

## Medical Honey for Canine Nasal Intertrigo: A Randomized, Blinded, Placebo-controlled, Adaptive Clinical Trial to Support Antimicrobial Stewardship in Veterinary Dermatology

Gabrielle Brosseau, DMV, IPSAV, Dermatology resident  
Centre Vétérinaire DMV, Montreal, QC

Co-investigators: Nadia Pagé, DMV, MSc, Dipl. ACVD, Caroline de Jaham, DMV, MSc, Dipl. ACVD, Jérôme R.E. del Castillo, DMV, IPSAV, MSc, Ph.D.

**This study received the 2018 CAVD Research Grant**  
**Introduction**

Bacterial resistance to antibiotics has emerged as a global issue in treating infectious diseases in both humans and animals and alternatives to standard therapies are needed [1]. Intertrigo is a frictional dermatitis that can occur when two skin surfaces are intimately apposed, leading to poor ventilation, accumulation of debris and secretions, which promote the development of secondary infection [2]. The condition is more commonly encountered in brachycephalic [3, 4], obese [4] and atopic dogs. Unless the underlying causes are controlled or corrected, intertrigo is likely to recur and require frequent treatments with topical antiseptics or antibiotics [2], which can select for antimicrobial resistance. Published antibiotic use guidelines for the treatment of skin infections emphasize the use of topical antibiotics or antiseptics as a sole treatment for surface or superficial pyoderma in small animals [6, 7]. High quality, randomized controlled trials evaluating the efficacy of topical formulations against bacterial and yeast skin diseases in our veterinary patients are scarce [8]. Furthermore, resistance to some of their ingredients (e.g. fusidic acid, mupirocin and chlorhexidine) is emerging in human and veterinary medicine [9, 10, 11]. Finding efficacious alternative topical treatments to treat intertrigo may save these antimicrobials for more severe skin infections. Medical-grade honey (MGH), which is developed under standardized conditions and sterilized by gamma irradiation, [12] could be a promising alternative for treating intertrigo and other surface/superficial skin infections in small animals [8].

### Hypothesis/Objectives

The purpose of this study was to evaluate the use of a 100% pure MGH (MediHoney®) as an alternative to topical antimicrobials in the control of canine nasal intertrigo. Based on its active substances, its known efficacy in human intertrigo [13], and the resemblance between the canine and human forms of this skin disorder, we hypothesized that MediHoney® would be safe and clinically more effective than a placebo hydrogel at treating canine nasal intertrigo. The main objective of this study was (1) to compare the severity of intertrigo lesions and cytological findings before and after a 21-day treatment with either the MGH or the placebo hydrogel. The secondary objectives were (2) to assess how each treatment affected the culturable local microbial flora, which is currently undescribed, and (3) to record any adverse effects.

## Miel médical pour l'intertrigo nasal canin : essai clinique adaptatif, contrôlé par placebo, mené à l'insu avec répartition aléatoire, pour appuyer l'utilisation responsable des antimicrobiens en dermatologie vétérinaire

Gabrielle Brosseau, D.M.V., I.P.S.A.V., résidente en dermatologie  
Centre vétérinaire DMV, Montréal, QC

Co-investigateurs : Nadia Pagé, D.M.V., M.Sc., dipl. ACVD; Caroline de Jaham, D.M.V., M. Sc., dipl. ACVD; Jérôme R. E. del Castillo, D.M.V., I.P.S.A.V., M. Sc., Ph. D.

