

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



**Evidência científica para o uso do mel
farmacêutico no tratamento de feridas
crónicas**

Carlos Manuel Gonçalves Nunes

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2020

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



**Evidência científica para o uso do mel farmacêutico
no tratamento de feridas crónicas**

Carlos Manuel Gonçalves Nunes

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de
Farmácia**

Orientador: Professora Auxiliar, Doutora Lídia Maria Veloso Pinheiro

Co-Orientador: Professora Auxiliar, Doutora Célia Cardona Faustino

2020

Resumo

Ao longo da história, o mel tem tido um papel importante na vida e na saúde das comunidades, tanto como alimento como agente terapêutico. Os seus componentes atuam de modo sinérgico, conferindo-lhe potencial na atividade contra diversos microrganismos.

Nas últimas décadas, o interesse pela sua capacidade terapêutica no tratamento de feridas reconquistou interesse por parte dos investigadores. A resistência aos antimicrobianos tem sido uma crescente preocupação, sendo que uma das possíveis soluções para este flagelo reside em alternativas terapêuticas como o mel.

O mel farmacêutico permite combater a infeção, acelerar a cicatrização, reduzir o uso de antibióticos e economizar recursos, melhorando a qualidade de vida dos pacientes. O mel demonstra, entre outras, propriedades antimicrobianas, imunomoduladoras, anti-inflamatórias, cicatrizantes e desbridantes. O mel de manuka é, por exemplo, um mel com atividade não devida a peróxido de hidrogénio, sendo um dos mais estudados e utilizados no tratamento de feridas.

A elevada osmolaridade, alta concentração de açúcar, baixa acidez (pH entre 3,2 e 4,5), reduzida atividade da água (inferior a 0,60), elevada viscosidade e presença de compostos fenólicos concorrem para a atividade antibacteriana do mel, a qual, em alguns méis, também é devida ao teor em peróxido de hidrogénio. A atividade antibacteriana decorre igualmente do stress oxidativo associado à formação e acumulação de radicais hidroxílicos que inibem o crescimento bacteriano (dependente da concentração).

O material de penso com ação terapêutica nas feridas crónicas, classificado como dispositivo médico, pode ser dividido em vários grupos, consoante as suas características: hidrocolóides, alginatos, espumas, hidrogéis, antimicrobianos (onde se inserem os apósitos de mel), entre outros.

O mel farmacêutico pode ter diversas origens entomológicas, botânicas e geográficas, devendo cumprir rigorosos critérios de qualidade, segurança e uniformização. As formulações comercializadas devem ser otimizadas de forma a apresentar uma boa relação de eficácia/segurança.

Existe evidência científica dos benefícios do mel no tratamento de feridas crónicas, nomeadamente úlceras de pé diabético, úlceras venosas crónicas, úlceras cirúrgicas e úlceras de pressão. Tais benefícios são, em muitos casos, comparáveis aos tratamentos convencionais, em equivalência e superioridade, espelhados nos resultados clínicos obtidos.

Para que o mel farmacêutico se possa afirmar como agente terapêutico de primeira linha, mais estudos precisam de ser realizados, especialmente no que toca à melhor caracterização físico-química dos vários méis disponíveis, clarificação de alvos terapêuticos e mecanismos de ação do mel, assim como melhor uniformização e otimização das formulações comercializadas.

Palavras chave: Mel farmacêutico, feridas crônicas, MRSA, apósito, dispositivo médico

Abstract

Throughout history, honey has played an important role in the life and health of communities, both as food and as a therapeutic agent. Its components act synergistically, giving it potential in the activity against various microorganisms.

In the last decades, the interest for its therapeutic capacity in wound treatment has regained interest from researchers. Resistance to antimicrobials has been a growing concern, and one of the possible solutions to this scourge lies in therapeutic alternatives such as honey.

The pharmaceutical honey allows fighting the infection, accelerating healing, reducing the use of antibiotics and saving resources, improving the quality of life of patients. Honey demonstrates, among others, antimicrobial, immunomodulatory, anti-inflammatory, healing and debriding properties. Manuka honey is, for example, a honey with "non-peroxide activity", being one of the most studied and used in wound treatment.

The high osmolarity, high sugar concentration, low acidity (pH between 3.2 and 4.5), reduced water activity (less than 0.60), high viscosity and presence of phenolic compounds contribute to the antibacterial activity of honey, which in some honeys is also due to the content of hydrogen peroxide. The antibacterial activity also results from the oxidative stress associated with the formation and accumulation of hydroxyl radicals that inhibit bacterial growth (concentration-dependent).

Dressing materials with therapeutic action on chronic wounds, classified as a medical devices, can be divided into several groups, depending on its characteristics: hydrocolloids, alginates, foams, hydrogels, antimicrobials (where honey dressings are inserted), among others.

Pharmaceutical honey can have several entomological, botanical and geographic origins, and must meet strict criteria of quality, safety and uniformity. The commercialized formulations must be optimized in order to present a good relation of efficacy/safety.

There is scientific evidence of the benefits of honey in the treatment of chronic wounds, namely diabetic foot ulcers, chronic venous ulcers, surgical ulcers and pressure ulcers. Such benefits are, in many cases, comparable to conventional treatments, in equivalence and superiority, mirrored in the clinical results obtained.

For pharmaceutical honey to assert itself as a first-line therapeutic agent, more studies need to be conducted, especially regarding the best physicochemical characterization of the various

honeys available, clarification of therapeutic targets and mechanisms of action of honey, as well as better uniformization and optimization of marketed formulations.

Keywords: pharmaceutical honey, chronic wounds, MRSA, dressing, medical device

Agradecimentos

Um especial agradecimento à família, amigos, colegas e professores que me acompanharam neste longo percurso e que me ensinaram a nunca desistir.

Abreviaturas

EMA- Agência europeia do medicamento

GOX – Glucose oxidase

MBIC – Concentração inibitória mínima de biofilme

MIC – Concentração inibitória mínima

MEC – Matriz extracelular

MGO – Metilglioxal

MMP – Metaloproteinases da matriz

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina

NICE – *National Institute for Health and Care Excellence*

NO - Óxido nítrico

PDGF – Fator de crescimento derivado de plaquetas

TGF- β – Fator de crescimento transformador beta

TNF- α – Fator de necrose tumoral α

VAS – Escala visual analógica

Índice

1. Objetivos e métodos.....	11
2. O uso do mel na prática clínica.....	11
2.1. História do mel como agente terapêutico.....	11
2.2. O mel e a resistência aos antibióticos	12
3. A pele e a cicatrização de feridas	12
3.1. Classificação de feridas crônicas.....	13
3.2. Cicatrização de feridas crônicas	14
4. Elementos fisicoquímicos e biológicos do mel.....	18
4.1. Composição química	18
4.2. Componentes e propriedades antimicrobianas	21
5. Atividade antimicrobiana do mel.....	23
5.1. Atividade antibacteriana.	24
5.2. Atividade antifúngica.....	25
5.3. Atividade antiviral.....	26
5.4. Atividade antibiofilme	27
5.5. Mecanismos de ação.....	28
6. Mel de uso farmacêutico	30
6.1. Características e classificação	30
7. Utilização do mel no tratamento de feridas crônicas.....	33
7.1. Úlcera de pé diabético	33
7.2. Úlcera venosa crônica.....	35
7.3. Úlceras cirúrgicas e traumáticas.....	35
7.4. Úlceras de pressão	36
7.5. Outras feridas crônicas.....	37
7.6. Outros estudos.....	38
8. Discussão e Perspetivas futuras	39
9. Referências bibliográficas	40

Índice de figuras

Figura 1: Componentes e propriedades antimicrobianas do mel.21

Figura 2: Ação imunomoduladora do mel.29

Índice de tabelas

Tabela 1: Feridas crônicas e apósitos adequados.....17

Tabela 2: Méis farmacêuticos aprovados para uso clínico.....32

1. Objetivos e métodos

Esta monografia foi realizada com o objetivo de reunir a evidência científica existente no âmbito do uso do mel farmacêutico em feridas crônicas, tais como úlcera de pé diabético, úlcera venosa crônica, úlcera cirúrgica e úlcera de pressão. Foram descritas as diferentes feridas crônicas, as propriedades físico-químicas do mel, os diferentes méis farmacêuticos utilizados na prática clínica, assim como diferentes estudos que se propuseram demonstrar as bases científicas no que se refere aos benefícios do uso do mel.

Foram usados diferentes motores de busca e bases de dados como *Pubmed*, *Science Direct* e *Clinical trials.gov*, incidindo essencialmente em publicações de 2010 a 2020. Foram revistos 119 documentos, dos quais 92 foram referenciados nesta monografia.

2. O uso do mel na prática clínica

2.1. História do mel como agente terapêutico

O uso do mel pelo Homem remonta há 8000 anos, havendo relatos de que os antigos Egípcios, Assírios, Chineses, Gregos e Romanos recorriam ao mel no tratamento de feridas e de doenças gastrointestinais (1,2).

Segundo o sistema ayurvédico (um sistema da medicina tradicional Indiana, que considera o mel como um agente terapêutico), o mel apresenta benefícios na digestão, na tosse e mantém os dentes e gengivas saudáveis. Especialistas em Ayurveda recomendam o mel para patologias da pele (como queimaduras e feridas), dor cardíaca, palpitações, alterações pulmonares e anemia (2,3).

No antigo Egito, onde o mel era muito popular, o seu uso como pomada em feridas foi descoberto nos papiros de Smith (um texto Egípcio, editado entre 2600 a.C e 200 a.C.), onde este se mistura com gordura, mel e linho. As suas propriedades antibacterianas ajudavam a curar feridas infetadas, sendo aplicado como pomada (3).

Hipócrates defendia o uso de mel para a calvície, como contraceptivo, na cicatrização de feridas, como laxante, na tosse, dor de garganta, doenças da visão, como antisséptico tópico e na prevenção ou melhoria de cicatrizes (3).

Na medicina islâmica, o mel é considerado uma bebida saudável e como medicamento, sendo referido no Corão. Segundo os escritos religiosos, Maomé aconselhava o uso do mel para o tratamento de diarreia. Refira-se também que Avicena, um cientista e médico iraniano, há 1000 anos, recomendava o mel para tratamento da tuberculose (3).

2.2. O mel e a resistência aos antibióticos

Os agentes antimicrobianos são cruciais na redução do peso das doenças infecciosas na saúde humana. No entanto, o aumento da prevalência de micro-organismos resistentes aos antimicrobianos tornou-se uma ameaça à saúde pública. Todas as classes de antibióticos, incluindo os de último recurso, estão sujeitos a perda de eficácia no combate a infecções. Isto levou à necessidade de encontrar alternativas viáveis, o que trouxe de novo à luz as terapias tradicionais, nomeadamente produtos e medicamentos à base de plantas, entre os quais o mel (4,5,6).

Vários investigadores identificaram as propriedades antimicrobianas do mel, pela primeira vez, no fim do século XIX, mas com a generalização do uso de antibióticos no início do século XX, o interesse científico no mel, desvaneceu-se. Com o surgir de organismos resistentes como *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA), o mel ganhou de novo a atenção da ciência (4,7).

3. A pele e a cicatrização de feridas

A pele é o maior órgão do corpo e tem um papel de relevo na manutenção da homeostasia do organismo, protegendo-o de agressões mecânicas e infeções, desequilíbrios de fluidos e desregulação térmica. Quando sujeita a trauma agudo, como descamação mecânica ou queimaduras, a pele perde funcionalidade, aumentando a vulnerabilidade do organismo a infeções, desregulação térmica e perda de fluidos. Quando determinados fatores conduzem a uma cicatrização incorreta de feridas, é necessário intervir com cuidados médicos. Estes fatores podem estar relacionados com doenças crónicas como diabetes mellitus e doença vascular periférica (8,9,10).

