

! *Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.*

ELŻBIETA SZKILER

CHARAKTERYSTYKA, DIAGNOZA I LECZENIE BIOFILMU. PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA

BIOFILM CHARACTERISTICS, DIAGNOSIS AND TREATMENT. LITERATURE REVIEW

ORCID: 0000-0002-4066-1212

STRESZCZENIE: Pokrywający większość ran niegojących się biofilm zaczyna tworzyć się w ciągu kilku minut po kolonizacji rany przez bakterie planktoniczne, a po upływie 2 godzin trwale przywiera do podłoża. Antybiotykoterapia stosowana tradycyjnie w leczeniu ran zapewnia subkliniczne dawki leku w tkankach i powoduje wyłącznie oporność drobnoustrojów oraz nawracanie infekcji. Oczyszczanie, nawet doszczętne, przez specjalistę chirurgii może spowodować infekcję tkanek głębokich, jeżeli w ciągu 24 godzin nie zostanie zastosowany stale działający antyseptyk, a także odnowienie biofilmu w ciągu 72 godzin.

Indywidualna Specjalistyczna Praktyka
Pielęgniarska w Elblągu,
ul. Bema 80/3–4, 82-300 Elbląg,
e-mail: elzbieta.szkiller@onet.pl

Wpłynęło: 25.10.2021

Zaakceptowano: 17.11.2021

DOI: dx.doi.org/10.15374/FLR2021022

SŁOWA KLUCZOWE: biofilm, macierz egzopolimerowa, quorum sensing

ABSTRACT: Most non-healing wounds are covered with biofilm, which begins to form a few minutes after the wound is colonized by planktonic bacteria and is permanently attached to the substrate 2 hours later. Traditional antibiotic therapy used to treat wounds provides sub-clinical doses of the drug in the tissues and only causes microbial resistance and recurrence of infection. Even complete debridement by a surgeon can infect deep tissues if not applied with a permanent antiseptic within 24 hours, and also cause biofilm renewal within 72 hours.

KEY WORDS: biofilm, matrix, quorum sensing

WSTĘP

Wszystkie rany niegojące się, w tym owrzodzenia, są wyłącznie objawem współistniejących chorób przewlekłych. Owrzodzenie powstaje wskutek urazu tkanki, której struktury zostały wcześniej zmienione chorobowo, pod nieprzerwaną skórą, u pacjentów cierpiących na choroby przewlekłe, np.: cukrzycę, miażdżycę, przewlekłą niewydolność żylną (PNŻ) czy niedożywienie [3]. Zależnie od etiologii i istniejących czynników ryzyka owrzodzenia powstają w różnych miejscach ciała, jednak (poza odleżynami) w większości dotyczą kończyn dolnych i zaczynają goić się po wyleczeniu lub ustabilizowaniu choroby podstawowej będącej etiologią rany [3]. Brak cech gojenia owrzodzeń we właściwym czasie, mimo prawidłowo dobranego postępowania miejscowego, jest zawsze oznaką zakażenia tkanek bakteriami biofilmowymi. Proces gojenia tkanek ulega opóźnieniu, jeżeli w ranie rozwija się $>10^5$ jednogatunkowych bakterii lub rana zostaje skolonizowana przez co najmniej cztery rodzaje drobnoustrojów [18]. Objawy infekcji rany pojawiają się, gdy dochodzi do uszkodzenia tkanek przez replikujące się bakterie [18]. Pierwsze, klasyczne oznaki infekcji w ranie (zaczerwienie,

obrzęk, zwiększona miejscowo temperatura, ból) mogą pojawić się w ciągu 1 godziny od momentu zranienia, chociaż większość ran zostaje skolonizowana w ciągu 48 godzin [18, 39]. Przyczyną tej różnicy jest fizjologiczna odpowiedź organizmu na uraz – wolne rodniki, hipoksja, czynniki prozapalne (np. makrofagi, neutrofile, leukocyty), które w każdej ranie ostrej i przewlekłej wywołują objawy klasyczne stanu zapalnego. W niezakażonych ranach ostrej fazy zapalna trwa 1–7 dni, natomiast w ranach trudno gojących się, w tym owrzodzeniach, faza zapalna ulega zatrzymaniu i wydłużeniu, co ułatwia drobnoustrojom kolonizację tkanek [1, 3]. W ciągu kilku minut od kolonizacji rany następują zmiany w genach bakterii planktonicznych, które zaczynają produkować macierz egzopolimerową (ang. extracellular polymeric substances – EPS), nazywaną glikokaliksem lub matrixem [8, 9, 12, 47, 54]. Po kolejnych 2 godzinach zaczyna tworzyć się niewidoczny dla oka ludzkiego biofilm przywarły do podłoża, który nierównomiernie penetruje tkanki na głębokość 50–70 mikronów [48]. Po 4–6 godzinach od kolonizacji zaczyna rozwijać się odporność na czynniki immunologiczne gospodarza, antybiotyki i czynniki środowiskowe. Po 48–72 godzinach dojrzały biofilm jest wysoce odporny na czynniki

! Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

zewnętrzne i zaczyna emitować bakterie planktoniczne kolonizujące zarówno kolejne powierzchnie biotyczne (skóra i tkanki), jak i abiotyczne (powierzchnie nieożywione) [36]. Zaburzeń gojenia ran nie powoduje jednak obecność drobnoustrojów planktonicznych w tkankach, a rozwijający się biofilm [5].

CHARAKTERYSTYKA BIOFILMU

Biofilm powstaje w tkance zmienionej chorobowo – indukuje stan zapalny i opóźnia gojenie. Wilgotne środowisko ran i zła kontrola wysięku z dużą ilością składników odżywczych znacząco ułatwiają rozwój biofilmu [18, 35]. Bakterie biofilmowe wykorzystują do przeżycia tlen w zajętych tkankach, doprowadzając do miejscowej hipoksji; zużywają wysokowartościowe jony metali (do przeżycia bakterii: mangan i żelazo; do budowy glikokaliksu: wapń i magnez), zwiększają ilość prozapalnych cytokin, powodują wzrost wolnych rodników i proteaz degradujących tkanki i opóźniających gojenie, a także podwyższają pH tkanek, tworząc środowisko zasadowe, które ułatwia bakteriom rozwój i przeżycie [15, 36, 48, 49, 53]. Według niektórych doniesień biofilm rozwija się w 60% ran niegojących się i w 9% ran ostrych, natomiast część źródeł podaje, że występuje on w 78% ran dawniej zwanych przewlekłymi oraz w 100% ran zwanych trudnymi do wygojenia [18, 34]. Najczęściej spotykanymi bakteriami w ranach zakażonych są: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* i *Pseudomonas aeruginosa* [18]. Zależnie od rodzaju drobnoustrojów kolonizujących rany powstający biofilm może mieć inną grubość. Bakterie Gram-ujemne produkują glikokaliks grubości 10^4 – 10^7 CFU/cm², natomiast bakterie Gram-dodatnie 10^9 – 10^{12} CFU/cm² bakterii w czasie dojrzewania biofilmu (48–72 godziny) [22]. Wykazano, że masa biofilmu *in vivo* wynosi w tkankach 4–200 μm, na ciałach obcych, np. cewnikach, 5–1200 μm [27]. Jednak odpowiedź immunologiczna gospodarza może zwiększyć masę biofilmu poprzez przyłączanie płytek krwi i fibryny do macierzy egzopolimerowej otaczającej bakterie [25].

Bakterie biofilmowe różnią się także głębokością penetracji tkanek. Biofilm *Streptococcus aureus* penetruje tkanki na głębokość 20–30 mikronów, zaś biofilm *Pseudomonas aeruginosa* na głębokość 50–60 mikronów [7]. Jest to warunkowane różnicą w budowie błony komórkowej bakterii. Dzięki grubej błonie komórkowej pokrytej wielowarstwowym peptydoglikanem (mureiną) bakterie Gram-dodatnie posiadają naturalną odporność na większość czynników zewnętrznych [55]. Bakterie Gram-dodatnie produkują egzotoksyny wywołujące odpowiedź immunologiczną gospodarza i ulegają rozpadowi pod wpływem kwasów, enzymów trawiennych oraz wysokiej temperatury. Natomiast bakterie Gram-ujemne produkują endotoksyny warunkujące ich chorobotwórczość, wrażliwość na antybiotyki i antyseptyki.

Są one uwalniane do otoczenia po ich śmierci i rozpadzie komórki [35]. Niektóre bakterie produkują proteazy prowadzące do degradacji kolagenu, elastyny i fibronektyny, co powoduje trwałe uszkodzenie tkanek (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, mykobakterie, *Shigella*, *Staphylococci*) [10].

