka do hamowania powstawania biofilmu zależała od jego stężenia; porównanie ilości biofilmu wytworzonego w zagłębieniach niezawierających miodu pokazało, że stężenia miodu niższe niż 4, 5

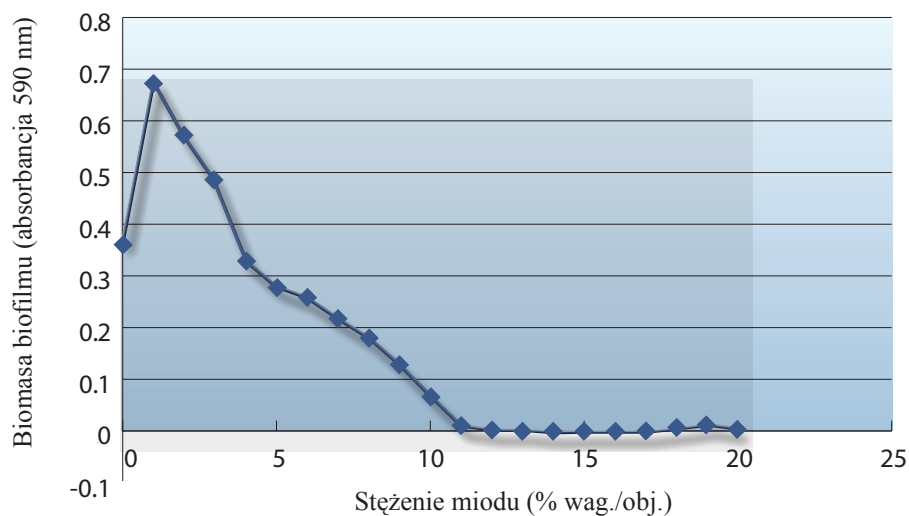
i 10% (wag./obj.) sprzyjały rozwojowi biofilmów, odpowiednio MSSA, MRSA i VRE.

Wpływ miodu na wytworzone biofilmy

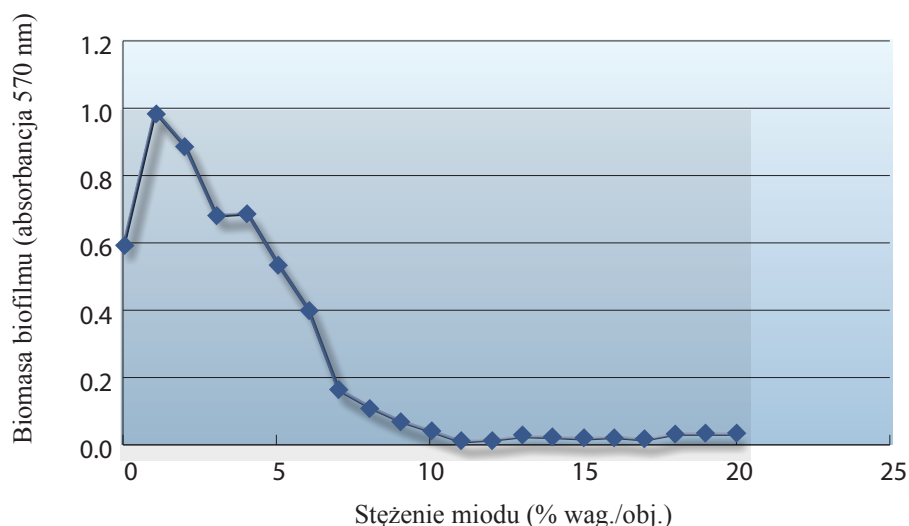
Również po wystawieniu wytworzonych w 24 godziny biofilmów na różne stężenia miodu Manuka Activon, biomasa biofilmu każdego z gatunków bakterii testowych ulegała znacznemu zmniejszeniu w wyniku 24-godzinnej interakcji z miodem w stężeniach wyższych niż 10% (wag./obj.), ale rosła w przypadku stężeń niższych niż 10% (wag./obj.) (Ryciny 7, 8 i 9). Zaobserwowano, że rozzerwanie istniejących biofilmów wymagało zastosowania wyższych stężeń miodu Activon Manuka, niż te wymagane do zatrzymania powstania biofilmu.