3.1. Classificação de feridas crónicas

A maioria das feridas crónicas inclui-se num dos seguintes grupos: úlceras venosas, úlceras de pressão e úlceras diabéticas. Considera-se também um quarto pequeno grupo, úlcera arterial, relacionado com a isquemia arterial (11).

As úlceras venosas correspondem a mais de metade das feridas crónicas dos membros inferiores. Normalmente são patologias secundárias à hipertensão e congestão venosa devido a trombose venosa ou falência de válvulas venosas. O aumento da pressão nos vasos aumenta a sua permeabilidade, o que origina a passagem de macromoléculas e eritrócitos para o espaço perivascular, onde atuam como agentes quimiotáticos para a infiltração de leucócitos. A subsequente fibrose e edema impedem a difusão de oxigénio, fatores de crescimento e nutrientes para o tecido da ferida (11,12).

As úlceras arteriais são menos comuns que as venosas. São normalmente causadas por insuficiência arterial, provocada por arteriosclerose e, menos frequentemente, por tromboembolismo ou danos provocados por radiação. O estreitamento das artérias reduz a perfusão, o que resulta em isquemia e hipoxia (11).

As úlceras de pressão são comuns em pacientes com perda de percepção sensorial ou em pacientes inconscientes que não conseguem sentir nem responder à necessidade de reposicionamento periódico do corpo. A pressão constante, quando ultrapassa a pressão capilar dos tecidos, origina isquemia. Esta, em conjunto com lesões de isquemia-reperfusão, resulta em hipoxia e conseqüentemente necrose. A pele das proeminências ósseas (sacro, anca e maléolo) é particularmente suscetível de sofrer estas lesões (11).

A úlcera de pé diabético é uma das principais complicações sérias da diabetes. A diabetes causa alterações na cicatrização de feridas, afetando um ou mais mecanismos biológicos deste processo. As causas mais frequentes destas lesões são a hiperglicemia, inflamação crónica, disfunção da macro- e micro-circulação, hipoxia, neuropatia autonómica e sensorial e sinalização alterada de neuropéptidos (11,13,14).

A neuropatia periférica associada a diabetes, origina um enfraquecimento estrutural e perda de sensibilidade sensorial no pé, que aumenta o risco de ulceração devida a *stress* mecânico repetido, combinado com má perfusão sanguínea (13,14).

As alterações metabólicas relacionadas com a hiperglicemia interferem no processo de cicatrização. A acumulação sistêmica de produtos da glicação avançada induz stress oxidativo, altera o funcionamento das células inflamatórias na pele e aumenta a rigidez da matriz extracelular (MEC). Este tipo de úlcera tem elevada probabilidade de reulceração, amputação e morte (13,14).

3.2. Cicatrização de feridas crônicas

Para se entender os mecanismos envolvidos na cicatrização de feridas crônicas é necessário compreender o processo de cicatrização normal. Este processo consiste em quatro fases principais: hemostase, inflamação, proliferação e remodelação (9,15,16).

O primeiro estágio da cicatrização normal de uma ferida é a hemóstase e a formação de uma matriz extracelular provisória. Quando ocorre uma lesão no endotélio, componentes da matriz extracelular ligam-se e ativam plaquetas em circulação, que sofrem depois um processo de adesão e agregação na região do endotélio lesionado. O tecido danificado e a agregação de plaquetas ativam as vias de coagulação extrínseca e intrínseca respetivamente, estabilizando o coágulo de fibrina e plaquetas. Forma-se por fim uma matriz que serve de meio para migração e proliferação de outras células envolvidas na cicatrização (15).

O estágio seguinte é a inflamação, onde os macrófagos constituem a célula mais relevante. Trata-se de uma resposta imune inata, inespecífica que destrói e remove tecido danificado da ferida, assim como promove a limpeza de resíduos celulares, extracelulares e patogénicos. Esta fase dura cerca de duas semanas, até os leucócitos infiltrados regressarem ao número de pré-inflamação. No caso de existir um estímulo externo, a fase da inflamação pode persistir. As plaquetas e os leucócitos libertam citocinas que amplificam a resposta inflamatória, como interleucinas (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8), fatores de necrose tumoral (TNF- α), fatores de crescimento derivados de plaquetas (PDGF) e fatores de crescimento transformadores beta (TGF- β). Com este processo, as células produtoras de matriz extracelular constroem o novo tecido conjuntivo para a fase celular da inflamação e para a fase de proliferação (11,15,16).

Na fase seguinte, a da proliferação, a atividade celular predomina em resposta às quantidades elevadas de citocinas. A reconstrução do epitélio tem início com a proliferação e migração de células estaminais, epiteliais e queratinócitos para uma MEC rica em fibrina e

fibronectina. Com a diminuição da inflamação, a derme começa a ser reconstituída, e começa a síntese de tecido de granulação (9,15).

A fase final é a remodelação. Em resposta à tensão mecânica e às citocinas (como a TGF- β), os fibroblastos aumentam a expressão de actina do músculo liso α , transformando-se em miofibroblastos, que contraem e fecham a ferida. A remodelação ocorre quando os fibroblastos aumentam a expressão do colágeno tipo I (mais forte), e a decomposição das MMPs (metaloproteinases da matriz) desorganiza o colágeno antigo. Um equilíbrio entre a síntese e a lise de colágeno resulta numa cicatriz normal (9,15).

O tempo de cicatrização depende do tamanho, profundidade e localização da ferida, da idade do paciente e do facto de existir uma doença local ou sistémica. As feridas agudas cicatrizam de acordo com fases características e definidas, ao longo de um período previsível. As feridas crónicas não cicatrizam de acordo com as fases, nem no tempo característico de um processo normal, de forma que o tecido lesionado não restabelece a sua função ou a sua anatomia inicial. Tal pode acontecer por diversos fatores, entre os quais uma doença secundária, hipoxia da ferida, presença de biofilmes e aumento de mediadores inflamatórios (17,18).

Enquanto que na cicatrização normal intervêm citocinas, fatores de crescimento e proteases, nas feridas crónicas (úlceras de pé diabético, úlceras venosas e úlceras de pressão), a inflamação é prolongada, predomina a senescência de células, atividade atípica de citocinas e a persistência de infeções bacterianas. Os componentes extracelulares, fatores de crescimento e seus recetores, são danificados por elevadas concentrações de citocinas e proteases. O tecido de granulação é substituído por vasos envoltos em fibrina, existindo pouco crescimento de vasos e poucos miofibroblastos. Observa-se também infiltração de neutrófilos de fenótipos não comuns na cicatrização normal (15,17,18).

A nível molecular, os queratinócitos expressam um conjunto de genes responsáveis por parte da proliferação desproporcionada, nomeadamente as ciclinas, que estão associadas ao ciclo celular. Esta expressão ocorre em conjunto com a supressão de genes de *checkpoint* e do gene p53, causando a hiperproliferação epidérmica nos bordos da úlcera. Os fibroblastos apresentam senescência, pouca capacidade migratória e são pouco responsivos a fatores de crescimento, o que se reflete nos baixos níveis de recetores TGF-B e de outros componentes da cascata de sinalização (17,18).

Numa ferida crónica, a fagocitose e os processos antibacterianos estão diminuídos, o que causa acumulação de tecido necrótico na ferida. É, portanto, necessário realizar desbridamento da ferida para permitir a re-epitelização (18).

Uma ferida necessita de um ambiente favorável á cicatrização. Mais de 3000 tipos de produtos foram já desenvolvidos para tratar feridas, atuando em diferentes fases do processo. A seleção de um apósito deve ser baseada na sua capacidade de fornecer um ambiente húmido, estimular a migração de células epidérmicas, promover a angiogénese, estimular a formação de tecido conjuntivo, ser eficaz contra a proliferação bacteriana, entre outros (19,20).

Os apósitos tradicionais (gaze, discos de algodão e ligaduras) são os mais usados devido ao seu baixo custo e fácil fabrico, embora tenham pouca capacidade de manter a ferida húmida e sejam propensos a aderir ao tecido de granulação (20).

Os apósitos mais recentes permitem manter a hidratação da ferida e promover a cicatrização. Geralmente são baseados em polímeros sintéticos podendo ser classificados em passivos, interativos e bioativos. Os passivos têm efeito não oclusivo, enquanto que os interativos têm efeito semi-oclusivo ou oclusivo; os bioativos são produzidos com base em biomateriais que intervêm de forma ativa na cicatrização (por exemplo, através da libertação de exossomas que estimulam a angiogénese). Estes dispositivos médicos têm melhor biocompatibilidade, biodegradabilidade e capacidade de retenção de humidade, o que se traduz numa maior eficácia na redução da dor e na manutenção do ambiente anaeróbio no leito da ferida. Alguns exemplos incluem hidrogéis, hidrocolóides, alginatos, espumas e filmes (19,20).

Na tabela 1 apresentam-se alguns exemplos de dispositivos médicos considerados mais adequados para diferentes feridas crónicas.

Tabela 1: Feridas crónicas e apósitos adequados. Adaptado de (20)

Ferida	Descrição	Características	Apósito adequado
Úlcera de pé diabético	Causada por doença neuropática e doença vascular nos membros inferiores.	Falta de oxigenação e irrigação sanguínea; estagnação na fase inflamatória.	<ul style="list-style-type: none"> • Apósito de prata iónica, • Apósito de hidrofibra, • Apósito <i>UrgoStart Contact</i>, apósito Mepilex® Lite, • Apósito de ácido hialurónico, • Apósito não adesivo Biatain®
Úlcera de pressão	Causada por <i>stress</i> nos tecidos.	Ocorre nas proeminências dos ossos ou no local de pressão de um dispositivo médico; lesão da pele ou tecido subcutâneo.	<ul style="list-style-type: none"> • Apósitos de espuma, • Apósitos hidrocolóides, • Apósitos de espuma de silicone em multicamadas, • Filmes de poliuretano • Apósito de prata Mepilex®, • Apósitos de espuma de poliuretano
Úlcera venosa crónica	Causada por pressão sanguínea elevada nos membros inferiores.	Tecido necrótico, infeção e exsudado no leito da ferida.	<ul style="list-style-type: none"> • Apósito de alginato, • apósito de prata AQUACEL®, • Apósitos de prata Urgotul®, ALLEVYN® • Apósito de espuma hidrocélular, • Apósito de espuma Mepilex®.

Nas feridas crônicas, é adequado o uso de apósitos antimicrobianos, dado que é comum existência de infecções bacterianas que comprometem a cicatrização total. Produtos como Actiform Cool[®], Acticoat[®], Iodoflex[®], assim como apósitos impregnados em mel são alguns exemplos desta classe (21).

Os apósitos de mel farmacêutico, podem apresentar-se sob a forma de: gel com diferentes percentagens de mel, penso (com e sem rebordo) ou pasta, podendo estar presente em associação com outros compostos. O mel tem de ser filtrado e tratado com radiações gama para ser comercializado. O seu mecanismo de ação é essencialmente antimicrobiano devido às suas propriedades físicoquímicas, tais como a elevada osmolaridade, atividade enzimática e componentes fitoquímicos (22).

4. Elementos físicoquímicos e biológicos do mel

4.1. Composição química

O mel tem a sua origem no néctar recolhido de plantas pelas abelhas do mel (*Apis mellifera*) que é então misturado com as substâncias por elas produzidas, armazenado e amadurecido nas colmeias. Existem cerca de 320 variedades de mel, provenientes de diversas fontes botânicas (6,23,24,25).

A composição química do mel é afetada por fatores como a composição do néctar da planta de origem, a espécie de abelha que extraiu o néctar, o clima, condições ambientais e sazonais, as práticas agrícolas e o processo de tratamento do mel no que toca à recolha e armazenamento (6,25).

A composição química, as propriedades físicas e a bioatividade específica de cada tipo de mel dependem da origem floral, da origem entomológica do inseto, do processo de colheita, e das condições e tempo de armazenamento, que em conjunto têm impacto nas características físico-químicas do mel (6).