Termin „biofilm” został wprowadzony do mikrobiologii klinicznej w 1985 r., ale dopiero w 2008 r. stwierdzono obecność biofilmu w badaniach mikroskopii elektronowej [24, 34]. Udowodniono, że bakterie posiadają naturalną odporność na 14 nowoczesnych antybiotyków syntetycznych i wysoką tolerancję dla niesprzyjających warunków środowiskowych [8, 9]. Ma to znaczenie przy podejmowaniu decyzji klinicznych. Stosowane obecnie metody badania mikrobiologicznego (badanie bioptatu lub posiew i antybiogram) oraz schematy antybiotykoterapii zostały przygotowane w latach 80. ubiegłego wieku dla bakterii planktonicznych, a więc wcześniej lub jednocześnie z początkiem rozwoju wiedzy na temat biofilmu. Antybiotykoterapię stosuje się w leczeniu infekcji bakteriami planktonicznymi i stanowi ona złoty standard leczenia ostrych infekcji [7]. Infekcje przewlekłe (chroniczne), szczególnie w ranach niegojących się, charakteryzują się obecnością biofilmu, który skutecznie chroni bakterie m.in. przed działaniem substancji przeciwdrobnoustrojowych – antybiotyków i „starych” antyseptyków [7]. Ponadto uspienie metaboliczne drobnoustrojów w warstwie podstawnej biofilmu, hipoksja tkanek wywoływana przez biofilm, obecność zaburzonej perfuzji tkanek oraz patologiczne zasadowe pH (7–9) powodują brak skuteczności antybiotyków [7, 43]. Infekcje biofilmowe są odporne na tradycyjne leczenie antybiotykami i szybko ulegają nawrotom [51]. Gojenie tkanek jest możliwe, jeżeli pH zostanie obniżone do neutralnego (5–6), a uzyskanie efektów gojenia następuje przy pH kwaśnym (<4) [21, 39].

Na zakażenie bakteriami biofilmowymi wskazują: brak efektów leczenia, ujemne posiewy mimo ewidentnych objawów infekcji, grudkowa, twarda i lśniąca powierzchnia rany, nawroty infekcji, brak cech gojenia tkanek czy infekcja trwająca >7 dni [7, 19, 24, 44]. Po ponad 14 dniach trwania infekcji biofilmowej u pacjentów występuje specyficzna odpowiedź immunologiczna – wówczas zasadne jest określenie poziomu IgG i IgA [19, 24]. Dla potwierdzenia obecności biofilmu, przy braku innych cech jego obecności i jednoczesnym braku gojenia tkanek, można także wykonać posiew krwi. Jednak wobec często prowadzonego, lecz niezasadnego leczenia antybiotykami każdej infekcji ran, badanie to nie zawsze pozwala na zidentyfikowanie patogenu [19]. Wykrycie obecności bakterii, w tym bakterii biofilmowych, utrudnia lub całkowicie uniemożliwia także nieprawidłowo pobrane badanie mikrobiologiczne [19]. Skutecznymi metodami diagnostyki biofilmu mogą być techniki immunohistochemiczne (w płynach) lub immunofluorescencyjne (w tkankach), ale także zaawansowane techniki obrazowania (PET/CT) i następcze wykonanie biopsji [19]. Obrazowanie fluorescencyjne Moleculight

! Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

iX™ umożliwia szybką identyfikację zakażenia w łożysku rany oraz w tkankach wokół rany. Jak wykazano w badaniach, oświetlenie tkanek światłem fioletowym o niskiej częstotliwości obrazuje obecność bakterii w czasie rzeczywistym, stanowiąc bezpieczną i bezdotykową metodę diagnostyki biofilmu [23, 51]. Kolejną metodą diagnostyczną jest reakcja łańcuchowa polimerazy (ang. polymerase chain reaction – PCR), która umożliwia wykrywanie patogenów, w tym bakterii, wirusów, pasożytów i grzybów [26]. Inne wykorzystywane metody molekularne to m.in.: spektrometria masowa czasu przelotu (ang. matrix-assisted laser desorption and ionisation – time of flight mass spectrometry – MALDI-TOF MS), hybrydyzacja fluorescencyjna *in situ* (ang. fluorescent *in situ* hybridization – FISH), skaningowa mikroskopia elektronowa (ang. scanning electron microscope – SEM), transmisyjna mikroskopia elektronowa (ang. transmission electron microscope – TEM) i skaningowa konfokalna mikroskopia laserowa (ang. laser scanning confocal microscope – SCLM) [26].

Infekcje biofilmowe występują w ciągu 2 lat od zabiegu u 0,5–2% pacjentów ortopedycznych, u 9–27% pacjentów zaintubowanych oraz u 2–24% pacjentów po przebytej mastektomii. Ponadto 50% cewników (dożylnych, moczowych, stentów) ulega kolonizacji w ciągu 10–14 dni [24].