Wpływ czasu kontaktu na wytworzone biofilmy wystawione na hamujące stężenia miodu

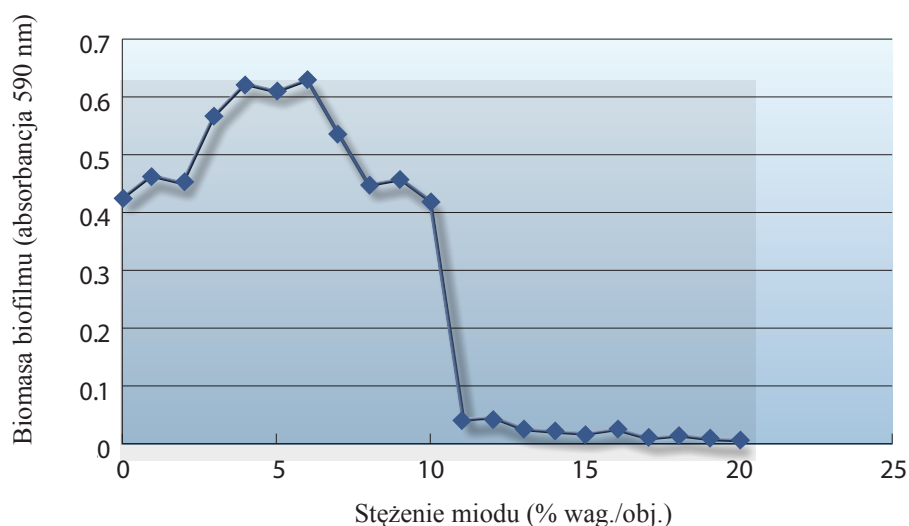
W celu monitorowania skuteczności miodu Activon Manuka w funkcji czasu, wytworzone w 24 godziny biofilmy inkubowano w obecności i pod nieobecność 40% (wag./obj.) miodu Activon Manuka przez różne okresy, po których oznaczano ilość biomasy. Stężenie 40% (wag./obj.) wybrano, ponieważ stwierdzono, że hamuje ono wytworzone wcześniej biofilmy każdego z organizmów testowych (Ryciny 7, 8 i 9). Ilość biomasy oznaczano po kontakcie z miodem Activon Manuka w stężeniu 40% (wag./obj.) przez 1, 2, 3, 4, 5, 6 i 24 godziny dla każdego organizmu wykorzystywanego w badaniu. Wykresy na Rycinach 10, 11 i 12 ilustrują biomasę biofilmu dla różnych czasów pobierania próbek. Dane z płytki zawierającej zagłębienia nietraktowane przedstawiono kolorem niebieskim, zaś biomasę biofilmu z płytki traktowanej miodem Activon Manuka w stężeniu 40% (wag./obj.) przedstawiono kolorem fioletowym. Po 24-godzinnej interakcji z miodem, ilość biofilmu wykrywana dla każdego organizmu testowego była znacznie zmniejszona w porównaniu z biofilmem nietraktowanym miodem i niższa, niż na początku doświadczenia. Stopień hamowania biofilmów VRE traktowanych miodem (Rycina 12) był wyższy, niż stopień hamowania traktowanych miodem biofilmów MSSA (Rycina 10) albo MRSA (Rycina 11). W pierwszych godzinach każdego doświadczenia odnotowywano pewien spadek ilości biofilmu nawet w zagłębieniach nietraktowanych miodem, co wynikało prawdopodobnie z usunięcia bakterii planktonicznych i dodania świeżego bulionu na początku okresu hamowania.



Rycina 4. Wpływ miodu Manuka Activon na zapobieganie tworzenia biofilmów MSSA.



Rycina 5. Wpływ miodu Manuka Activon na zapobieganie tworzenia biofilmów MRSA.



Rycina 6. Wpływ miodu Manuka Activon na zapobieganie tworzenia biofilmów VRE.