**Cette étude a reçu une subvention de recherche de la CAVD en 2018.**

### Introduction

La résistance des bactéries aux antibiotiques est devenue un problème mondial dans le traitement des maladies infectieuses chez l'humain et les animaux; il est donc nécessaire de trouver des solutions alternatives aux traitements usuels [1]. L'intertrigo est une dermatite de friction qui peut survenir lorsque deux surfaces cutanées sont intimement apposées, ce qui entraîne une mauvaise aération et une accumulation de débris et de sécrétions propices au développement d'une infection secondaire [2]. Cette affection est plus fréquente chez les chiens brachycéphales [3, 4], obèses [4] et atopiques. Si les causes sous-jacentes ne sont pas maîtrisées ou corrigées, l'intertrigo est susceptible de réapparaître et nécessitera des traitements fréquents au moyen d'antiseptiques topiques ou d'antibiotiques [2], ce qui peut entraîner une sélection en faveur des microorganismes résistants. Les lignes directrices publiées sur l'utilisation des antibiotiques pour le traitement des infections cutanées mettent l'accent sur l'usage d'antiseptiques ou d'antibiotiques topiques comme traitement unique de la pyoderme de surface ou superficielle chez les animaux de compagnie [6, 7]. Les essais contrôlés randomisés de qualité évaluant l'efficacité des préparations topiques contre les dermatoses bactériennes et à levures chez les patients vétérinaires sont rares [8]. De plus, une résistance à certains de leurs ingrédients (par exemple à l'acide fusidique, à la mupirocine et à la chlorhexidine) fait son apparition en médecine humaine et vétérinaire [9, 10, 11]. Trouver des produits topiques de remplacement efficaces pour traiter l'intertrigo pourrait permettre de réserver ces antimicrobiens aux infections cutanées plus graves. Le miel de qualité médicale, produit dans des conditions standardisées et stérilisé par irradiation gamma [12], pourrait être une solution alternative prometteuse pour le traitement de l'intertrigo et d'autres infections cutanées de surface/superficielles chez les animaux de compagnie [8].

### Hypothèse et objectifs

Le but de cette étude était d'évaluer l'utilisation d'un miel de qualité médicale pur à 100 % (MediHoney®) au lieu des antimicrobiens topiques pour la maîtrise de l'intertrigo nasal canin. D'après ses substances actives, son efficacité connue pour l'intertrigo humain [13] et la ressemblance entre les formes canine et humaine de ce trouble cutané, nous avons émis l'hypothèse que MediHoney® serait sécuritaire et cliniquement plus efficace qu'un hydrogel placebo pour le traitement de l'intertrigo nasal canin. Le principal objectif de l'étude était (1) de comparer la gravité des lésions d'intertrigo et les résultats cytologiques avant et après un traitement de 21 jours avec le miel de qualité médicale ou l'hydrogel placebo. Les objectifs secondaires étaient (2) d'évaluer comment chaque traitement affectait la flore microbienne locale cultivable, qui est actuellement non décrite, et (3) de noter les éventuels effets indésirables.

## Methods and materials

### Ethical approval

The University of Montreal Animal Bioethics Committee approved the study protocol and the owner informed consent form.

### Study design

This study is a randomized, placebo-controlled, double-blinded, adaptive trial.

### Animals

We recruited incoming cases diagnosed with nasal intertrigo at Centre Vétérinaire DMV between March 2018 and February 2019. The dogs were recruited irrespectively of breed, sex or age. Additional cases were recruited through brachycephalic dog breed social media groups. Each owner signed an informed consent form prior to starting the study and was entitled to withdraw his or her dog from the trial at any time and for any reason. A number of exclusion criteria were applied.

### Intervention

During the trial, the owners washed the affected sites with water, dried and applied a thin film of either the honey (MediHoney® Wound & Burn Dressing tubes, Integra LifeSciences, Princeton, New Jersey, United States) or the placebo (placebo hydrogel made of starch, glycerol and a pluronic lecithin mixture, supplemented with 1% v/w of ethyl phenylacetate 98% purity) once daily for 21 days. Cytological and clinical composite scores, owner-assessed pruritus, and bacterial cultures were assessed prior to treatment and on Day 22. Cytology was assessed as previously described [14] and clinical severity was graded with the Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index, version 4 (CADESI-4) [15]. The owner-assessed pruritus was assessed with a visual analog scale (PVAS) [16]. On Day 22, dogs with inadequate improvement (i.e. composite clinical score > 2) were eligible for a treatment with a once daily 2% chlorhexidine solution. A reevaluation was recommended on Day 42 and, if the lesions did not sufficiently improve, a topical antibiotic was prescribed based on the Day 22 culture.

### Data analysis

The fixed effects of time, treatment, and animal-related variables on the pruritus and on each composite score, accounting for random dog effect, were estimated separately with generalized linear mixed models for repeated count outcomes ( $\alpha=0.05$ ).

### Results

Thirty-five (35) dogs were recruited, 19 of which received the placebo and 16 the MGH. Of these, 30 dogs completed the trial (17 treated with placebo and 13 with MGH), but the data of one placebo dog was unused because his chronic allergy medication was interrupted by the owner during the trial, breaching the exclusion criteria. Consequently, we performed the interim statistical analysis with the pre/post data of 16 dogs treated with placebo and 13 with MGH. Of the five dogs not completing the study, one in each group was withdrawn because of suspected adverse reactions to their treatment (increased redness or itching of the treated area), and the other three (two placebo and one MGH) were lost to follow-up. The majority of recruited dogs were Pugs (14/29) and English Bulldogs (13/29), the rest being French Bulldogs.