De acordo com a sua proveniência, o mel pode ser classificado em dois tipos: (i) mel de néctar ou mel de flores (obtido a partir do néctar das plantas) e (ii) mel de melada (obtido principalmente a partir de secreções de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos que sugam as plantas que ficam sobre as partes vivas das plantas) (25,26).

Quanto à sua origem botânica, pode também ser classificado como monofloral (unifloral), que tem origem apenas numa espécie de planta (e por conseguinte, com pólen exclusivo de um tipo floral), sendo o nome do mel a espécie a que esta pertence, ou multifloral (polifloral), com grãos de pólen de várias espécies florais, sendo que nenhuma é predominante. Nesta última categoria temos como exemplo o mel de flor de prado e o mel da floresta (27).

Os monossacáridos representam cerca de 80-95% dos açúcares do mel, sendo que os principais são a frutose e a glucose (principais responsáveis pelas propriedades nutricionais e físicas do mel). Para além desses, pelo menos 25 oligossacáridos diferentes foram descobertos, sendo que os principais são os dissacáridos sacarose, maltose, trealose e turanose (representando cerca de 10 a 15% dos açúcares presentes). Em menor quantidade podemos encontrar os trissacáridos melezitose, maltotriose, isomaltose, entre outros. Muitos destes açúcares formam-se durante a maturação do mel. O mel de melada, em comparação com o mel de néctar, tem maior quantidade dos oligossacáridos melezitose e rafinose (1,25,28,29).

Os açúcares do mel são responsáveis por propriedades como: valor energético, viscosidade, higroscopicidade e granulação. A concentração de frutose e glucose, assim como o rácio entre estes dois açúcares são indicadores da classificação dos méis monoflorais. Em quase todos os méis, a frutose é predominante, exceto, por exemplo, no mel de *Brassica napus* (25,29).

De uma forma geral, o mel contém cerca de 0,5% de proteínas que correspondem principalmente a enzimas e aminoácidos livres. Todos os 9 aminoácidos essenciais e todos os não essenciais (exceto asparagina e glutamina) estão presentes no mel, sendo a prolina o mais importante. O conteúdo proteico é variável consoante a espécie de abelha. O mel de *Apis cerana* contém 0,1 a 3,3% de proteína, enquanto que mel de *Apis mellifera* contém entre 0,2 e 1,6%. Esta composição depende tanto do néctar das plantas como das secreções das abelhas, embora a principal fonte seja o pólen. A prolina provém maioritariamente de secreções salivares da abelha do mel (*Apis mellifera*) (25,29,30).

As principais enzimas do mel são a amilase (que decompõe o glicogénio e o amido em pequenas moléculas de açúcares), a invertase (que fragmenta a sacarose em glucose e frutose), a D-glucose oxidase (que produz peróxido de hidrogénio e ácido glucónico a partir da glucose), a catalase e a fosfatase ácida (1,28).

A acidez do mel deve-se á presença de ácidos orgânicos, como como o ácido fórmico, acético, cítrico, láctico, maleico, piroglutâmico, glucónico e succínico. Estes têm origem em açúcares metabolizados por enzimas secretadas pelas abelhas na transformação do néctar em mel, ou obtidos diretamente do mesmo. Embora o ácido glucónico (com origem na oxidação da glucose pela glucose oxidase) seja predominante, não contribui para a acidez do mel. Tanto este ácido como o ácido cítrico servem como parâmetros diferenciadores entre mel de melada e mel de néctar. Os ácidos levulínico e fórmico estão envolvidos em reações que aumentam a acidez do mel. Durante o armazenamento do mel é necessário ter em conta a fermentação do açúcar que liberta ácidos orgânicos voláteis, alterando a qualidade do produto (29,32).

O mel contém pequenas quantidades de vitaminas, especialmente as vitaminas do complexo B (que provém dos grãos de pólen em suspensão), podendo ainda encontrar-se as vitaminas A, C e D (29,30)

Cerca de 31 minerais podem ser encontrados no mel, entre os quais sódio, potássio, ferro, cálcio, cobre, enxofre, fósforo, magnésio, manganésio e zinco. O conteúdo mineral no mel varia entre 0,04% e 0,2% (em méis mais claros e em méis mais escuros, respetivamente) (1,6,30).

Os compostos fenólicos - ácidos fenólicos, flavonóides e polifenóis - representam um grupo relevante de compostos no que se refere às propriedades físico-químicas e funcionais do mel, destacando-se o mel de urze como o que possui maior quantidade destas substâncias. No que diz respeito aos ácidos fenólicos, os ácidos gálico e *p*-cumárico têm sido apontados como os mais significativos. Quanto aos flavonóides, incluem-se aqui as flavanonas e flavonas, como a miricetina, quercetina, luteolina, tricetina, caempferol, crisina, pinocembrina, galangina, entre outros (25,30,31).

No mel ainda se podem encontrar quantidades residuais de metais tóxicos (arsénio, mercúrio e cádmio, por exemplo), antibióticos e pesticidas, cuja presença contribui para alterar a sua qualidade. Refira-se também o facto de que algumas plantas podem produzir substâncias tóxicas como as graianotoxinas (do grupo dos diterpenóides) e alcalóides pirrazolidínicos. Também é possível encontrar 5-hidroximetilfurfural (HMF), um composto tóxico presente naturalmente no mel (33,34).

4.2. Componentes e propriedades antimicrobianas

A inibição do crescimento bacteriano pelo mel encontra-se relacionada com a sua composição química e propriedades físico-químicas exibidas. De facto, o alto teor de açúcar, a presença de compostos fenólicos, peróxido de hidrogénio, fatores não-peróxido, elevada osmolaridade, baixa atividade da água (inferior a 0,60), acidez e elevada viscosidade estão na base da atividade antimicrobiana do mel (figura1) (6,25,35).

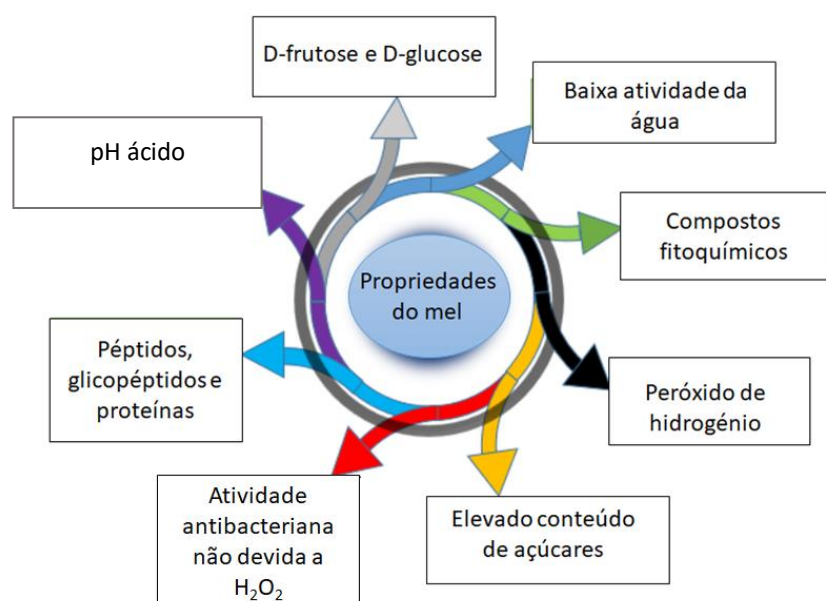


Figura 1: Componentes e propriedades antimicrobianas do mel. Adaptado de (35).

Para a maioria dos méis, o peróxido de hidrogénio parece ser o principal agente desta atividade, sendo produzido pela glucose oxidase (GOX) proveniente das glândulas hipofaríngeas das abelhas e degradado pela catalase (25,31).

O teor de peróxido de hidrogénio depende dos níveis de GOX, e encontra-se mais elevado nos méis mais diluídos (30%-50%, v/v). A diluição do mel facilita, assim, o acesso da enzima GOX ao substrato de glucose, evitando a acidificação do meio responsável pela inibição da enzima. A constante produção de peróxido no mel diluído conduz a um efeito antisséptico prolongado crucial nas infeções. O teor em H₂O₂ pode ser diminuído na presença excessiva de

calor e luz (que inativam a GOX), e também devido à sua destruição pela catalase no néctar e no pólen ou devido à auto-oxidação promovida por polifenóis ou por flavonóides (25,31,35).

Na maioria dos méis, tem sido evidenciada uma correlação significativa entre a atividade antimicrobiana e o teor em H₂O₂, apesar dos valores do peróxido de hidrogénio (entre 0,4 e 2,6 mmol/L) serem muito inferiores aos níveis biocidas (cerca de 800 mmol/L referente a uma solução de 3% de H₂O₂ usada normalmente como agente antisséptico). Uma das explicações sugeridas é a de que os radicais hidroxilo, formados a partir do H₂O₂ através da reação de Fenton, sejam as principais espécies citotóxicas subjacentes à atividade bacteriana do mel (6,31,36)

A elevada osmolaridade do mel é essencial na inibição do crescimento e proliferação bacteriana. Permitindo ao mel captar fluido linfático do tecido subcutâneo para a superfície da ferida e potenciando a remoção dos tecidos mortos e desvitalizados. O mel, sendo um fluido viscoso, forma uma barreira protetora que previne a infeção de feridas. As soluções com estas propriedades, como mel, glucose e pastas de açúcar, capturam as moléculas de água livre. Quando aplicado em feridas, estas soluções impedem o acesso das bactérias a essas moléculas de água, causando a sua desidratação e inibindo o seu crescimento. No entanto, estudos realizados em pacientes com feridas não cicatrizadas demonstraram que o mel é mais eficaz que o açúcar na inibição de crescimento bacteriano e na promoção da cicatrização, o que comprova a existência de uma combinação de diferentes fatores na sua ação, em adição à elevada osmolaridade (4,18,25,31,37).

O mel tem um pH ácido entre 3,2 e 4,5 devido á formação de ácido glucónico. Os valores mínimos de pH para o crescimento de algumas espécies patogénicas comuns são: 4,3 para *E. coli*, 4,0 para *Salmonella spp*, 4,4 para *P. aeruginosa* e 4,5 para *S. pyogenes*. Por este motivo, a acidez do mel é um importante fator antimicrobiano (32).

No processo de diluição do mel, a glucose oxidase catalisa o metabolismo do açúcar em ácido glucónico e peróxido de hidrogénio, sendo o primeiro responsável pela acidez do mel. O ambiente ácido que se origina, desfavorece o crescimento microbiano. A maioria dos microorganismos prefere ambientes neutros ou ligeiramente alcalinos para crescer. O pH ótimo para atividade de protease é de 7.3, sendo que esta pode destruir os fatores de crescimento, a matriz de colagénio e fibronectina recém-formada em feridas, essencial para a atividade de fibroblastos e para a reepitelização, levando a reações inflamatórias adicionais (31).

A acidez do mel reduz a atividade da protease, aumenta a atividade dos fibroblastos aumenta a libertação de oxigénio da hemoglobina nos capilares e proporciona a redução do tamanho das feridas, promovendo a cicatrização. Em complementaridade, a acidez ajuda na ação antibacteriana dos macrófagos e previne que o amoníaco produzido pelas bactérias afete os tecidos (31).

Em alguns méis, como o mel de manuka, a inibição do crescimento bacteriano manifesta-se mesmo após a remoção da H_2O_2 decorrente da adição da catalase. No caso do mel de manuka, os elevados níveis de metilglioxal (MGO) encontram-se correlacionados com a sua atividade bacteriana não-peróxida (3)(5). No mel de manuka, o MGO (que chega a atingir valores de 828 mg/kg) decorre da conversão não enzimática da dihidroxiacetona, a qual se encontra presente no néctar das flores de *L.scoparium* (31,6).