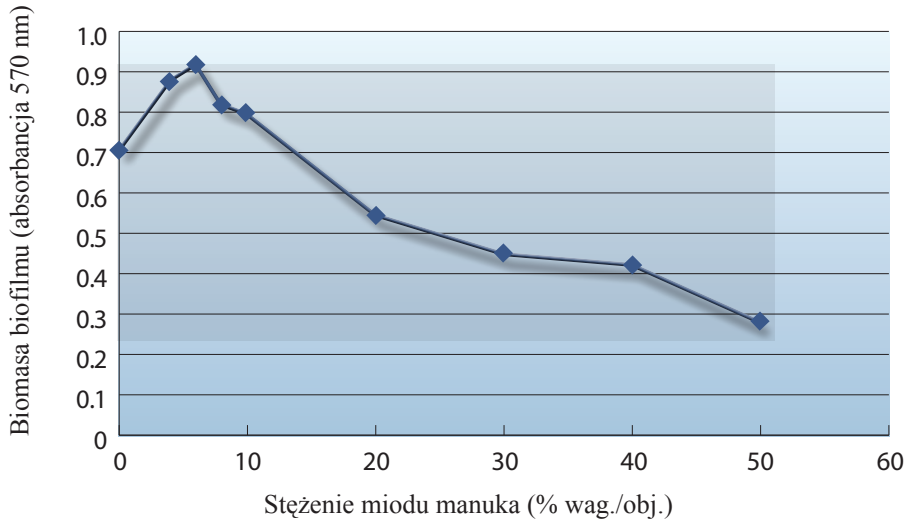
Omówienie wyników

Jak dotąd przeprowadzono cztery badania laboratoryjne, w których badano wpływ miodu na biofilmy (Merckoll i wsp., 2009; Alandejani i wsp., 2009; Okhiria i wsp., 2009; Lerrer i wsp., 2007).

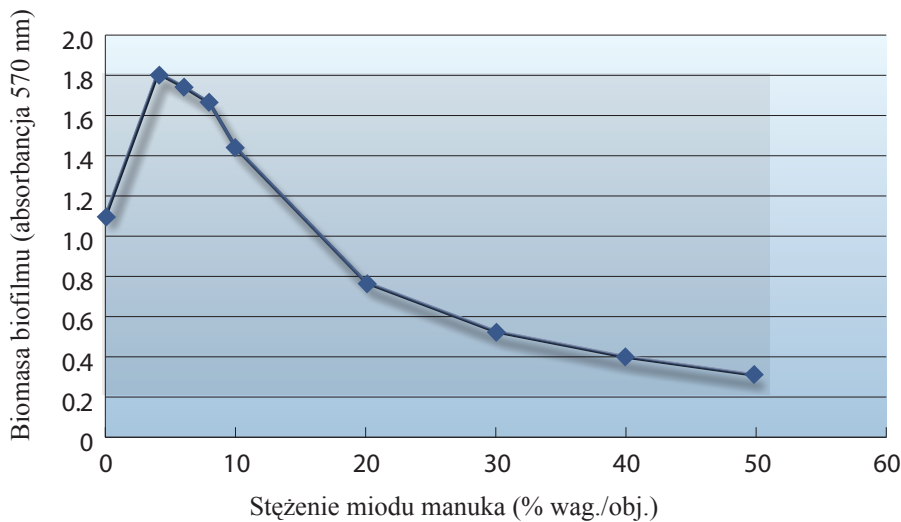
Wykazano, że norweski miód spadziowy i Medihoney™ zmniejszały szybkość wzrostu planktonicznych hodowli każdego z czterech gatunków bakterii (MRSA, metycylooporny gronkowiec naskórkowy, *Klebsiella pneumoniae* i *Pseudomonas aeruginosa*) w stopniu zależnym od stężenia, z zauważalnymi efektami już przy stężeniach 0,8% (obj.) (Merckoll i wsp., 2009). Stężenia wymagane do zahamowania każdego z organizmów testowych hodowanych jako organizmy planktoniczne okazały się być o połowę mniejsze, niż wartości wymagane do hamowania wytworzonych już biofilmów. Również tworzenie biofilmów MRSA było hamowane przez miód Medihoney i norweski miód spadziowy w stężeniach odpowiednio 3 i 6% (obj.) (Merckoll i wsp., 2009).

Stężenia miodu można wyrażać w procentach wagowo-objętościowych lub procentach objętościowych. W celu przeliczenia stężenia z % (obj.) na % (wag./obj.) należy znać gęstość każdej próbki miodu. Na przykład gęstość miodu manuka wynosi 1,37, w związku z czym 0,8% (obj.) odpowiada około 1,1% (wag./obj.).