ZJAWISKO QUORUM SENSING

Quorum sensing (QS) jest mechanizmem komunikacji enzymatycznej drobnoustrojów warunkującym ich rozwój i zjadliwość [4]. Cząsteczki sygnałowe QS emitowane przez drobnoustroje zwane są autoinduktorami i występują pod postacią peptydów z 5–20 aminokwasami u bakterii Gram-dodatnich lub pod postacią małych cząstek organicznych u bakterii Gram-ujemnych [4, 22]. Umożliwiają komunikację wewnątrzgatunkową, wewnątrzrodzajową i międzygatunkową drobnoustrojów [13]. Jednocześnie omijają układ odpornościowy gospodarza, atakują komórki i powodują uszkodzenia tkanek [38]. Cząsteczki sygnałowe emitowane są przez bakterie w stężeniu poniżej progu umożliwiając go ich wykrycie przez 8 różnych systemów. Odbiór cząsteczek sygnałowych przez inne bakterie odbywa się za pomocą receptorów umieszczonych w cytoplazmie lub w błonie komórkowej. Bakteria *Pseudomonas aeruginosa* korzysta z trzech różnych systemów QS, bakterie Gram-dodatnie z dwóch, a Gram-ujemne z jednego [38, 45]. QS kontroluje ekspresję wielu genów, np. tworzenie biofilmu, produkcję toksyn, syntezę egzopolisacharydów, produkcję enzymów zewnątrzkomórkowych, ruchliwość i koniugację plazmidów [4, 16]. Jednak wydaje się, że QS nie jest jeszcze całkowicie poznany. Zgodnie z aktualną wiedzą cząsteczki sygnałowe kumulowane są w komórkach lub eksportowane do środowiska zewnątrzkomórkowego. Część bakterii emituje cząstki sygnałowe, część natomiast wyłącznie je odbiera, np.

Escherichia coli [4]. Niektóre związki chemiczne i enzymy tkankowe, np. paraoksynazy (dwa enzymy produkowane są w wątrobie i nerkach, a jeden enzym w tkankach) mogą zakłócić lub wygasić sygnał QS – proces ten nazywany jest „quorum quenching” (QQ). Zakłócenie QS może być również spowodowane obniżeniem pH i temperatury [16].

LECZENIE BIOFILMU

Złotym standardem leczenia biofilmu jest zastosowanie odpowiednio dobranych antyseptyków w ciągu 24 godzin od usunięcia biofilmu lub naruszenia jego struktur [48]. W leczeniu miejscowym zakażeń ran niegojących się, w tym pokrytych biofilmem, najważniejsze jest regularne mechaniczne oczyszczanie łożyska rany, jednak zaleca się też stosowanie oczyszczania chirurgicznego biofilmu nie rzadziej niż co 7 dni. Należy przy tym pamiętać, że biofilm osadza się także w tkankach głębszych, jako warstwa uśpiona metabolicznie, i oczyszczanie ran może powodować jej uaktywnienie, a w konsekwencji rozwój infekcji tkanek głębokich [43]. Doszczętne oczyszczenie chirurgiczne nie oznacza całkowitego usunięcia biofilmu, ponieważ nawet pojedyncza komórka bakteryjna pozostawiona w tkankach może spowodować jego odnowienie [7].

Terapię pierwszego rzutu w leczeniu ran zakażonych, w tym pokrytych biofilmem, są nowoczesne antyseptyki. Nieprawidłowo zastosowany antyseptyk i opatrunek antibakteryjny po oczyszczeniu mechanicznym może spowodować odnowienie biofilmu w ciągu 24 godzin, a po doszczętnym oczyszczeniu chirurgicznym w ciągu 72 godzin [48].

Nowoczesne środki przeciwdrobnoustrojowe podzielić można na nieselektywne antyseptyki (nie wywołują oporności) i selektywne antybiotyki [39]. Nowoczesne antyseptyki posiadają szersze spektrum bójcze niż antybiotyki [39]. Złoty standard diagnozy zakażenia stanowi biopsja tkanek i wykonanie posiewu ilościowego, ale diagnoza zakażenia ran najczęściej stawiana jest na podstawie obecności klasycznych objawów miejscowych stanu zapalnego [18].

Nowoczesne antyseptyki i ich kombinacje są bardzo skutecznym zamiennikiem antybiotyków w leczeniu ran, jednak niektóre bakterie biofilmowe mogą przeżyć w stężeniach antyseptyków 100–1000 razy wyższych niż bakterie planktoniczne [30, 35, 37]. W celu uzyskania skutecznego działania bójczego należy zapewnić stałe działanie antyseptyku, np. przez regularne wkraplanie albo przez zastosowanie długo działającego żelu [35].

Badania naukowe wykazały naturalną oporność bakterii na 14 nowoczesnych antybiotyków. Oporność ta została stwierdzona w badaniach skamielin sprzed 2–3 mln lat i w badaniu wiecznej zmarzliny sprzed 30 tys. lat, a Sir Aleksander Fleming niebawem po odkryciu penicyliny ostrzegał lekarzy przed wytworzeniem oporności bakterii na penicylinę [8, 35, 42]. Ponadto antybiotyki niszczą mikroflorę

- ! Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

człowieka, ułatwiając wtórne infekcje oportunistycznymi bakteriami tworzącymi biofilm i powodując narastanie oporności na antybiotyki [11]. Skuteczną metodą zapobiegania zakażeniom biofilmowym są terapie barierowe, do których należy stosowanie antyseptyków, opatrunków antybakteryjnych oraz terapia podciśnieniowa (ang. negative pressure wound therapy – NPWT) [18].