O MGO atua a nível bacteriano, danificando ou inibindo a formação de fimbrias e flagelos nas bactérias, o que confirma estudos que demonstraram que o mel de manuka inibe a expressão de genes associados aos flagelos (32).

O MGO contribui para a atividade antibacteriana do mel numa concentração mínima inibitória de 1,11 mM quando testada contra *E. coli* e *S. aureus*. Refira-se que uma atividade equivalente é atingida em mel diluído a 15-30% (24).

Os compostos que influenciam a atividade antimicrobiana não baseada no H_2O_2 foram encontrados em outros méis, para além do de manuka, tais como os méis de kanuka, urze e lavanda. Um exemplo é o péptido defensiva-1 identificado na hemolinfa, cabeça e glândulas torácicas das abelhas, e curiosamente ausente no mel de manuka (6,28). Este péptido, que entra no mel através da saliva da abelha, durante a etapa de regurgitação na produção de mel, exhibe uma significativa atividade inibitória contra bactérias gram positivas como *B. subtilis*, *S. aureus* e *P. larvae*, participando igualmente na atividade antibiofilme do mel (25,6).

Outros compostos de atividade não-peróxida que contribuem para a atividade antimicrobiana do mel, são os compostos fenólicos com propriedades antioxidantes provenientes do néctar, nomeadamente flavonóides e ácidos fenólicos (4,7,38).

5. Atividade antimicrobiana do mel

5.1. Atividade antibacteriana.

O mel é efetivo contra mais de 70 estirpes de bactérias, sendo por isso considerado um antimicrobiano de largo espectro. Fatores como o tipo de mel e as origens botânica e geográfica influenciam a sua potência antimicrobiana, assim como diferentes micro-organismos têm diferentes suscetibilidades a diferentes tipos e concentrações de méis. A determinação das concentrações inibitórias mínimas é um dos métodos que permitem obter conclusões sobre a eficácia dos diferentes méis sobre um largo espectro de estirpes (6,24,39).

Entre as bactérias mais encontradas em feridas infetadas podemos encontrar: *S aureus*, *Staphylococcus* coagulase negativos, algumas espécies de *Streptococcus* e de *Enterococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, entre outras (39).

Um estudo de Pimentel et al (40), demonstrou que o mel de *Melipona compressipes manaosensis* tem atividade contra *E. coli*, *S. aureus*, *Proteus vulgaris*, e *Klebsiella* em determinadas condições de colheita e quando não diluído.

Carnwath et al (41) procuraram determinar a atividade de 10 méis (entre os quais mel de manuka de uso farmacêutico e mel de urze escocês) contra 10 espécies de micro-organismos (entre os quais *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*). Todos os méis mostraram atividade antibacteriana, embora o mel escocês de urze tenha sido o mais potente, inibindo todos os micro-organismos em estudo com MICs entre <2 e 6%.

Outro estudo de Sherlok et al (42) testou a atividade antibacteriana de mel de ulmeiro (*Eucryphia cordifolia*) contra diferentes espécies de bactérias e comparou a mesma com a do mel de manuka. O mel de ulmeiro mostrou maior atividade contra as diferentes espécies de MRSA testadas, embora tenham sido observadas atividades semelhantes contra *E. coli* e *P. aeruginosa* (MICs equivalentes de 12,5% (v/v) para ambos).

Um estudo de Basson e Gobler (43) procurou testar a potência antibacteriana de espécies indígenas de África do Sul contra *S. aureus*. Observou-se que estas não demonstraram atividade antimicrobiana relevante, sendo necessárias concentrações acima de 25% (atividade bactericida obtida apenas pela elevada osmolaridade e elevada concentração de açúcares)

Tan et al (44) procuraram comparar a atividade antibacteriana do mel de Tualang com a do mel de manuka contra 13 micro-organismos encontrados em feridas e no trato gastro intestinal. O

mel de manuka foi utilizado como controlo e diferentes concentrações de mel foram testadas contra todos os micro-organismos em estudo de forma a averiguar as MICs dos méis contra cada espécie. As leituras espectrofotométricas com respeito a pelo menos 95% de inibição corresponderam a valores de MIC entre 10 e 25% para ambos os méis. Na inspeção visual, o mel de manuka obteve MICs no intervalo 8,75-20%, contra 8,75%-25% observados no mel de manuka. Concluiu-se que o mel de Tualang mostrou atividade antibacteriana contra diferentes micro-organismos, com resultados equivalentes ao mel de manuka.

Schneider et al (45) procuraram concluir sobre a atividade do mel escocês de Portobello e de mel de manuka (em concentrações de 0%, 1%, 10%, 50%, e 70%) contra *S. aureus*, *P. aeruginosa*, e *E. Coli* (bactérias normalmente presentes em feridas). Ambos os méis inibiram a maioria das três espécies testadas em concentrações de 75% e de 50%. No entanto, a 10%, o mel de Portobello apresenta significativamente menor atividade em comparação com o mel de manuka.

Muller et al (46) concluíram que uma combinação sinérgica de mel farmacêutico com rifampicina foi capaz de reduzir o aparecimento de *S. aureus* resistentes à rifampicina *in vitro*, embora tal ação não se tenha devido exclusivamente à presença de MGO no mel.

5.2. Atividade antifúngica

O mel tem atividade contra um espectro alargado de espécies de fungos, entre as quais: *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium chrysogenum*, *Microsporium gypseum*, *Candida albicans*, *Saccharomyces* e *Malassezia* (6,47).

A atividade antifúngica do mel pode ser explicada pela presença de peróxido de hidrogénio, flavonóides, MGO e pela sua elevada osmolaridade (6,47).

Um estudo de Irish et al (48) sobre a atividade antifúngica de vários tipos de mel (Medihoney[®], Comvita[®], mel não processado com atividade não peróxido e um mel artificial) contra *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. dubliniensis*, determinou que o mel com atividade não baseada em peróxido de hidrogénio obteve os melhores resultados entre 15 e 30% (m/v). O mel de Jarrah foi mais ativo contra as três espécies de *Candida* testadas. Observou-se também que os méis florais demonstraram maior atividade antifúngica contra *C. albicans* e *C. glabrata* em comparação com o mel artificial, assim como *C. dubliniensis* foi o micro-organismo mais sensível ao efeito osmótico dos méis em estudo.

Féas et al (49) procuraram determinar os fatores que mais contribuem para a atividade antimicrobiana do mel unifloral de espécies portuguesas de *Erica sp.* contra *C. famata*, *C. albicans*, *C. krusei* and *C. neoformans* (na presença e ausência de catalase). As espécies de *Candida* demonstraram o maior MIC ($23,33 \pm 10,31$ e $22,38 \pm 9,14$ para *C. albicans* e *C. famata* respetivamente), provando ser os mais resistentes ao mel. A espécie que se mostrou mais sensível foi a *C. krusei*, com uma MIC de $14,33 \pm 5,68$.

5.3. Atividade antiviral

A atividade antiviral do mel pode ser explicada pela presença de cobre, ácido ascórbico, flavonoides e H_2O_2 , que inativam os vírus e levam à inibição do crescimento viral interrompendo as vias de transcrição e tradução (47).

A ameaça que os vírus *Influenza* representam para a saúde humana, levou á necessidade de desenvolvimento de novos fármacos antivirais (6,50). Um estudo de Watanabe et al (51) procurou avaliar a atividade antiviral de vários méis contra vírus *Influenza*. Foram utilizadas células MDCK para avaliar as diferentes amostras de mel, tendo sido utilizados ensaios de inibição de placa para averiguar os possíveis mecanismos de ação antivirais presentes. Procurou-se demonstrar a possível existência de efeitos sinérgicos da combinação do mel com antivirais conhecidos como o zanamivir ou o oseltamivir. Como resultados, observou-se que o mel de manuka inibiu de forma efetiva a replicação de vírus *Influenza* ($IC_{50} = 3,6 \pm 1,2$ mg/mL; $CC_{50} = 82,3 \pm 2,2$ mg/mL). Concluiu-se também que as IC_{50} do zanamivir e do oseltamivir foram reduzidas significativamente (1/1000) quando se compara com a sua utilização em monoterapia.

Awad e Amad (52) estudaram a eficácia do efeito combinado entre mel uma suspensão de aciclovir, em comparação com o aciclovir em monoterapia, no tratamento de *Herpes simplex gingivostomatitis* em crianças. Este ensaio clínico aleatório compreendeu uma amostra de 100 crianças entre os 2 e os 8 anos de idade. Os parâmetros avaliados foram: gravidade das lesões, febre, capacidade de alimentação e grau de dor. Tal avaliação foi efetuada comparando os dois grupos 3,5 e 7 dias após o início do tratamento. Os resultados mostraram a superioridade da terapia combinada em vários parâmetros, como o desaparecimento das lesões (mediana de 3 dias contra 6 dias no grupo controlo), na sialorreia (2 dias contra 4 dias) e nas dificuldades de alimentação (3 dias contra 8 dias)

Um estudo de Hashemipour et al (50) comparou os efeitos antivirais do mel, geleia real e aciclovir, contra o vírus *Herpes simplex 1* num ambiente extra somático. Várias diluições de mel, geleia real e aciclovir (5, 10, 50, 100, 2500, 500, e 800 µg/mL) foram adicionadas a células vero num ensaio de placa. Os resultados demonstraram que o mel, a geleia real e o aciclovir obtiveram os melhores efeitos inibitórios sobre o HSV-1 em concentrações de 500, 250, e 100 µg/mL respetivamente. Estes resultados permitem concluir que o mel e a geleia real podem considerar-se alternativas ao aciclovir na terapêutica de lesões de herpes.

5.4. Atividade antibiofilme

O tecido presente em feridas crónicas está normalmente colonizado por múltiplos micro-organismos. A maioria das feridas crónicas contém bactérias e fungos presentes na pele, mucosa oral, trato gastrointestinal ou no ambiente. Em conjunto, estes micro-organismos formam um biofilme, estando envolvidos numa matriz extracelular de polissacáridos que os protege, tanto de terapêuticas com antibióticos, como do sistema imunitário do hospedeiro (6,25,53).

Badet et al (54) procuraram investigar o efeito de méis de Manuka em bactérias orais potencialmente patogénicas. O efeito do mel na aderência das bactérias foi testado em células de *Streptococcus mutans* numa superfície de vidro e num biofilme multi-espécies cultivado em discos de hidroxiapatite. Os dois méis testados (com diferentes potências antimicrobianas) inibiram de forma ténue a aderência das células de *S. mutans* a concentrações inferiores à MIC. O mel mais potente inibiu o biofilme multi-espécie na totalidade, enquanto que o segundo mel inibiu ligeiramente a 200 µg/ml e de forma significativa a 500 µg/ml.

O crescimento de biofilmes é um dos principais fatores que contribuem para a ausência de correta cicatrização em feridas crónicas. Diferentes méis mostraram reduzir a formação de biofilmes de *Proteus mirabilis* e *Enterobacter cloacae* isolados de feridas, a uma concentração sub-inibitória de 10% (m/v). De forma semelhante, os dois méis provocaram o descolamento do biofilme de *Proteus mirabilis* após 24h. Em contrapartida, o biofilme de *Ent. Cloacae* não foi descolado por nenhum mel de forma relevante. O mel de manuka provou-se ser o mais eficaz entre os méis testados, sendo o MGO um dos componentes do mel mais importantes nessa inibição (6,55).

Um estudo realizado por Kot et al (56), teve como objetivo descortinar o efeito do mel de manuka sobre o perfil de transcrição de genes essenciais à formação de biofilme em bactérias MRSA. Foi isolado mRNA de duas estirpes hospitalares cultivadas em biofilme (com distintas capacidades de formar biofilme) e recolhidas após 4, 8, 12 e 24 h. Observou-se que o mel de Manuka reduziu a viabilidade das células de MRSA a 50% da concentração mínima inibitória de biofilme (MBIC). Observou-se também que este mel inibiu a expressão de genes que codificam a laminina, a elastina, a proteína de ligação ao fibrinogénio, entre outros genes essenciais à capacidade de adesão das bactérias para formar biofilme.