Figure 1.

Medical-grade honey and placebo

Miel de qualité médicale et placebo

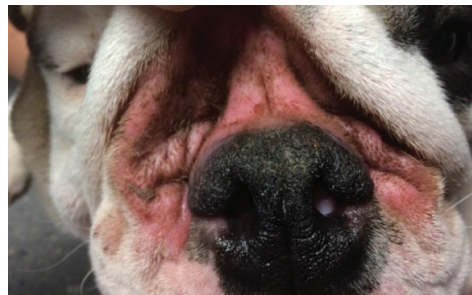


Figure 2.

Study patient prior to treatment

Patient admis à l'étude, avant le traitement

## Matériel et méthodes

### Approbation éthique

Le comité de bioéthique animale de l'Université de Montréal a approuvé le protocole de l'étude et le formulaire de consentement éclairé du propriétaire.

### Protocole de l'étude

L'étude est un essai adaptatif contrôlé par placebo, avec répartition aléatoire, mené à double insu.

### Animaux

Nous avons recruté les cas vus au Centre Vétérinaire DMV avec un diagnostic d'intertrigo nasal entre mars 2018 et février 2019. Les chiens ont été admis à l'étude sans égard à leur race, leur sexe ou leur âge. D'autres cas ont été recrutés dans des groupes consacrés à des races de chiens brachycéphales sur les médias sociaux. Chaque propriétaire participant a signé un formulaire de consentement éclairé avant l'admission de son chien à l'étude, et avait le droit de retirer son chien de l'étude à tout moment pour quelque raison que ce soit. Un certain nombre de critères d'exclusion ont été observés.

### Intervention

Au cours de l'étude, les propriétaires devaient laver les sites affectés avec de l'eau, les sécher,

puis appliquer une fine pellicule de miel (tubes MediHoney® Wound & Burn Dressing, Integra LifeSciences, Princeton, New Jersey, États-Unis) ou de placebo (hydrogel placebo composé d'amidon, de glycérol et d'un mélange de lécithine pluronique, additionné de phénylacétate d'éthyle pur à 98 % à 1% v/p), une fois par jour pendant 21 jours. Les scores composés des examens cytologiques et cliniques, le prurit évalué par le propriétaire et les cultures bactériennes ont été évalués avant le traitement et au jour 22. La cytologie a été réalisée comme décrit antérieurement [14] et la gravité clinique a été déterminée au moyen l'indice de gravité et d'étendue de la dermatite atopique canine, version 4 (CADESI-4) [15]. Le prurit évalué par le propriétaire l'a été au moyen d'une échelle visuelle analogique (PVAS) [16]. Au jour 22, les chiens qui présentaient une amélioration insuffisante (c'est-à-dire un score composé > 2) pouvaient faire l'objet d'un traitement par une solution de chlorhexidine à 2 % une fois par jour. Une réévaluation était recommandée au jour 42 et, si les lésions ne s'étaient pas suffisamment améliorées, un antibiotique topique était prescrit en fonction des résultats de la culture effectuée au jour 22.

### Analyse des données

Les effets fixes du temps, du traitement et des variables liées à l'animal sur le prurit et sur chaque score composé, en tenant compte de l'effet aléatoire individuel, ont été estimés séparément au moyen de modèles mixtes linéaires généralisés pour les mesures répétées ( $\alpha = 0,05$ ).

### Résultats

Au total, 35 chiens ont été recrutés, dont 19 ont été traités par le placebo et 16 par le miel de qualité médicale. Des 35 chiens admis, 30 ont terminé l'essai (17 traités par le placebo et 13 traités par le miel de qualité médicale), mais les données d'un chien du groupe placebo n'ont pas été utilisées parce que l'administration de son médicament contre les allergies chroniques a été interrompue par le propriétaire pendant l'essai, ce qui était un motif d'exclusion. Par conséquent, nous avons effectué l'analyse statistique provisoire avec les données avant et après le traitement de 16 chiens traités par le placebo et de 13 chiens traités par le miel de qualité médicale. Parmi les cinq chiens qui n'ont pas terminé l'étude, un dans chaque groupe a été

The most frequently isolated microorganisms were methicillin-susceptible *Staphylococcus pseudintermedius* (MSSP, in 19/29 cases), *Streptococcus canis* (15/29), *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* (7/29 both).