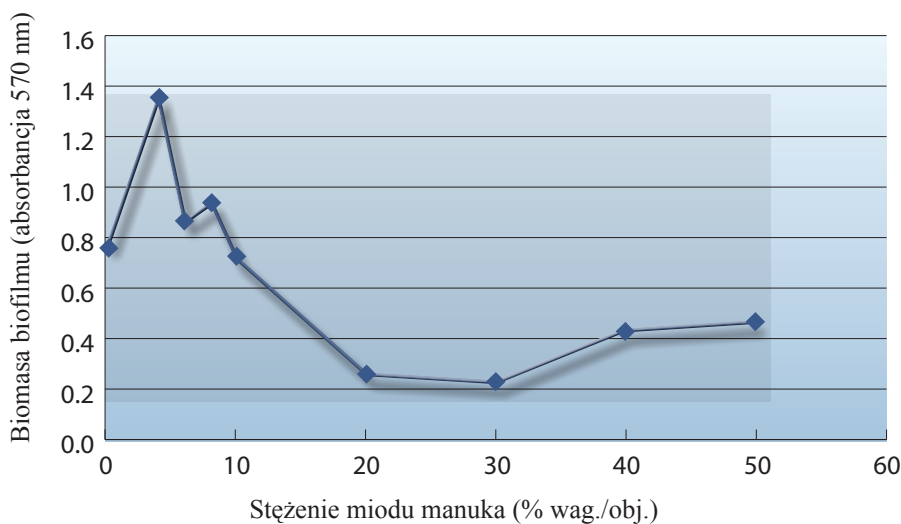
Skuteczność miodu w leczeniu przewlekłego zapalenia nosa i zatok badano testując w modelu biofilmu Calgary cztery próbki miodu z czterema klinicznymi izolatami pozyskanymi w szpitalu dziecięcym. Następnie do dalszych badań z wykorzystaniem MRSA, MSSA i *P. aeruginosa* (10 izolatów i jeden szczep referencyjny dla każdego gatunku), wybrano jedną próbkę miodu manuka i jedną próbkę miodu jemeńskiego. Podatność wytworzonych uprzednio biofilmów oznaczano przy użyciu roztworów miodu o stężeniu 50%. Nie wyjaśniono, czy chodziło o stężenia procentowe objętościowe, czy też wagowo-objętościowe. Wykazano, że miody są skuteczniejsze w hamowaniu wzrostu bakterii planktonicznych niż biofilmów, a porównanie z wynikami podobnego badania przeprowadzonego wcześniej w tym samym laboratorium wskazywało, że w przerywaniu biofilmów miód był skuteczniejszy od antybiotyków (Alandejani i wsp., 2009).



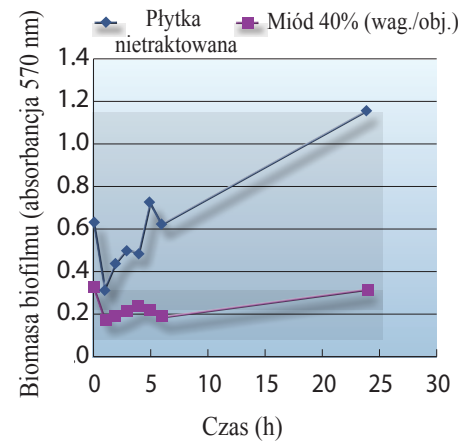
Rycina 7. Wpływ miodu Manuka Activon na wytworzony biofilm MSSA



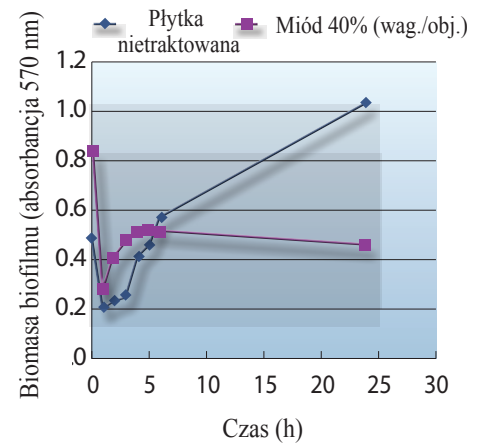
Rycina 8. Wpływ miodu Manuka Activon na wytworzony biofilm MRSA