5.5. Mecanismos de ação

Os mecanismos de ação do mel sobre os micro-organismos ainda não estão completamente esclarecidos, verificando-se grande variabilidade entre os vários méis. No entanto, alguns alvos terapêuticos têm sido identificados com a ajuda de novas técnicas de proteómica e genómica (4,6).

O peróxido de hidrogénio destrói as paredes e as membranas celulares, induz lesões nos ribossomas e provoca a destruição do DNA bacteriano. O MGO interage com o DNA, RNA e com a síntese proteica, o que altera a capacidade funcional das bactérias e inibe o seu crescimento (4).

Outros fatores interferem também com o DNA celular das células microbianas. Os compostos fenólicos induzem a clivagem do DNA mediada pela topoisomerase IV e inibem as enzimas DNA helicase e DNA girase (25).

O mel possui uma elevada capacidade antioxidante que ajuda na prevenção de doenças agudas e crónicas como inflamatórias, alérgicas, trombóticas, diabéticas, cardiovasculares, oncológicas, entre outras. Méis de várias origens demonstram boas propriedades antioxidantes, sendo os ácidos fenólicos e os polifenóis os componentes que mais contribuem para tal. Outros componentes como açúcares, proteínas, aminoácidos, carotenos e produtos da reação de Maillard contribuem em menor escala para as propriedades antioxidantes do mel (47,57).

Brudzynski et al (36) procurou compreender o mecanismo de libertação de radicais livres a partir de H₂O₂, assim como perceber de que forma a formação de radicais hidroxilo afeta o crescimento de isolados clínicos. Observou-se que o crescimento de MRSA e VRE foi inibido pela geração de radicais hidroxilo de forma dose-dependente.

O mel, devido à sua composição físico-química tem capacidade de estimular ou inibir a libertação de citocinas (TNF- α , IL-1 β , IL-6, entre outras), a partir de monócitos e macrófagos consoante o estado da ferida. O mel tem também a capacidade de modular a libertação de espécies reativas de oxigénio por parte dos neutrófilos (37,58).

Durante a fase inflamatória e proliferativa da cicatrização, o mel induz a secreção de citocinas pró-inflamatórias e MMP-9 respetivamente. Em sentido contrário, caso a inflamação esteja fora de controlo, o mel reduz a inflamação, diminuindo o elevado nível de citocinas pró-inflamatórias, ROS e MMP-9 (figura 2) (58).



Figura 2. Ação imunomoduladora do mel. Adaptado de (58)

Gannabathula et al (59) procuraram caracterizar a capacidade de méis provenientes da Nova Zelândia de desencadear a libertação de TNF- α de células monocíticas no leito de uma ferida. Os méis de kanuka (*Kunzea ericoides*), de manuka (*Leptospermum scoparium*) e de trevo (*Trifolium spp.*) mostraram capacidade de estimular a libertação de TNF- α de células THP-1, sendo o mel de kanuka o mais ativo.

O mel demonstra também capacidade de interferir com os diferentes estágios da cicatrização, alterando a fisiologia natural deste processo. Para além da redução do odor (provocado por compostos libertados no metabolismo bacteriano, o mel reduz o edema e o exsudado de feridas, assim como altera a resposta inflamatória provocando o aumento de produtos finais de NO e reduzindo as prostaglandinas (37,61).

Adicionalmente, o mel funciona como agente desbridante (desbridamento autolítico). O desbridamento é o processo de remoção de tecido desvitalizado da ferida para promover o início rápido da fase proliferativa da cicatrização. O tecido necrótico em excesso, presente nas feridas,

pode ser removido através de intervenção cirúrgica, biocirúrgica, de forma mecânica ou de forma enzimática. As endotoxinas libertadas pelas bactérias perpetuam os estágios iniciais da inflamação e atrasam a cicatrização dos tecidos (60).

As propriedades osmóticas do mel permitem que este capte fluido linfático em zonas profundas, limpando o leito da ferida e impedindo a contaminação desta com corpos estranhos. A linfa é uma fonte de proteases que ajudam na atividade desbridante do mel. Um mecanismo de ação provável é a conversão de plasminogénio em plasmina, que fragmenta a fibrina, de forma a transformar o tecido necrótico em tecido de granulação saudável. Adicionalmente, o mel ajuda na redução do odor provocado por compostos libertados no metabolismo bacteriano (61).

6. Mel de uso farmacêutico

6.1. Características e classificação

Alguns méis não processados podem ter propriedades citotóxicas se estiverem presentes contaminantes como esporos de *Clostridium botulinum*, que causam paralisia e arritmias cardíacas. Mel derivado de plantas como oleandro, louro da montanha, louro ovelha, e azálea pode produzir efeitos adversos. O mel produzido a partir do néctar da espécie rododendro contém um componente tóxico quando ingerido, a graianotoxina. Tal potencial tóxico leva a que, na formulação de mel farmacêutico para tratamento de feridas, seja necessário otimizar a concentração de mel para se obter o mínimo de toxicidade para o máximo benefício possível. Os méis terapêuticos são irradiados com raios gama que eliminam as bactérias presentes sem comprometer as propriedades bioativas do produto (61).

Atualmente, na prática clínica, o mel de uso farmacêutico é usado no tratamento e na gestão de feridas e infeções da pele. São comercializados produtos com diferentes características, seja méis irradiados em forma de gel, pomada e gaze impregnada.

Um dos produtos comercializados cuja eficácia encontra suporte científico é o Revamil® (produzido na Holanda). Um estudo clínico (62) randomizado de 12 semanas comparou o uso deste mel com gotas auriculares convencionais no tratamento de mastoidite infetada, ficando demonstrada a segurança do gel Revamil ®como terapêutica alternativa (4).

O mel farmacêutico é utilizado maioritariamente na prática clínica sob a forma de apósitos impregnados, classificados pela Agência Europeia do Medicamento (EMA) como dispositivos

médicos (tabela 2). O *National Institute for Health and Care Excellence* (NICE) emite *guidelines* que incidem no uso de apósitos que cumprem a marca *European Conformity* (CE) e aprovação regulamentar como dispositivos médicos estéreis de aplicação em feridas externas (4)

Apenas deve ser aplicado em feridas mel farmacêutico de boa qualidade, autorizado pelas entidades reguladoras e licenciado para uso clínico. Este deve também cumprir diversas especificações como: não ser aquecido a mais de 37°C de forma a proteger as enzimas da desnaturação e destruição de outros componentes; o armazenamento deve ser feito a 20°C em frascos de vidro âmbar ou folha de alumínio para proteger o produto da luz; não deve ser armazenado em plástico, visto que este material pode libertar partículas contaminantes; a escolha do produto deve ter em consideração as características da ferida (4,63).

Para a maioria das lesões a melhor escolha recai sobre apósitos de alginato e mel, dada a sua flexibilidade, facilidade de aplicação/remoção e a não aderência á ferida. A quantidade de exsudado produzido deve ditar a frequência da troca do mesmo. Deve ser trocado sempre que ficar completamente embebido em exsudado de forma a prevenir a contaminação. O mel deve ser aplicado diretamente e de forma homogénea no apósito, e não na ferida. Feridas mais profundas necessitam de um apósito capaz de conter uma dose maior de mel. O desbridamento de tecido necrótico deve ser feito com apósitos embebidos em mel diluído a 1:3. A pele em redor da ferida muitas vezes sofre maceração pelo que deve ser aplicado uma camada protetora de mel nessa região (4,63).

Tabela 2: Méis farmacêuticos aprovados para uso clínico. Adaptado de (4)

Méis farmacêuticos registados para uso clínico, com marcação CE	Características
Medihoney®	Mel de manuka da Nova Zelândia, disponível em diversas variantes de apósitos
Revamil®:	Mel farmacêutico não de manuka, de origem Holandesa
Activon®:	Produzido com base em mel de manuka. Disponível em vários tipos de apósitos.
Surgihoney Reactive Oxygen/Surgihoney RO/SHRO®	Produto produzido por técnicas de bioengenharia, que utiliza mel farmacêutico para libertar Reactive Oxygen®. Este antimicrobiano atua contra <i>MRSA</i> , <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas spp.</i> e biofilmes.
Sanoskin® (Melladerm)	Proveniente do Reino Unido. Comercializado em gel e pomada. Contém 45% de mel e agentes antioxidantes
ManukApli®	Apósito estéril impregnado em mel de manuka
L-Mesitran®	Contém 48% de mel farmacêutico
Honevo®	Composto por 90% mel de kanuka e 10% glicerina

7. Utilização do mel no tratamento de feridas crônicas

Têm sido vários os estudos evidenciando o papel relevante do mel no tratamento de feridas crônicas. Neste contexto, apresentam-se seguidamente alguns dos resultados reportados na literatura, relativamente aos vários tipos de feridas crônicas referidas em 3.1.

7.1. Úlcera de pé diabético

Um estudo de Kamaratos et al (64), realizado com 63 pacientes diagnosticados com diabetes do tipo 2, procurou investigar o efeito de apósitos com mel de manuka (grupo 1) no tratamento da úlcera neuropática do pé diabético em comparação com curativos tradicionais (Grupo 2). O acompanhamento foi semanal durante 16 semanas. O tempo médio de cicatrização foi melhor no grupo 1 (31 ± 4 dias), comparando com 43 ± 3 dias no grupo 2. Observou-se também melhor atividade antibacteriana no curativo de mel de manuka, com 78,13% das feridas a atingir a esterilidade na primeira semana, contra 35,5% do grupo convencional. Na segunda, quarta e sexta semana, observou-se o mesmo padrão, sendo a percentagem de feridas estéreis 15,62%, 6,25% e 0% do grupo 1, contra 38,7%, 12,9% e 12,9% do grupo 2, respetivamente. O grupo tratado com mel de manuka demonstra melhores tempos de cicatrização e maior rapidez na desinfecção. No entanto, a diferença entre as taxas de cicatrização completa não foi estatisticamente relevante (97% e 90%).

Um estudo quasi-experimental de Jan et al (65), comparou um apósito convencional de iodopovidona (grupo A) com apósitos de mel farmacêutico (grupo B), incidindo nos parâmetros de tempo de cicatrização e necessidade de amputação, na úlcera do pé diabético. As taxas de cura foram de 66% (A) e 72% (B). As taxas de amputação foram de 34% (A) e de 38% (B). Foi concluído que o apósito de mel farmacêutico foi mais eficaz que o de iodopovidona em ambos os parâmetros.

Saeed (66), procurou comparar a eficácia de apósitos impregnados em mel de manuka com apósitos convencionais. O objetivo foi avaliar o tempo de tratamento da infeção, tempo de internamento e o rácio de úlceras cicatrizadas, após seis semanas e após 6 meses. O tempo médio para eliminar a infeção foi reduzido em 51,1% ($p < 0,05$) no grupo tratado com mel. Também o tempo de internamento foi reduzido em 53,8% ($p < 0,05$). Ao fim de três semanas, a percentagem de úlceras cicatrizadas foi de 61,3% contra 11,5% ($P < 0,05$) no tratamento com mel e tratamento convencional, respetivamente. Após seis meses essa percentagem foi de

87,1% contra 42,3% ($P < 0,05$). Também a taxa de amputação foi mais reduzida no tratamento com mel (9,7% contra 34,6% no tratamento convencional; $P < 0,05$). Estes resultados permitiram concluir que o apósito impregnado em mel foi mais eficaz que o apósito convencional por si só.