Wśród nowoczesnych metod zwalczania infekcji biofilmowych w literaturze światowej podaje się terapie hamujące QS: terapie enzymatyczne (proteiny K, trypsyna, pankreatyna i dyspersyna B), bakteriofagi, nanotechnologię, terapię fagową, ultradźwięki (kąpiele solankowe z ultradźwiękami o niskiej częstotliwości). Właściwości przeciwbiofilmowe posiadają także: molsidominy, chitozan, laktoferyna, ksylitol i gal (stosowany w medycynie w leczeniu hiperkalcemii u pacjentów z przerzutami nowotworu do kości) [26, 35, 46]. Infekcje biofilmowe mogą również zostać zahamowane przez diterpenoidy, np. kwas dehydroabietynowy, polisacharydy otoczkowe, miody medyczne, probiotyki, biomakromolekuły – przeciwdrobnoustrojowe polimery i peptydy [26, 27, 35, 46]. Terapia fagowa zmniejsza gęstość biofilmu o 99,9% i zabija bakterie w ciągu 48 godzin [14]. Bateriafagi to wirusy atakujące i zabijające bakterie, które są stosowane w leczeniu zakażeń wywołanych przez *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Salmonella typhimurium* [29]. Fagi wykorzystują kwasy nukleinowe (enzymy) do niszczenia macierzy zewnątrzkomórkowej i komórek bakterii [25]. Sposób komunikowania się fagów jest podobny do QS bakterii. Fagi dzielą się na dwa rodzaje, jednak potrafią zmieniać swój stan już po wnikięciu do komórki bakteryjnej [13]:

- lityczne: replikują się w komórce bakteryjnej i powodują lizę komórek, doprowadzając do ich rozpadu i śmierci;
- lizogenne: pozostają w uśpieniu i są przekazywane potomstwu komórek gospodarza.

Jedną z metod leczenia biofilmu jest również terapia światłem. Pigmenty produkowane przez bakterie są powiązane z ich zjadliwością. W terapii wykorzystuje się światło niebieskie o długości fal między 400 a 470 nm oraz ultrafioletowe (UV), które jednak ma właściwości mutagenne, dlatego należy unikać jego stosowania. Istnieją dowody naukowe *in vitro* na aktywność światła niebieskiego przeciwko *Staphylococcus aureus*, w tym szczepy gronkowca złocistego opornego na metycylinę (ang. methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* – MRSA), *Clostridium difficile* (zarówno zarodniki, jak i komórki wegetatywne), *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* i *Mycobacterium* spp. Zależnie od rodzaju bakterii biofilmowych czas naświetlania wynosi od 15 do 60 minut. Dostępna literatura nie przedstawia dowodów na istnienie

negatywnych skutków stosowania światła niebieskiego [25].

Rekomendowane w leczeniu ran stężenia dla kwasu octowego (ang. acetic acid – AA) wynoszą 0,5–1% [2, 20, 29]. Właściwości lipofilne kwasu octowego powodują, że AA migruje przez warstwę lipidów w otoczce komórek bakterii oraz grzybów, powodując potencjalnie toksyczne konsekwencje, w tym obniżenie pH cytoplazmy oraz zakłócenie metabolizmu i replikacji komórek [25]. Efektywne działanie bójcze wobec opornych patogenów AA uzyskuje po 15–30 sekundach [29]. Słabe kwasy organiczne, np. kwas mlekowy, jabłkowy, cytrynowy, fumarowy lub szczawiowy, szybko obniżające pH wysięku, są szczególnie istotne w leczeniu biofilmu zawierającego *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii* wrażliwych na kwasy [25].

PODSUMOWANIE

Biofilm to wielowarstwowa struktura, której tylko 30% stanowią drobnoustroje. Jest ona odporna na czynniki zewnętrzne, odpowiedź immunologiczną gospodarza, pH, środki przeciwdrobnoustrojowe, nieprzepuszczalna dla antybiotyków i „starych” antyseptyków (woda utleniona, rywanol, kwas borny) [5, 7, 24, 26, 35, 39]. Biofilm jest trudny do eradykacji, często niewidoczny dla oka i szybko się odnawia. Eradykacja biofilmu, oprócz agresywnego i regularnego oczyszczania, może wymagać [3, 5, 7, 24, 26, 35, 39, 46, 48]:

- stałego działania antyseptyków płynnych i/lub żelowych;
- zastosowania opatrunków antybiofilmowych (Aquacel® Ag+ Extra™, UgroClean® Ag, HydroClean® Plus);
- zastosowania opatrunków przerywających sygnalizację bakterii QS.