The null hypothesis of equal treatment effects was rejected at the first interim analysis. The placebo outperformed the MGH at improving both the cytological ( $P = 0.044$ ) and clinical ( $P = 0.043$ ) severity scores. A microbial burden score  $> 4$  (based on culture) increased the severity of cytological score ( $P = 0.013$ ), which in turn increased the severity of clinical scores ( $P = 0.034$ ). However, MGH outperformed the placebo at relieving the dogs' pruritus ( $P = 0.035$ ).

#### Discussion

The significant anti-pruritic effect of MGH noted in this study mirrors the results of a clinical trial where MGH was tested in human patients with the same skin disease [13]. The canine anti-pruritic compounds in honey are not fully elucidated, but may include its flavonoids chrysin and galangin [17].

MGH was ineffective at improving the cytological and clinical aspects of canine nasal intertrigo. This result was surprising as the in vitro antimicrobial activity of Manuka honey is well reported in numerous studies. We hypothesize these disappointing results of MGH relate to its high methylglyoxal content, the main antimicrobial agent of Manuka honey [18, 19]. At high concentrations, methylglyoxal can cause oxidative stress, as well as protein and DNA damage to keratinocytes [20].

The most common microorganism in this study was MSSP, a skin commensal whose preponderance as a pathogen is consistent with other types of superficial skin infections [2, 21]. The other agents isolated were also consistent with other study findings from the canine nasal passages, dorsal nose and labial intertrigo [3, 22, 23].

The microbial burden increased the severity of cytological scores, which in turn increased the severity of clinical scores, reflecting the crucial and active component of the microbial burden in canine nasal fold dermatitis. The majority of intertrigo cases were polymicrobial on bacterial culture. However, it is highly possible that other microorganisms undetectable with standard culture techniques were also present. Culture-independent studies using next-generation sequencing methods have shown that the dog skin surface is inhabited by an extremely diverse microbiota, which clinical importance still is largely unknown [24]. Microbiota characterization techniques were not available for this study, but the impact of the microbial burden on the severity of intertrigo lesions demonstrated in this study warrants further research to establish the relationships between its microbiota composition and pathogenesis.

To the best of our knowledge, this is the first study to use an adaptive trial design with patients in a private veterinary hospital, and the second one to use it in veterinary medicine [25]. This type of clinical trial evaluates a treatment by

retiré en raison de suspicion d'effets indésirables du traitement (aggravation des démangeaisons ou de la rougeur de la zone traitée), et les trois autres (deux recevant le placebo et un traité par le miel de qualité médicale) ont été perdus de vue durant le suivi. La majorité des chiens recrutés étaient des carlins (14/29) et des bouledogues anglais (13/29), les autres étaient des bouledogues français. Les microorganismes les plus souvent isolés étaient *Staphylococcus pseudintermedius* sensible à la méthicilline (SPSM, 19/29 chiens), *Streptococcus canis* (15/29 chiens), *Escherichia coli* (7/29 chiens) et *Pseudomonas aeruginosa* (7/29 chiens). L'hypothèse nulle d'égalité des effets des traitements a été rejetée lors de la première analyse provisoire. Le placebo a surpassé le miel de qualité médicale pour l'amélioration des scores de gravité cytologique ( $p = 0,044$ ) et clinique ( $p = 0,043$ ). Un score de charge microbienne  $> 4$  (basé sur la culture) a fait augmenter le score de gravité cytologique ( $p = 0,013$ ), qui à son tour a fait augmenter le score de gravité clinique ( $p = 0,034$ ). Cependant, le miel de qualité médicale a surpassé le placebo en ce qui a trait au soulagement du prurit des chiens ( $p = 0,035$ ).