Um estudo de Tsang et al (67), comparou a eficácia de um apósito de prata nanocristalina, um curativo de mel de manuka e um curativo convencional. O estudo consiste num ensaio aleatório de três grupos paralelos, que compara a cicatrização da úlcera, infeção e inflamação em 31 pacientes com diabetes do tipo 2. O tamanho da úlcera foi reduzido em 97,45%, 86,21% e 75,17% nos grupos nAg, mel manuka e tratamento convencional, respetivamente. A proporção de cicatrização total foi de 81,8%, 50%, e 40%. Concluiu-se que o mel de manuka foi superior á terapêutica convencional, embora não atinja os resultados da prata nanocristalina.

Um ensaio clínico de Nair *et al* (68), estudou o efeito de mel farmacêutico em seis pacientes com úlcera de pé diabético, alguns dos quais em risco de amputação. Já tinham sido tentados tratamentos prévios com antibióticos, apósitos de prata e alginato, cirurgia e terapia com larvas. Todos se mostraram ineficazes. O mel farmacêutico reduziu o mau odor em dois dias e controlou a infeção em 2-3 semanas, assim como promoveu a rápida cicatrização, promovendo a formação de tecido de granulação, a angiogénese e a reepitelização.

Um ensaio clínico (69) está a recrutar pacientes para comparar o uso de pensos impregnados com mel, em comparação com pensos convencionais (dispositivos que respeitam as normas da Haute Autorité de Santé (HAS), no tratamento de feridas de amputação, decorrentes da úlcera de pé diabético. O principal objetivo deste estudo é comparar a velocidade de formação de novo tecido epidérmico após 6 meses, aplicando ambos os tratamentos, em 50 pacientes. O dispositivo que se pretende testar é o “Melectis G” (penso impregnado em mel de tomilho com ácido hialurónico).

Um ensaio clínico (70), no âmbito da úlcera do pé diabético, recrutou 140 pacientes para averiguar a efetividade clínica do uso de produtos à base de mel e hidrogel, assim como comparar a mesma com a efetividade de tratamentos convencionais, como é o caso de antibióticos tópicos ou sistémicos. O estudo é constituído por 4 grupos, dos quais um de controlo, cujo tratamento aplicado é Fucidine® pomada. Os restantes 3 grupos constituem pacientes tratados com Medyhoney®, Purilon Gel®, e uma combinação destes dois. Os

parâmetros a comparar serão os tempos de tratamento, parâmetros laboratoriais, melhorias neurológicas e evolução anatômica das feridas.

7.2. Úlcera venosa crônica

Um ensaio clínico aleatório de Jule et al (71), com 368 participantes padecendo de úlcera venosa crônica, comparou os resultados da terapêutica de ligaduras de compressão, impregnadas em mel farmacêutico, com ligaduras de alginato de cálcio. Em 12 semanas não se observou um ganho significativo no número de úlceras cicatrizadas no tratamento com mel comparando com o alginato (55,6% vs. 49,7%, $p = 0,258$), assim como não houve diferenças relevantes na redução do tamanho das feridas (74,1% vs. 65,5%, $p = 0,186$). Também o tempo de cicatrização se mostrou equivalente (63,5 vs. 65,3 dias, $p = 0,553$), assim como a incidência de infecções (17,1% vs 22,1%). Como ponto negativo, o tratamento com mel provocou maior incidência de efeitos indesejados, como a dor. Este estudo, embora considerado robusto, não demonstrou que a terapêutica com mel seja superior ao tratamento convencional.

Um ensaio clínico aleatório de Gethin et al (72) teve como objetivo determinar alterações bacteriológicas num tratamento de úlceras venosas crônicas. Os 108 pacientes foram tratados com apósitos de mel de manuka em comparação com apósitos de hidrogel convencionais. A estirpe *Staphylococcus aureus* foi encontrada em 38% das úlceras, sendo a bactéria mais prevalente. Após 4 semanas, a bactéria MRSA foi eliminada de 70% das feridas tratadas com mel de manuka, em comparação com 16% das feridas tratadas com o apósito de hidrogel. No entanto, quando se trata de *Pseudomonas aeruginosa*, apenas 33% das feridas viram esta bactéria eliminada, contra 50% das tratadas com hidrogel. Concluiu-se que o mel de manuka foi mais efetivo em feridas infetadas com MRSA.

7.3. Úlceras cirúrgicas e traumáticas

Um estudo de Okeniyi et al (73) procurou comparar o uso de mel não diluído, com o antisséptico EUSOL (*Edinburgh University Solution Of Lime*) no tratamento de uma ferida decorrente da excisão de drenagem de um abscesso de piomiosite. As feridas tratadas com mel

viram o seu tempo de cicatrização reduzido e menor tempo de internamento foi necessário ($t = 2,45$, $p = 0.019$).

Um estudo de Jarjis et al (74) mostrou que o mel farmacêutico proporcionou bons resultados clínicos quando usado num paciente que desenvolveu uma infecção pós-operatória, após sujeito a uma abdominoplastia pós cirurgia bariátrica. Concluiu-se que em casos como este, o mel permite reduzir a necessidade de desbridamento cirúrgico e de intervenções como o *split skin grafting*.

Um estudo de Majtanova et al (75), estudou o uso de mel no tratamento de uma úlcera corneal, num paciente utilizador de lentes de contacto. Uma análise dos microorganismos presentes na ferida detetou a presença de *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* e *Pseudomonas spp*. A utilização de uma combinação de levofloxacina a 25% e mel de melada 25% (m/m esterilizado com radiação γ mostrou resultados clínicos efetivos, obtendo a melhor acuidade visual do olho afetado após tratamento.

Goharshenasan et al (76), compararam apósitos de vaselina com apósitos de mel farmacêutico em pacientes sujeitos a cirurgia plástica bilateral. Foram observados melhores resultados estéticos e menor probabilidade de complicações (eritema, abertura da ferida e infecção) no tratamento com mel, nas avaliações realizados ao terceiro e ao sexto mês.

Mais estudos são necessários para aferir a eficácia do mel farmacêutico neste grupo de feridas crónicas (37).

7.4. Úlceras de pressão

Um estudo prospetivo observacional de Biglari et al (77) procurou comparar o uso de *Medihoney* em úlceras de pressão nas pernas (graus III e IV), sacro e região isquiática, em 20 pacientes com lesões na medula espinhal. Após uma semana, nenhuma ferida apresentava colonização bacteriana. Em 90% dos doentes, as úlceras cicatrizaram completamente após 4 semanas, não tendo sido registados efeitos adversos.

Khadanga (78) et al estudaram a efetividade de curativos impregnados com mel ou iodopovidona, no tratamento da úlcera decubital. A dimensão da ferida e a presença bacteriana

evoluíram de forma semelhante em ambos os tratamentos, embora a dor dos pacientes tenha sido reduzida mais eficazmente quando tratados com mel, segundo a escala visual analógica (VAS).

Saha et al (79) estudaram a evolução de úlceras em pacientes oncológicos acamados, quando tratados com metronidazol em pó ou com uma combinação deste com mel farmacêutico. A evolução da cicatrização e da dor foram avaliados pela *Bates Jensen Wound Assessment Tool* e pela escala VAS respetivamente, observando-se uma evolução estatisticamente significativa nos primeiros 10 dias de tratamento em termos da cicatrização e uma diminuição da dor nos primeiros 7 dias, no grupo tratado como mel e metronidazol em combinação.

Um ensaio clínico (80), a ser realizado em França, está a recrutar pacientes para estudar a efetividade de um dispositivo médico, Melectis G[®], no tratamento de úlceras de pressão. Este dispositivo consiste numa associação de mel farmacêutico e ácido hialurónico selecionados. A avaliação será feita observando a evolução da ferida ao longo de 12 semanas de tratamento.

7.5. Outras feridas crónicas

Um estudo retrospectivo de Thomas et al (81) realizado sobre a efetividade de mel de manuka no tratamento da doença do cisto pilonidal, concluiu que em 15 dos 17 pacientes elegíveis, a ferida cicatrizou completamente num tempo médio de 65 dias. Em dois dos pacientes observaram-se reinfeções nos meses seguintes.

Um estudo de Haidari et al (82), com uma amostra de 17 pacientes, procurou aferir a eficácia de uma terapêutica com mel no tratamento de Gangrena de Fournier. Numa primeira fase, o tecido necrótico foi desbridado sob anestesia. Em seguida, durante a primeira semana, as feridas foram limpas diariamente com *Betadine*[®], soro, e água oxigenada a 2 %, seguido de aplicação tópica de mel, nas feridas secas, cobrindo depois a ferida com gaze. O tecido de granulação começou a surgir após 10 dias. Apesar do falecimento de um dos pacientes e da necessidade de sujeitar outros quatro pacientes a colostomia, este tratamento reduziu, não só o tempo de internamento (12 ± 6 dias), como os custos relacionados, em comparação com terapias convencionais.

Nielsen et al (83) compararam o uso de apósitos impregnados com mel e pensos impregnados em prata, no tratamento de feridas malignas em pacientes oncológicos. Não foram notadas diferenças significativas entre os dois grupos na diminuição da área da ferida, no desbridamento, no mau odor, na exsudação nem na dor. Em ambos os tratamentos as melhorias foram significativas, com 62% dos pacientes a obter redução relevante da área da ferida e 58% a observar resultados no desbridamento.

7.6. Outros estudos

Um estudo de Rajput et al (84), procurou comprovar a eficácia de *scaffolds* de fibroína de seda impregnados em mel no tratamento de feridas crônicas, proporcionando um substrato que facilita a adesão, migração e proliferação de queratinócitos e de fibroblastos. Os estudos *in vitro* demonstraram que os *scaffolds* com 4% de concentração de mel, resultaram em melhor adesão e distribuição de fibroblastos. Os estudos *in vivo* em feridas demonstraram a obtenção de normal homeostasia e correta reepitelização dos tecidos, existindo maior expressão de colagénio do tipo I em detrimento do tipo III, com formação mínima de cicatrizes. Concluiu-se que a incorporação do mel nos *scaffolds* potenciou a minimização de cicatrizes e proporcionou um microambiente mais adequado à cicatrização.

Um estudo de Robson et al (85) no âmbito de úlceras venosas crônicas e úlceras de pressão comparou o uso de apósitos impregnados em mel farmacêutico com apósitos de hidrogel convencionais. Observou-se um tempo médio de cicatrização mais curto (100 dias), no tratamento com mel, comparando com o tradicional (140 dias).

Gulati et al (86) compararam a aplicação de apósitos de mel com apósitos de iodopovidona, no tratamento de feridas crônicas. Sete dos 22 pacientes do grupo tratado com mel, atingiram cicatrização total às 6 semanas, em oposição a nenhuma cicatrização total registada no segundo grupo, nesse intervalo temporal. Observaram-se resultados significativos na redução do tamanho da ferida e da dor, concluindo-se que o mel foi muito eficaz quando comparado com a alternativa.

Dubhashi et al (87), estudaram os efeitos de um apósito de mel farmacêutico (grupo A) como tratamento de feridas crônicas em oposição a apósitos de fenitoína (grupo B) e apósitos salinos (grupo C). Após 3 semanas de seguimento, o aparecimento de tecido de granulação e a redução da área da ferida foram mais evidentes nos grupos A e B, para além de que a infeção,

a dor e o mau odor foram reduzidos de forma mais eficaz nesses mesmos grupos. Os resultados obtidos apontaram para uma igual eficácia dos tratamentos com mel e fenitoína.

Suryaprakash et al (88) compararam a erradicação de biofilmes e a cicatrização em feridas crônicas quando tratadas com mel não processado, em oposição a desbridamento mecânico associado à aplicação de uma solução antisséptica (grupo controlo). A presença de biofilmes no final do tratamento foi de 60% no grupo tratado com mel, contra 68% do grupo controlo. Também na rapidez de formação de tecido de granulação o mel foi superior, assim como no tempo médio de erradicação de biofilmes e no tempo médio de internamento (inferiores no grupo tratado com mel).