Biofilm zmniejsza skutecznie w niskich dawkach srebro nanokrystaliczne (Acticoat® Flex), natomiast siarczan srebra (Exufiber® Ag+) wymaga dwukrotnie wyższej dawki niż srebro nanokrystaliczne, aby równie efektywnie zwalczyć populację biofilmu. Srebro jonowe (Aquacel® Ag Extra™, Suprasorb® A+Ag) ma ograniczone możliwości i należy je stosować w połączeniu z innymi antyseptykami, np. z miodem medycznym lub żelem antybakteryjnym [31, 32]. Redukcję masy biofilmu można także uzyskać poprzez zastosowanie maści z żywicy (Surtiheal® Forte 5%) lub żelu podchlorynowego (np. Granudacyn®, Microdacyn® Hydrogel, Aqvitox-D®) [6, 28, 29, 33, 50].

Jednak wciąż „standardem” leczenia zakażeń ran niegójących się jest antybiotykoterapia, najczęściej empiryczna, ale niekiedy także miejscowa. W przypadku ran antybiotykoterapia zapewnia wyłącznie subkliniczne dawki, które mogą wywoływać oporność drobnoustrojów na antybiotyki [9]. Pobieranie materiału do badania

! Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

mikrobiologicznego stanowi istotny element planowanej antybiotykoterapii ogólnoustrojowej. Badanie powinno zapewniać pobranie tkanek miękkich w postaci biopsji lub wyskrobin; pobieranie wymazów z ran nie oddaje prawidłowego składu bakterii w ranach niegojących się [24]. Nieprawidłowo stosowana antybiotykoterapia przyczynia się do powstawania subpopulacji przetrwałych komórek bakteryjnych, umożliwiając szybkie odnowienie się biofilmu – nawet z pojedynczej komórki bakteryjnej [30]. Krótkotrwała antybiotykoterapia ogólnoustrojowa powoduje opóźnienie powstawania biofilmu o 1–2 tygodnie i nie stanowi formy leczenia ani profilaktyki zakażeń [24]. Dostępne źródła nie dostarczają dowodów na leczenie i zapobieganie zakażeniom ran przez podawanie pacjentowi antybiotyków [24].

Oporność bakterii na antybiotyki stanowi zagrożenie dla populacji światowej. Toksyny produkowane przez bakterie wywołują sepsę i mogą być przyczyną zgonu. Niebezpieczna jest również zdolność niektórych bakterii do unikania układu immunologicznego człowieka oraz włączanie w swój cykl życiowy antybiotyków, niektórych antyseptyków i komórek żywiciela [7–9, 24, 35, 48].

KONFLIKT INTERESÓW: nie zgłoszono.