#### Discussion

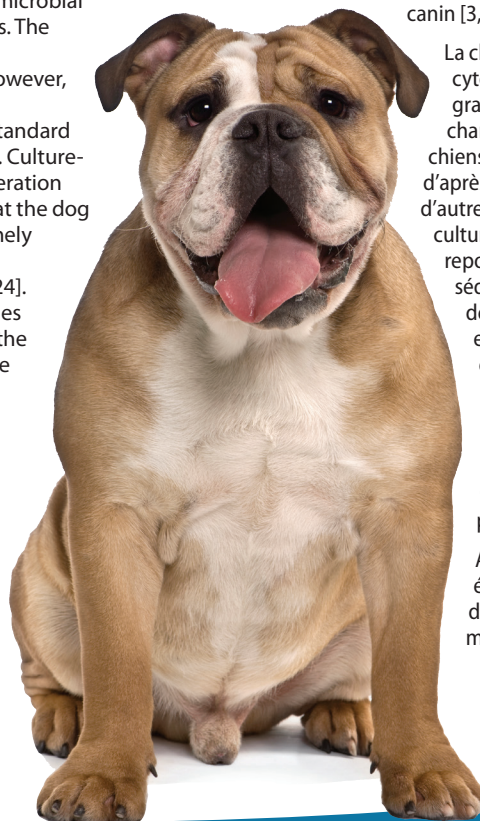
L'effet antiprurigineux significatif du miel de qualité médicale observé durant cette étude reflète les résultats d'un autre essai clinique durant lequel le miel de qualité médicale a été testé chez des patients humains atteints de la même maladie cutanée [13]. On ne sait pas exactement quels composés du miel ont des effets antiprurigineux chez les chiens, mais cela pourrait être la chrysin et la galangine (des flavonoïdes) [17].

Le miel de qualité médicale a été inefficace pour améliorer les aspects cytologiques et cliniques de l'intertrigo nasal canin. Ce résultat était surprenant, car l'activité antimicrobienne in vitro du miel de Manuka est rapportée dans de nombreuses études. Nous émettons l'hypothèse que ces résultats décevants du miel de qualité médicale sont liés à sa teneur élevée en méthylglyoxal, le principal agent antimicrobien du miel de Manuka [18, 19], puisqu'à des concentrations élevées, le méthylglyoxal peut provoquer un stress oxydatif, ainsi que des dommages aux protéines et à l'ADN des kératinocytes [20].

Le microorganisme le plus courant durant cette étude était SPSM, un commensal cutané dont la prépondérance en tant qu'agent pathogène est compatible avec d'autres types d'infections cutanées superficielles [2, 21]. Les autres agents isolés étaient également cohérents avec d'autres résultats d'études sur l'intertrigo nasal, facial (aspect dorsal du nez) et labial canin [3, 22, 23].

La charge microbienne a fait augmenter les scores de gravité cytologique, qui à leur tour ont fait augmenter les scores de gravité clinique, reflétant la composante cruciale et active de la charge microbienne dans la dermatite des plis nasaux chez les chiens. La majorité des cas d'intertrigo étaient polymicrobiens d'après la culture bactérienne. Cependant, il est fort possible que d'autres microorganismes indétectables avec les techniques de culture usuelles aient également été présents. Des études ne reposant pas sur la culture et utilisant des méthodes de séquençage de nouvelle génération ont montré que la surface de la peau du chien est habitée par un microbiote extrêmement diversifié, dont l'importance clinique est encore largement inconnue [24]. Les techniques de caractérisation du microbiote n'étaient pas disponibles pour la présente étude, mais l'impact de la charge microbienne sur la gravité des lésions d'intertrigo démontré dans l'étude justifie de la recherche supplémentaire pour investiguer les relations entre la composition du microbiote et la pathogénèse.

Au meilleur de nos connaissances, il s'agit de la première étude à utiliser un modèle d'essai adaptatif avec des patients d'un hôpital vétérinaire privé, et la seconde à le faire en médecine vétérinaire [25]. Ce type d'essai clinique évalue un



observing participant outcomes (and other measures, such as side-effects) on a prescribed schedule, and modifying parameters of the trial protocol in accordance with those observations at a predefined time-point during the study.

Our study has several limitations. First, a large proportion of the patients had a history of allergies, which could influence the lesion scores. The environment and nutrition were not standardized, and it is unknown if they could have influenced the results. Additionally, the application technique was identical for both products and explained identically to all owners, but inter-owner variation in the application is possible.

#### Conclusion

To conclude, medical grade Manuka honey is not recommended as an alternative to topical antimicrobial therapy in the control of canine nasal intertrigo, as its therapeutic efficacy was equal or inferior to the placebo in the present study. This study, however, enhanced knowledge concerning the in vivo uses of MGH in dogs and in the culturable microbial flora of the nasal fold. Further studies are necessary to validate and better document the efficacy of antimicrobial alternatives to antibiotics in veterinary medicine.