Um estudo de Zeleníková e Vyhřídlováb (89), procurou determinar a efetividade clínica de apósitos de mel no tratamento de feridas crônicas em idosos, a receber cuidados ao domicílio, comparativamente a apósitos convencionais. Em três meses, 80% dos pacientes obtiveram cicatrização completa em oposição a 30% do grupo controlo. Também a redução de tamanho das feridas e o alívio da dor foram estatisticamente significativos em relação ao controlo.

Observando os resultados dos estudos em causa, é possível afirmar que o mel farmacêutico permite obter melhores resultados terapêuticos quando comparando com outros tratamentos, na generalidade dos casos estudados. Os componentes bioativos do mel contribuíram para a redução da inflamação, do tamanho das feridas, melhor desbridamento e aceleraram a formação de tecido de granulação e epitelização dos tecidos, resultado na redução de tempos de internamento e do uso de antibióticos, o que se materializa também numa redução de custos associados(76).

8. Discussão e Perspetivas futuras

Existe, atualmente, evidência científica da utilidade do mel no tratamento de feridas, como agente antimicrobiano, agente nutricional, potenciador da angiogénese e acelerador da cicatrização. Novas tecnologias de incorporação de mel farmacêutico em suportes têm sido desenvolvidas com sucesso, revolucionando as estratégias de gestão deste tipo de feridas. No entanto são necessários mais estudos *in vivo* para averiguar a libertação do mel no alvo

pretendido e uma maior uniformização das formulações para garantir a consistência dos resultados obtidos. (90)

Novas estratégias de tratamento de feridas crônicas utilizando mel farmacêutico necessitam de uma maior base de estudos independentes, alargados e aleatórios, que permitam criar as fundações para o seu uso de forma segura e consistente na prática clínica. (4,37,61)

Por um lado, existe a necessidade de maior pesquisa no campo etnofarmacêutico, de forma a alargar a base de espécies botânicas e dos méis a partir destas produzidos, permitindo que se possa estudar em maior detalhe a sua composição e os seus mecanismos terapêuticos. Desta forma, é necessário efetuar uma pesquisa detalhada e comparativa entre espécies de abelhas, origem botânica do mel, localização geográfica e das suas condições de produção e armazenamento.

Por outro lado, é necessário caracterizar melhor o perfil físico-químico, os biomarcadores e ação farmacológica dos componentes dos vários méis.

A otimização e o aperfeiçoamento das formulações de mel farmacêutico são também mandatórios, aproveitando a sua vasta composição em componentes bioativos.

Também o aprofundamento do estudo das vias de sinalização e alvos terapêuticos que explicam a atividade moduladora do mel, permitirá compreender melhor a forma de atuação do mel na cicatrização de feridas crônicas.

A evolução da investigação nesta área tem permitido obter melhores estratégias terapêuticas, mais económicas e com a menor utilização possível de fármacos, entre os quais antibióticos. Os ensaios clínicos ainda ativos, assim como os ensaios a realizar no futuro, e o desenvolvimento de novos produtos à base de mel farmacêutico, permitirão certamente aumentar o uso do mel na prática clínica e no tratamento de feridas crônicas. (61)

9. Referências bibliográficas

1. Samarghandian S, Farkhondeh T, Samini F. Honey and health: A review of recent clinical research. *Pharmacognosy Res.* 2017;9(2):121–7.
2. Ediriweera ERHSS, Premarathna NYS. Medicinal and cosmetic uses of Bee's Honey -

- A review. *AYU (An Int Q J Res Ayurveda)*. 2012;33(2):178.
3. Eteraf-Oskouei T, Najafi M. Traditional and modern uses of natural honey in human diseases: A review. *Iran J Basic Med Sci*. 2013;16(6):731–42.
 4. Shan Y. Medicinal honey in clinical practice: viable alternative or useful adjunct in wound care management? *Br J Nurs [Internet]*. 2019 ;28(12):S23–30. Available from: <http://www.magonlinelibrary.com/doi/10.12968/bjon.2019.28.12.S23>
 5. Mandal MD, Mandal S. Honey: Its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pac J Trop Biomed [Internet]*. 2011;1(2):154–60. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60016-6](http://dx.doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60016-6)
 6. Faustino C, Pinheiro L. Antimicrobial properties and therapeutic benefits of honey in the quest for more efficient antimicrobial agents. In: Méndez-Vilas A. *The battle against microbial pathogens: basic science, technological advances and educacional programs*. Badajoz, Spain: Formatex Research Center, 2015. p. 98–108.
 7. McLoone P, Warnock M, Fyfe L. Honey: A realistic antimicrobial for disorders of the skin. *J Microbiol Immunol Infect [Internet]*. 2016 ;49(2):161–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmii.2015.01.009>
 8. Sorg H, Tilkorn DJ, Hager S, Hauser J, Mirastschijski U. Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts. *Eur Surg Res [Internet]*. 2017;58(1–2):81–94. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/454919>
 9. Wang PH, Huang BS, Horng HC, Yeh CC, Chen YJ. Wound healing. *J Chinese Med Assoc [Internet]*. 2018;81(2):94–101. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.11.002>
 10. Wang C, Guo M, Zhang N, Wang G. Effectiveness of honey dressing in the treatment of diabetic foot ulcers: A systematic review and meta-analysis. *Complement Ther Clin Pract [Internet]*. 2019;34(2018):123–31. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2018.09.004>
 11. Zhao R, Liang H, Clarke E, Jackson C, Xue M. Inflammation in Chronic Wounds. *Int J Mol Sci [Internet]*. 2016 17(12):2085. Available from: <http://www.mdpi.com/1422-0067/17/12/2085>
 12. Dini V, Janowska A, Oranges T, De Pascalis A, Iannone M, Romanelli M. Surrounding skin management in venous leg ulcers: A systematic review. *J Tissue Viability*

- [Internet]. 2020;29(3):169–75. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jtv.2020.02.004>
13. Baltzis D, Eleftheriadou I, Veves A. Pathogenesis and Treatment of Impaired Wound Healing in Diabetes Mellitus: New Insights. *Adv Ther* [Internet]. 2014;31(8):817–36. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12325-014-0140-x>
 14. Noor S, Zubair M, Ahmad J. Diabetic foot ulcer - A review on pathophysiology, classification and microbial etiology. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev* [Internet]. 2015;9(3):192–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dsx.2015.04.007>
 15. Morton LM, Phillips TJ. Wound healing and treating wounds Differential diagnosis and evaluation of chronic wounds. *J Am Acad Dermatol* [Internet]. 2016;74(4):589–605. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2015.08.068>
 16. Han G, Ceilley R. Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. *Adv Ther*. 2017;34(3):599–610.
 17. Atkin L. Chronic wounds: The challenges of appropriate management. *Br J Community Nurs*. 2019;24:S26–32.
 18. Martin P, Nunan R. Cellular and molecular mechanisms of repair in acute and chronic wound healing. *Br J Dermatol* [Internet]. 2015;173(2):370–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/bjd.13954>
 19. Dhivya S, Padma VV, Santhini E. Wound dressings - a review. *BioMedicine* [Internet]. 2015 ;5(4):22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26615539>
 20. Shi C, Wang C, Liu H, Li Q, Li R, Zhang Y, et al. Selection of Appropriate Wound Dressing for Various Wounds. *Front Bioeng Biotechnol* [Internet]. 2020;1–17. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fbioe.2020.00182/full>
 21. Abdelrahman T, Newton H. Wound dressings: Principles and practice. *Surgery* [Internet]. 2011;29(10):491–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mpsur.2011.06.007>
 22. Ordem dos Farmacêuticos. Manual de Material de Penso com Ação Terapêutica. Lisboa: Conselho do Colégio de Especialidade da Farmácia Hospitalar; 2012.
 23. Ayoub S, Al-asiri SA, Latief A. Saudi Journal of Biological Sciences Role of honey in modern medicine. *Saudi J Biol Sci* [Internet]. 2017;24(5):975–8. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.010>

24. Albaridi NA. Antibacterial Potency of Honey. *Int J Microbiol* [Internet];2019:1–10. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/ijmicro/2019/2464507/>
25. Nolan VC, Harrison J, Cox JAG. Dissecting the antimicrobial composition of honey. *Antibiotics*. 2019;8(4):1–16.
26. Pita-Calvo C, Vázquez M. Differences between honeydew and blossom honeys: A review. Vol. 59, *Trends in Food Science and Technology*. 2017. p. 79–87.
27. Alvarez-Suarez J, Gasparrini M, Forbes-Hernández T, Mazzoni L, Giampieri F. The Composition and Biological Activity of Honey: A Focus on Manuka Honey. *Foods* [Internet]. 2014;3(3):420–32. Available from: <http://www.mdpi.com/2304-8158/3/3/420>
28. Bogdanov S, Jurendic T, Sieber R, Gallmann P, Bogdanov S, Jurendic T, et al. *Journal of the American College of Nutrition Honey for Nutrition and Health : A Review Honey for Nutrition and Health : A Review*. 2013;37–41.
29. Missio P, Gauche C, Gonzaga LV, Carolina A, Costa O. Honey : Chemical composition , stability and authenticity. *FOOD Chem* [Internet]. 2016;196:309–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>
30. Bogdanov S, Jurendic T, Sieber R, Gallmann P. Honey for nutrition and health: A review. *J Am Coll Nutr*. 2008;27(6):677–89.
31. Oryan A, Alemzadeh E, Moshiri A. Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing: A narrative review and meta-analysis. *J Tissue Viability* [Internet]. 2016;25(2):98–118. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtv.2015.12.002>
32. Martinotti S, Bucekova M, Majtan J, Ranzato E. Honey: An Effective Regenerative Medicine Product in Wound Management. *Curr Med Chem* [Internet]. 2018;26(27):5230–40. Available from: https://www.researchgate.net/publication/325081942_Honey_An_Effective_Regenerative_Medicine_Product_in_Wound_Management
33. Islam MN, Khalil MI, Islam MA, Gan SH. Toxic compounds in honey. *J Appl Toxicol* [Internet]. 2014 ;34(7):733–42. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jat.2952>

34. Punjataewakupt A, Napavichayanun S, Aramwit P. The downside of antimicrobial agents for wound healing. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019;38(1):39–54.
35. Almasaudi S. The Antibacterial Activities of Honey Saad Almasaudi Biology Department , Faculty of Science , King Abdulaziz. *Saudi J Biol Sci* [Internet]. 2020; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.017>
36. Brudzynski K, Lannigan R. Mechanism of honey bacteriostatic action against MRSA and VRE involves hydroxyl radicals generated from honey ' s hydrogen peroxide. 2012;3:1–8.
37. Saikaly SK, Khachemoune A. Honey and Wound Healing: An Update. *Am J Clin Dermatol*. 2017;18(2):237–51.
38. Kwakman PHS, Zaat SAJ. Antibacterial components of honey. Vol. 64, *IUBMB Life*. 2012. p. 48–55.
39. Molan P, Rhodes T. Honey: A Biologic Wound Dressing. *Wounds a Compend Clin Res Pract* [Internet]. 2015 ;27(6):141–51. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26061489>
40. Pimentel RB de Q, da Costa CA, Albuquerque PM, Junior SD. Antimicrobial activity and rutin identification of honey produced by the stingless bee *Melipona compressipes manaosensis* and commercial honey. *BMC Complement Altern Med*. 2013;13.
41. Carnwath R, Graham EM, Reynolds K, Pollock PJ. The antimicrobial activity of honey against common equine wound bacterial isolates. *Vet J* [Internet]. 2014;199(1):110–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.07.003>
42. Sherlock O, Dolan A, Athman R, Power A, Gethin G, Cowman S, et al. Comparison of the antimicrobial activity of Ulmo honey from Chile and Manuka honey against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Complement Altern Med*. 2010;10.
43. Basson NJ, Grobler SR. Antimicrobial activity of two South African honeys produced from indigenous *Leucospermum cordifolium* and *Erica* species on selected microorganisms. *BMC Complement Altern Med*. 2008;8:2–5.
44. Tan HT, Rahman RA, Gan SH, Halim AS, Hassan SA, Sulaiman SA, et al. The antibacterial properties of Malaysian tualang honey against wound and enteric microorganisms in comparison to manuka honey. *BMC Complement Altern Med*.