PIŚMIENNICTWO

- Abdelkader DH, Osman M, El-Gizawy SA, Faheem A, McCarron PA. The role of insulin in wound healing process: mechanism of action and pharmaceutical applications. *J Anal Pharm Res* 2016;2(1):7–10.
- Agrawal KS, Sarda AV, Shrotriya R, Bachhav M, Puri V, Nataraj G. Acetic acid dressings: Finding the Holy Grail for infected wound management. *Indian J Plast Surg* 2017;50(3):273–280.
- Atkin L, Bučko Z, Conde Montero E et al. Implementing TIMERS: the race against hard-to-heal wounds. *J Wound Care* 2019;23(Suppl. 3a):S1–S50.
- Baltennek J, Reverchon S, Hommais F. Quorum sensing regulation in phytopathogenic bacteria. *Microorganisms* 2021;9(2):239.
- Bartoszewicz M, Banasiewicz T, Bielecki K et al. Zasady postępowania miejscowego i ogólnego w ranach/owrzodzeniach przewlekłych objętych procesem infekcji. *Forum Zakażeń* 2019;10(1):1–30.
- Bartoszewicz M, Junka A. Ocena aktywności *in vitro* maści Sutriheal® Forte 5% względem *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa* oraz linii komórkowych odpowiedzialnych za proces gojenia się rany. *Forum Leczenia Ran* 2021;2(2):71–80.
- Bjarnsholt T, Schultz G, Kirketerp-Møller K, Fletcher J, Malone M. World Union of Wound Healing Societies (WUWHS), Florence Congress, Position Document. Management of Biofilm. *Wounds International*, London, 2016.
- Bowler PG. Antibiotic resistance and biofilm tolerance: a combined threat in the treatment of chronic infections. *J Wound Care* 2018;27(5):273–277.
- Bowler PG, Parsons D. Combatting wound biofilm and recalcitrance with a novel anti-biofilm Hydrofiber® wound dressing. *Wound Medicine* 2016;14:6–11.
- Burchacka E, Witkowska D. Proteazy serynowe i ich funkcja w patogenezie zakażeń bakteryjnych. *Postepy Hig Med Dosw* (online) 2016;70:678–694.
- de la Fuente-Núñez C, Cardoso MH, de Souza Cândido E, Franco OL, Hancock REW. Synthetic antibiofilm peptides. *Biochim Biophys Acta* 2016;1858(5):1061–1069.
- Dean SN, Bishop BM, van Hoek ML. Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm to alpha-helical peptides: D-enantiomer of LL-37. *Front Microbiol* 2011;2:128.
- Duddy OP, Bassler BL. Quorum sensing across bacterial and viral domains. *PLoS Pathog* 2021;17(1):e1009074.
- Francolini I, Donelli G. Prevention and control of biofilm-based medical-device-related infections. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2010;59(3):227–238.
- Furtado K, Siaw-Sakya V, Bowler P. Made Easy: MORE THAN SILVER™ Technology. *Wounds International* (online) 2019 [download: 09.10.2021]; <https://www.wound-sinternational.com/resources/details/made-easy-more-than-silver-technology>
- Grandclement C, Tannieres M, Morera S, Dessaux Y, Faure D. Quorum quenching: role in nature and applied developments. *FEMS Microbiol Rev* 2016;40(1):86–116.
- Grzybowski J, Dzierżanowska D. Człowiek i Drobnoustroje – Współistnienie i Konfrontacja. 1st edn. Alfa Medica Press, Bielsko-Biała, 2014.
- Gutwein LG, Panigrahi M, Schultz GS, Mast BA. Microbial Barriers. *Clin Plast Surg* 2012;39(3):229–238.
- Hall-Stoodley L, Stoodley P, Kathju S et al. Towards diagnostic guidelines for biofilm-associated infections. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2012;65(2):127–145.
- Halstead FD, Rauf M, Moiemens NS et al. The antibacterial activity of acetic acid against biofilm-producing pathogens of relevance to burns patients. *PLoS One* 2015;10(9):e0136190.
- Harding K, Carville K, Chadwick P et al. World Union of Wound Healing Societies (WUWHS) Consensus Document. Wound exudate: effective assessment and management. *Wounds International*, 2019.
- Hayek M, Baraquet C, Molmeret M. Characterization of AI2 Quorum Sensing system, case of *Shewanella woodyi* MS32. *Academia.edu* (online) 2021 [download: 14.10.2021]; https://www.academia.edu/50161619/Characterization_of_AI2_Quorum_Sensing_system_case_of_Shewanella_woodyi_MS32
- Hill R, Rennie MY, Douglas J. Using bacterial fluorescence imaging and antimicrobial stewardship to guide wound management practices: A case series. *Ostomy Wound Manage* 2018;64(8):18–28.
- Hoiby N, Bjarnsholt T, Moser C et al. ESCMID guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014. *Clin Microbiol Infect* 2015;21(Suppl. 1):S1–S25.
- Hughes G, Webber MA. Novel approaches to the treatment of bacterial biofilm infections. *Br J Pharmacol* 2017;174(14):2237–2246.
- Kamaruzzaman NF, Tan LP, Yazid KAM et al. Targeting the bacterial protective armour; challenges and novel strategies in the treatment of microbial biofilm. *Materials* 2018;11(9):1–27.
- Kiran MD, Giacometti A, Cirioni O, Balaban N. Suppression of biofilm related, device-associated infections by staphylococcal quorum sensing inhibitors. *Int J Artif Organs* 2008;31(9):761–770.
- Kramer A, Daeschlein G, Kammerlander G et al. An assessment of the evidence on antiseptics: a consensus paper on their use in wound care. *J Wound Care* 2004;13(4):1–7.
- Kramer A, Dissemond J, Kim S et al. Consensus on Wound Antisepsis: Update 2018. *Skin Pharmacol Physiol* 2018;31(1):28–58.
- LaFleur M, Kumamoto CA, Lewis K. *Candida albicans* biofilms produce antifungal-tolerant persister cells. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(11):3839–3846.
- Lara HH, Garza-Treviño EN, Ixtapan-Turrent L, Singh DK. Silver nanoparticles are broad-spectrum bactericidal and virucidal compounds. *J Nanobiotechnology* 2011;9:30.
- Lemire JA, Kalan L, Bradu A, Turner RJ. Silver oxynitrate, an unexplored silver compound with antimicrobial and antibiofilm activity. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59(7):4031–4039.
- Lipsky BA, Hoey C. Topical antimicrobial therapy for treating chronic wounds. *Clin Infect Dis* 2009;49(10):1541–1549.
- Malone M, Bjarnsholt T, McBain AJ et al. The prevalence of biofilms in chronic wounds: a systematic review and meta-analysis of published data. *J Wound Care* 2017;26(1):20–25.
- Metcalfe D, Bowler P, Parsons D. Wound biofilm and therapeutic strategies. In: Dhanasekaran D, Thajuddin N (eds). *Microbial Biofilms. Importance and Applications*. InTech Open, pp. 271–298.
- Murphy C, Atkin L, Swanson T et al. Defying hard-to-heal wounds with an early antibiofilm intervention strategy: wound hygiene. *J Wound Care* 2020;29(Suppl. 3b):S1–S26.
- Neut D, Dijkstra RJB, Thompson JI, Mei van der HC, Busscher HJ. A gentamicin-releasing coating for cementless hip prostheses-Longitudinal evaluation of efficacy using *in vitro* bio-optical imaging and its wide-spectrum antibacterial efficacy. *J Biomed Mater Res A* 2012;100(12):322–3226.
- Pena RT, Blasco L, Ambroa A et al. Relationship between quorum sensing and secretion systems. *Front Microbiol* 2019;10:1100.
- Percival SL, Finnegan S, Donelli G, Vuotto C, Rimmer S, Lipsky BA. Antiseptics for treating infected wounds: Efficacy on biofilms and effect of pH. *Crit Rev Microbiol* 2016;42(2):293–309.
- Percival SL. Importance of biofilm formation in surgical infection. *Br J Surg* 2017;104(2):e85–e94.
- Phillips PL, Wolcott RD, Fletcher J, Schultz GS. Made Easy: Biofilms. *Wounds International* 2010;1(3):1–6.

! Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

42. Roberts CD, Leaper DJ, Assadian O. The role of topical antiseptic agents within antimicrobial stewardship strategies for prevention and treatment of surgical site and chronic open wound infection. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2017;6(2):63–71.
43. Roy S, Elgharably H, Sinha M et al. Mixed-species biofilm compromises wound healing by disrupting epidermal barrier function. *J Pathol* 2014;233(4):331–343.
44. Różalska B, Micota B, Budzyńska A, Sadowska B. Biofilmowy mikrobiom skóry w zdrowiu i chorobie. *Aspekty badawcze z zakresu inżynierii tkankowej. Forum Zakazań* 2013;4(2):105–110.
45. Rutherford ST, Bassler BL. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012;2(11):a012427.
46. Sadekuzzaman M, Yang S, Mizan MFR, Ha SD. Current and recent advanced strategies for combating biofilms. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2015;14(4):491–509.
47. Schultz G. A comprehensive biofilm-based management approach Improving standard care for all wound types. *Puraplyam.com* (online) 2017 [download: 14.10.2021]; <https://puraplyam.com/pdf/perspective-paper-schulz.pdf>
48. Schultz G, Bjarnsholt T, James GA et al. Consensus guidelines for the identification and treatment of biofilms in chronic nonhealing wounds. *Wound Repair Regen* 2017;25(5):744–757.
49. Suleman L, Purcell L, Thomas H, Westgate S. Use of internally validated *in vitro* biofilm models to assess antibiofilm performance of silver-containing gelling fibre dressings. *J Wound Care* 2020;29(3):154–161.
50. Swanson T, Angel D, Sussman G et al. International Consensus Update 2016. *Wound Infection in Clinical Practice* 2016. International Wound Infection Institute (IWII) (online) 2016 [download: 14.10.2021]; <https://www.woundsme.com/uploads/resources/9b549b9d8a74b2c69a7773aa13157376.pdf>
51. Szkiler E. Wstępna ocena ran przewlekłych za pomocą aplikacji MolecuLight i:X™. *Przegląd piśmiennictwa i doświadczenia własne. Forum Leczenia Ran* 2020;1(2):75–85.
52. Tyldesley HC, Salisbury A-M, Chen R, Mullin M, Percival SL. Surfactants and their role in biofilm management in chronic wounds. *Wounds International* 2019;10(1):20–24.
53. Woo KY. Made Easy: Aquacel™ Ag+ Dressing: in practice. Next-generation antimicrobial dressings: Aquacel™ Ag+ Extra™ and Ribbon. *Wounds International* (online) 2017 [download: 14.10.2021]; <https://www.woundsinternational.com/download/resource/6099>
54. Yount NY, Yeaman MR. Multidimensional signatures in antimicrobial peptides. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101(19):7363–7368.
55. Zaremba ML, Borowski J. *Mikrobiologia Lekarska*. 3rd edn. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2014.