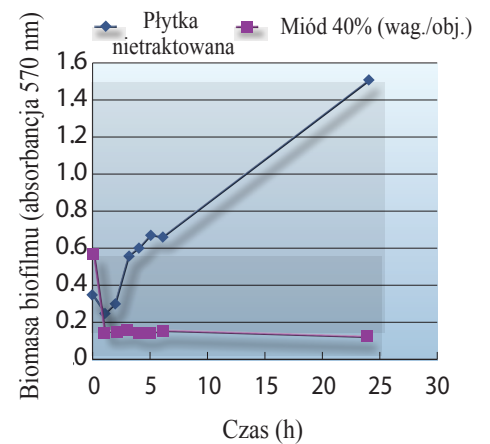
Rycina 9. Wpływ miodu Manuka Activon na wytworzony biofilm VRE



Rycina 10. Krzywa przebiegu biofilmu MSSA inkubowanego w obecności i pod nieobecność miodu Activon Manuka w stężeniu 40% (wag./obj.).



Rycina 11. Krzywa przebiegu biofilmu MRSA inkubowanego w obecności i pod nieobecność miodu Activon Manuka w stężeniu 40% (wag./obj.).



Rycina 12. Krzywa przebiegu biofilmu VRE inkubowanego w obecności i pod nieobecność miodu Activon Manuka w stężeniu 40% (wag./obj.).

Wykazano, że miód manuka hamował wytworzone uprzednio biofilmy sześciu klinicznych izolatów *P. aeruginosa* w sposób zależny od czasu kontaktu i stężenia, a kontakt z miodem manuka w stężeniu 40% (wag./obj.) przez czas 9-11 godzin okazał się być skutecznym schematem hamującym rozwój drobnoustrojów in vitro (Okhiria i wsp., 2009). Zaproponowano mechanizm wyjaśniający możliwy przebieg hamowania tworzenia biofilmu *P. aeruginosa* (Lerrer i wsp., 2007). Wykazano, że fruktoza zawarta w czterech próbkach miodu blokowała wiązanie zachodzące za pośrednictwem lektyny PA-III. Ponieważ lektyna PA-III jest adhezyną uczestniczącą w wiązaniu *P. aeruginosa* do fukozylowanych receptorów na powierzchni potencjalnych docelowych komórek gospodarzy, jest ona ważnym elementem procesu zapoczątkowywania zakażenia. Lektyna PA-III ułatwia również wiązanie komórek *P. aeruginosa* między sobą, przyczyniając się tym samym do zapoczątkowywania procesu tworzenia biofilmu.

Dane przedstawione w badaniu przez autorów potwierdzają dane uzyskane w innych badaniach. W ich świetle miód manuka nie tylko zapobiega powstawaniu biofilmu, ale również w sposób zależny od czasu i stężenia hamuje rozwój już wytworzonych biofilmów.

Podobnie, jak w przypadku biofilmów *P. aeruginosa* (Okhiria i wsp., 2009), miód Manuka Activon w stężeniach poniżej 10% promował wzrost wytworzonych już biofilmów MSSA, MRSA i VRE. Stężenia powyżej 10% okazały się hamować tworzenie biofilmów każdego z testowych organizmów, zaś 40-procentowy roztwór miodu hamował już wytworzone biofilmy przy czasie kontaktu wynoszącym 24 godziny. Ponieważ jest to mało prawdopodobne, aby miód Activon Manuka rozcieńczał się w ranie bardziej, niż dziesięciokrotnie, mało prawdopodobne jest również, aby powyższa obserwacja stanowiła problem w praktyce klinicznej. Podkreśla ona jednak potrzebę nanoszenia i utrzymywania odpowiedniego stężenia miodu manuka in vivo. Przed zastosowaniem miejscowym nie należy jednak rozcieńczać miodu.

Wyniki badań hodowli planktonicznych in vitro wskazują, że MSSA i MRSA są bardziej wrażliwe na miód manuka niż VRE (Cooper i wsp., 1999; Cooper i wsp., 2002), jednak w niniejszym badaniu nie wykazano znacznych różnic w zakresie wrażliwości wytworzonych biofilmów tych bakterii na miód manuka. Choć wykazano, że miód zakłóca wiązanie się między sobą komórek *P. aeruginosa*, mechanizm hamowania biofilmu przez miód w przypadku gronkowców i enterokoków jest nieznanym i wymaga dalszych badań.