2009;9:34.

45. Schneider M, Coyle S, Warnock M, Gow I, Fyfe L. Anti-microbial activity and composition of manuka and portobello honey. *Phyther Res.* 2013;27(8):1162–8.
46. Müller P, Alber DG, Turnbull L, Schlothauer RC, Carter DA, Whitchurch CB, et al. Synergism between Medihoney and Rifampicin against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *PLoS One.* 2013;8(2):1–9.
47. Ahmed S, Sulaiman SA, Baig AA, Ibrahim M, Liaqat S, Fatima S, et al. Honey as a Potential Natural Antioxidant Medicine: An Insight into Its Molecular Mechanisms of Action. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018.
48. Irish J, Carter DA, Shokohi T, Blair SE. Honey has an antifungal effect against *Candida* species. *Med Mycol.* 2006;44(3):289–91.
49. Feás X, Iglesias A, Rodrigues S, Estevinho LM. Effect of *Erica* sp. honey against microorganisms of clinical importance: Study of the factors underlying this biological activity. *Molecules.* 2013;18(4):4233–46.
50. Hashemipour MA, Tavakolineghad Z, Arabzadeh SAM, Iranmanesh Z, Nassab SAHG. Antimicrobial properties and therapeutic benefits of honey in the quest for more efficient antimicrobial agents. *Battle Against Microb Pathog Basic Sci Technol Adv Educ Programs [Internet].* 2015; 26(2):47–54. Available from: <http://www.microbiology5.org/microbiology5/book/98-108.pdf>
51. Watanabe K, Rahmasari R, Matsunaga A, Haruyama T, Kobayashi N. Anti-influenza Viral Effects of Honey In Vitro: Potent High Activity of Manuka Honey. *Arch Med Res [Internet].* 2014;45(5):359–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arcmed.2014.05.006>
52. Abdel-Naby Awad OG, Hamad AMH. Honey can help in herpes simplex gingivostomatitis in children: Prospective randomized double blind placebo controlled clinical trial. *Am J Otolaryngol - Head Neck Med Surg [Internet].* 2018;39(6):759–63. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.amjoto.2018.09.007>
53. Sojka M, Valachova I, Bucekova M, Majtan J. Antibiofilm efficacy of honey and bee-derived defensin-1 on multispecies wound biofilm. *J Med Microbiol.* 2016;65(4):337–44.
54. Badet C, Quero F. The in vitro effect of manuka honeys on growth and adherence of

- oral bacteria. *Anaerobe* [Internet]. 2011;17(1):19–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anaerobe.2010.12.007>
55. Majtan J, Bohova J, Horniackova M, Klaudiny J, Majtan V. Anti-biofilm effects of honey against wound pathogens proteus mirabilis and enterobacter cloacae. *Phyther Res*. 2014;28(1):69–75.
56. Kot B, Sytykiewicz H, Sprawka I, Witeska M. Effect of manuka honey on biofilm-associated genes expression during methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm formation. *Sci Rep* [Internet]. 2020;10(1):1–12. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70666-y>
57. G Vallianou N. Honey and its Anti-Inflammatory, Anti-Bacterial and Anti-Oxidant Properties. *Gen Med Open Access*. 2014;02(02).
58. Majtan J. Honey: An immunomodulator in wound healing. *Wound Repair Regen*. 2014;22(2):187–92.
59. Gannabathula S, Skinner MA, Rosendale D, Greenwood JM, Mutukumira AN, Steinhorn G, et al. Arabinogalactan proteins contribute to the immunostimulatory properties of New Zealand honeys. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2012;34(4):598–607.
60. Belcher J. A review of medical-grade honey in wound care. *Br J Nurs* [Internet]. 2012 Aug 6;21(Sup15):S4–9. Available from: <http://www.magonlinelibrary.com/doi/10.12968/jowc.1999.8.7.26179>
61. Krishnakumar GS, Mahendiran B, Gopalakrishnan S, Muthusamy S, Malarkodi Elangovan S. Honey based treatment strategies for infected wounds and burns: A systematic review of recent pre-clinical research. *Wound Med* [Internet]. 2020;30:100188. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.wndm.2020.100188>
62. Henatsch D, Wesseling F, Briedé JJ, Stokroos RJ. Treatment of Chronically Infected Open Mastoid Cavities With Medical Honey. *Otol Neurotol* [Internet]. 2015 ;36(5):782–7. Available from: <http://journals.lww.com/00129492-201506000-00005>
63. Alam F, Islam MA, Gan SH, Khalil MI. Honey: A potential therapeutic agent for managing diabetic wounds. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2014;2014.
64. Kamaratos A V., Tzirogiannis KN, Iraklianos SA, Panoutsopoulos GI, Kanellos IE, Melidonis AI. Manuka honey-impregnated dressings in the treatment of neuropathic

- diabetic foot ulcers. *Int Wound J.* 2014;11(3):259–63.
65. Jan WA, Shah H, Khan M, Fayaz M, Ullah N. Comparison of conventional pyodine dressing with honey dressing for the treatment of diabetic foot ulcers. *J Postgrad Med Inst.* 2012;26(4):402–7.
66. Al Saeed M. Therapeutic Efficacy of Conventional Treatment Combined with Manuka Honey in the Treatment of Patients with Diabetic Foot Ulcers : A Randomized Controlled Study. *Egypt J Hosp Med.* 2013;53(2011):1064–71.
67. Tsang KK, Kwong EWY, To TSS, Chung JWY, Wong TKS. A Pilot Randomized, Controlled Study of Nanocrystalline Silver, Manuka Honey, and Conventional Dressing in Healing Diabetic Foot Ulcer. *Evidence-based Complement Altern Med.* 2017;2017.
68. Nair HKR, Tatavilis N, Pospíšilová I, Kučerová J, Cremers NAJ. Medical-grade honey kills antibiotic-resistant bacteria and prevents amputation in diabetics with infected ulcers: A prospective case series. *Antibiotics.* 2020;9(9):1–12.
69. Centre Hospitalier Metropole Savoie, Study of the Value of Using a Honey Dressing Compared to the Use of a Standard Dressing on the Toe Amputation Wound in the Diabetic Patient (MELIDIAB), [ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03934281]. US National Institutes of Health, ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/>. Acedido a 25 de setembro de 2020
70. Cyberjaya University College of Medical Sciences The Healing Effects Of Honey and Hydrogel Products On The Diabetic Foot [ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03816618] US National Institutes of Health, ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/>. Acedido a 1 de outubro de 2020
71. Jull A, Walker N, Parag V, Molan P, Rodgers A. Randomized clinical trial of honey-impregnated dressings for venous leg ulcers. *Br J Surg.* 2008;95(2):175–82.
72. Gethin G, Cowman S. Bacteriological changes in sloughy venous leg ulcers treated with manuka honey or hydrogel: an RCT. *J Wound Care.* 2008;17(6).
73. Okeniyi JAO, Olubanjo OO, Ogunlesi TA, Oyelami OA. Comparison of healing of incised abscess wounds with honey and EUSOL dressing. *J Altern Complement Med.* 2005;11(3):511–3.
74. Dina Jarjis R, Thomas Crewe B, Henrik Matzen S. Post-bariatric abdominoplasty resulting in wound infection and dehiscence - Conservative treatment with medical

- grade honey: A case report and review of literature. *Int J Surg Case Rep* [Internet]. 2016;20:1–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijscr.2015.12.051>
75. Majtanova N, Vodrazkova E, Kurilova V, Horniackova M, Cernak M, Cernak A, et al. Complementary treatment of contact lens-induced corneal ulcer using honey: A case report. *Contact Lens Anterior Eye* [Internet]. 2015;38(1):61–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clae.2014.09.004>
 76. Yilmaz AC, Aygin D. Honey Dressing in Wound Treatment: a Systematic Review. *Complement Ther Med* [Internet]. 2020;51:102388. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2020.102388>
 77. Biglari B, vd Linden PH, Simon A, Aytac S, Gerner HJ, Moghaddam A. Use of Medihoney as a non-surgical therapy for chronic pressure ulcers in patients with spinal cord injury. *Spinal Cord* [Internet]. 2012 ;50(2):165–9. Available from: <http://www.nature.com/articles/sc201187>
 78. Khadanga S, Dugar D, Karuna T, Khetri R, Tim H, Ghata S, et al. Effects of Topical Honey Dressing in Decubitus Ulcer. *Asian J Med Sci* [Internet]. 2015 ;6(4):99–101. Available from: <https://www.nepjol.info/index.php/AJMS/article/view/11616>
 79. Saha A, Sur P, Md. Azam, Chattopadhyay S. The role of honey in healing of bedsores in cancer patients. *South Asian J Cancer* [Internet]. 2012;1(2):66. Available from: <http://journal.sajc.org/text.asp?2012/1/2/66/103714>
 80. Centre Hospitalier Universitaire de Nîmes. Efficacy and Tolerance of Honey-impregnated Dressings in the Local Management of Pressure Ulcers (MeliCare) [ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02373956] US National Institutes of Health, ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/> acedido a 3 de outubro de 2020.
 81. Thomas M, Hamdan M, Hailes S, Walker M. Manuka honey as an effective treatment for chronic pilonidal sinus wounds. *J Wound Care*. 2011;20(11):528–33.
 82. Haidari M, Nazer MR, Ahmadinejad M, Almasi V, Khorramabadi MS, Pournia Y. Honey in the treatment of fournier’s gangrene as an adjuvant: A cross sectional study. *J Pak Med Assoc*. 2014;64(5):571–3.
 83. Lund-Nielsen B, Adamsen L, Kolmos HJ, Rørth M, Tolver A, Gottrup F. The effect of honey-coated bandages compared with silver-coated bandages on treatment of malignant wounds-a randomized study. *Wound Repair Regen*. 2011;19(6):664–70.

84. Rajput M, Mandal M, Anura A, Mukhopadhyay A, Subramanian B, Paul RR, et al. Honey loaded silk fibroin 3D porous scaffold facilitates homeostatic full-thickness wound healing. *Materialia*. 2020;12.
85. Robson V, Dodd S, Thomas S. Standardized antibacterial honey (Medihoney™) with standard therapy in wound care: Randomized clinical trial. *J Adv Nurs*. 2009;65(3):565–75.
86. Gulati S, Qureshi A, Srivastava A, Kataria K, Kumar P, Ji AB. A Prospective Randomized Study to Compare the Effectiveness of Honey Dressing vs. Povidone Iodine Dressing in Chronic Wound Healing. *Indian J Surg*. 2014;76(3):193–8.
87. Dubhashi SP, Sindwani RD. A Comparative Study of Honey and Phenytoin Dressings for Chronic Wounds. *Indian J Surg*. 2015;77:1209–13.
88. Suryaprakash A, Tejaswini V, Girish K, Vikram S. Efficacy of honey dressing versus mechanical debridement in healing of ulcers with biofilms a comparative study. *J Krishna Inst Med Sci Univ*. 2018;7(2):49–55.
89. Zeleníková R, Vyhlídalová D. Applying honey dressings to non-healing wounds in elderly persons receiving home care. *J Tissue Viability [Internet]*. 2019;28(3):139–43. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jtv.2019.04.002>
90. Hixon KR, Klein RC, Eberlin CT, Linder HR, Ona WJ, Gonzalez H, et al. A Critical Review and Perspective of Honey in Tissue Engineering and Clinical Wound Healing. *Adv Wound Care [Internet]*. 2019;8(8):403–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31737423/>