#### Acknowledgments

The authors would like to thank the participating dog owners, Gentès & Bolduc Pharmacists, Dr. Hani Dick (Idexx reference laboratory, Brampton ON) and Valérie Fleury-Gravel for the randomization of cases and explanations to the dog owners.

#### Sources of funding

Canadian Academy of Veterinary Dermatology Research Grant and Centre Vétérinaire DMV

#### Conflicts of interest

None declared

**Citation:** Brosseau G, Pagé N, de Jaham C, del Castillo JRE (2020) Medical honey for canine nasal intertrigo: A randomized, blinded, placebo-controlled, adaptive clinical trial to support antimicrobial stewardship in veterinary dermatology. PLoS ONE 15(8): e0235689. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235689>

traitement en observant les résultats des participants (et d'autres mesures, comme les effets secondaires) selon un calendrier prescrit, et en modifiant les paramètres du protocole de l'essai conformément à ces observations à un moment prédéfini au cours de l'étude.

Notre étude avait plusieurs limites. Tout d'abord, une grande proportion des patients avaient des antécédents d'allergies, ce qui pourrait avoir influencé les scores des lésions. L'environnement et la nutrition n'étaient pas uniformisés, et on ne sait pas s'ils auraient pu avoir un impact sur les résultats. De plus, même si la technique d'application était identique pour les deux produits et expliquée de la même manière à tous les propriétaires, des différences dans l'application du produit d'un propriétaire à l'autre demeurent possibles.

#### Conclusion

Le miel de Manuka de qualité médicale n'est pas recommandé comme alternative au traitement antimicrobien topique pour la maîtrise de l'intertrigo nasal canin, car son efficacité thérapeutique a été égale ou inférieure à celle du placebo durant la présente étude. Cela dit, cette étude a amélioré nos connaissances sur les utilisations in vivo du miel de qualité médicale chez les chiens et sur la flore microbienne cultivable des plis nasaux. D'autres études sont nécessaires pour valider et mieux documenter l'efficacité des alternatives antimicrobiennes aux antibiotiques en médecine vétérinaire.

#### Remerciements

Les auteurs remercient les propriétaires de chiens participants, les pharmaciens Gentès et Bolduc, Hani Dick (Laboratoire de référence Idexx, Brampton, Ontario) et Valérie Fleury-Gravel pour la répartition aléatoire des cas et les explications aux propriétaires de chiens.

#### Sources de financement

Subvention de recherche de l'Académie canadienne de dermatologie vétérinaire (CAVD) et Centre vétérinaire DMV

#### Conflits d'intérêts

Aucun déclaré

**Citation :** Brosseau G, Pagé N, de Jaham C, del Castillo JRE (2020) Medical honey for canine nasal intertrigo: A randomized, blinded, placebo-controlled, adaptive clinical trial to support antimicrobial stewardship in veterinary dermatology. PLoS ONE 15(8): e0235689. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235689>

The Canadian Academy of Veterinary Dermatology Bulletin is published two times per year by the Canadian Academy of Veterinary Dermatology, with office located at 20 Crown Steel Drive, Unit 6, Markham, ON. The publisher and the Canadian Academy of Veterinary Dermatology shall not be liable for any of the views expressed by the authors published in the Canadian Academy of Veterinary Dermatology Bulletin, nor shall these opinions necessarily reflect those of CAVD, or the publisher. Every effort has been made to ensure the information provided herein is accurate and in accord with standards accepted at the time of printing.

*Le Bulletin* de l'Académie canadienne de dermatologie vétérinaire est publié deux fois par année par l'Académie canadienne de dermatologie vétérinaire, dont le bureau est situé au 20 Crown Steel Drive, Unit 6, Markham, Ontario. Ni le rédacteur en chef ni l'Académie canadienne de dermatologie vétérinaire ne sont responsables des opinions exprimées par les auteurs des articles publiés dans *Le Bulletin* de l'Académie canadienne de dermatologie vétérinaire, et ces opinions ne reflètent pas nécessairement celles de l'Académie canadienne de dermatologie vétérinaire ni celles du rédacteur en chef. Toutes les précautions ont été prises pour s'assurer que l'information fournie est exacte et conforme aux normes acceptées au moment de l'impression.