Wykazano, że wrażliwość wytworzonych biofilmów na antybiotyki jest 500 razy mniejsza, niż w przypadku form planktonicznych (Stewart i Costerton, 2001), przez co eradykacja biofilmów u pacjentów staje się szczególnie trudna. W niniejszym badaniu stwierdzono, że trzy izolaty kliniczne wykazujące oporność antybiotykową były hamowane przez względnie niskie stężenia miodu Activon Manuka, zaś wrażliwość biofilmów na miód była mniej niż 10-krotnie różna od wrażliwości hodowli planktonicznych. Obecnie wskazane jest zbadanie skuteczności klinicznej miodu Activon Manuka w leczeniu ran z wytworzonym biofilmem.

Alandejani T, Marsan J, Ferris W, Slinger R, Chan F (2009) Effectiveness of honey on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Otolaryngology-Head Neck Surg* 139(1): 107-11

Bjarnsholt T, Kirketerp-Møller K, Jensen PØ, Madsen KG, Phipps R, Krogfelt K, Hoiby N, Givskov M (2008) Why chronic wounds fail to heal: a new hypothesis. *Wound Repair Regen* 16(1): 2-10

Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ, Baddour LM, Barrett FE, Melton DM, Beachey EH (1985) Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol* 22: 996-1006

Cooper RA (2010) Biofilms and wounds: much ado about nothing? *Wounds UK* 6(4): 84-90

Cooper RA, Molan PC, Harding KG (1999) Antibacterial activity of honey against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. *J Roy Soc Med* 2: 283-5

Cooper RA, Molan PC, Harding KG (2002) The sensitivity to honey of Gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds. *J Appl Microbiol* 93: 857-63

James GA, Swogger E, Wolcott R, Pulcini E, Secor P, Sestrich J, Costerton JW, Stewart PS (2008) Biofilms in chronic wounds. *Wound Repair Regen* 16(1): 37-44

Kwestie kluczowe

- ▶ Hamowanie biofilmów gronkowców i enterokoków przez miód Activon Manuka jest procesem zależnym od czasu i stężenia.
- ▶ Tworzenie biofilmów MSSA, MRSA i VRE było hamowane przez względnie niskie stężenia miodu Activon Manuka.
- ▶ Bakterie planktoniczne są bardziej wrażliwe na miód manuka niż biofilmy, jednak wrażliwość biofilmów MSSA, MRSA i VRE była mniej niż 10-krotnie różna od wrażliwości hodowli planktonicznych.
- ▶ Wymagane jest przeprowadzenie badań klinicznych oceniających potencjał miodu Activon Manuka w ograniczaniu zakażeń z wytworzeniem biofilmu.

Lerrer B, Zinger-Yosovitch KD, Avrahami B, Gilboa-Garber N (2007) Honey and royal jelly, like human milk, abrogate lectin-dependent infection-preceding *Pseudomonas aeruginosa* adhesion. *ISME J* 1: 149-55

Merckoll P, Jonassen TO, Vad ME, Jeansson SL, Melby KK (2009) Bacteria, biofilm and honey: A study of the effects of honey on "planktonic" and biofilm-embedded wound bacteria. *Scand J Infect Dis* 41(5): 341-7

Mertz P (2003) Cutaneous biofilms: friend or foe? *Wounds* 15(5): 129-32

Miles AA, Misra SS (1938) The estimation of the bactericidal power of the blood. *J Hyg (Lond)* 38(6): 732-49

Natarajan S, Williamson D, Grey J, Harding KG, Cooper RA (2001) Healing of an MRSA-colonized, hydroxyurea-induced leg ulcer with honey. *J Dermatol Treat* 12: 33-6

Okhiria O, Henriques AFM, Burton NE, Peters A, Cooper RA (2009) Honey modulates biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* in a time- and dose-dependent manner. *J ApiProduct ApiMedical Sci* (1): 6-10

Potera C (1999) Forging a link between biofilms and disease. *Science* 283: 1837-9

Stewart PS, Costerton JW (2001) Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* 358(9276): 135-8