

Wprowadzenie

W niniejszym artykule opisano, czym jest biofilm oraz jego negatywny wpływ na proces gojenia ran. Ponadto omówiono w nim potencjalne działania mające na celu usuwanie i zmniejszanie biofilmu oraz zapobieganie jego formowaniu się w ranach.

*Autorzy: Phillips PL, Wolcott RD, Fletcher J, Schultz GS
Bardziej szczegółowe informacje o autorach znajdują się na stronie 5.*

Co to jest biofilm?

Biofilm jest to złożone skupisko drobnoustrojów składające się z bakterii i grzybów. Mikroorganizmy te syntetyzują się i wytwarzają macierz ochronną, która mocno przytwierdza biofilm do żywej lub martwej powierzchni¹.

Biofilm jest dynamicznym różnorodnym skupiskiem, które nieustannie się zmienia². Może składać się z pojedynczych gatunków bakterii lub grzybów bądź też, co zdarza się częściej, tworzyć skupiska obejmujące wiele różnych gatunków^{3,4}. **W najprostszy sposób biofilm można opisać jako bakterie osadzone w gęstej śluzowatej barierze składającej się z cukrów i białek.** Bariera biofilmu chroni mikroorganizmy przed działaniem niekorzystnych czynników zewnętrznych.

W jaki sposób biofilm oddziałuje na ranę?

Od dawna wiadomo, że biofilm tworzy się na powierzchniach wyrobów medycznych, takich jak cewniki moczowe, rurki dotchawicze i tympanostomie, implanty ortopedyczne i implanty piersi, soczewki kontaktowe, wkładki wewnątrzmaciczne i szwy^{5,6}. W poważnym stopniu przyczynia się do rozwoju chorób związanych z trwającym zakażeniem bakteryjnym i przewlekłym stanem zapalnym, takich jak choroby przyzębia, mukowiscydoza, przewlekły trądzik czy zapalenie kości i szpiku^{2,5,7}.

Biofilm występuje również w ranach i przypisuje mu się, w niektórych przypadkach, zakłócenie procesu gojenia rany. Analiza bioptatów z ran przewlekłych przy użyciu mikroskopu elektronowego wykazała, że 60% próbek zawierała fragmenty biofilmu w porównaniu z 6% bioptatów pobranych z ran ostrych⁸. Ponieważ stwierdzono, że biofilm jest głównym czynnikiem przyczyniającym się do wielu przewlekłych chorób zapalnych, prawdopodobne jest, że w prawie wszystkich ranach przewlekłych występują skupiska biofilmu przynajmniej na części łożyska rany.

W jaki sposób formuje się biofilm?

Etap pierwszy: odwracalne przywieranie do powierzchni

Mikroorganizmy są powszechnie postrzegane jako krążące i osob-

nione (tj. planktoniczne). Jednakże w warunkach naturalnych większość mikroorganizmów ma skłonność do przywierania do powierzchni i w rezultacie tworzy biofilm^{1,9} (Ilustracja 1). Początkowe przywarce jest odwracalne.

Etap drugi: trwałe przywieranie do powierzchni

Wraz z namnażaniem się bakterii coraz trwalej przywierają one do podłoża i różnicują, zmieniając schematy ekspresji genów w sposób optymalny dla przeżycia⁹. Wiąże się to zazwyczaj z porozumiewaniem się bakterii, znanym pod nazwą wyczuwania kworum (ang. quorum sensing)¹⁰ (patrz Słownik pojęć str. 5).

Etap trzeci: śluzowata macierz ochronna/biofilm

Po trwałym przywarciu do podłoża, bakterie zaczynają wytwarzać wokół siebie macierz, zwaną także zewnątrzkomórkową substancją polimerową (ang. EPS)¹¹. Spoivo to jest macierzą lub śluzem ochronnym. Następnie niewielkie kolonie bakterii zaczynają formować biofilm^{2,6}.

Skład EPS różni się w zależności od obecnych w biofilmie mikroorganizmów, jednakże zazwyczaj substancja ta składa się z polisacharydów, białek, glikolipidów i bakteryjnego DNA^{2,9,11}. Przypuszcza się, że bakteryjne DNA uwalniane przez żyjące lub obumarłe bakterie jest ważnym elementem strukturalnym macierzy EPS biofilmu¹². Różne wydzielane białka i enzymy ułatwiają trwałe przytwierdzenie biofilmu do łożyska rany⁹.

W pełni ukształtowany biofilm nieustannie wydziela bakterie planktoniczne, mikrokolonie oraz fragmenty biofilmu, które mogą rozprzaskać się i przytwierdzać do innych części łożyska rany lub do innych ran, tworząc nowe kolonie biofilmu^{5,6}.

Ilustracja 1 Schematyczne przedstawienie tworzenia się biofilmu składającego się z wielu drobnoustrojów (adaptacja z poz. ¹³)



Biofilm made easy



Bytowanie w mieszanych skupiskach drobnoustrojów typowych dla biofilmu pozwala mikroorganizmom dzielić się indywidualnymi „umiejętnościami i zdolnościami”, które pomagają w przetrwaniu grupy^{14,15}. Daje to im wiele korzyści ochronnych.

Jak szybko tworzy się biofilm?

Eksperymentalne badania laboratoryjne^{16,17} wykazały, że bakterie planktoniczne, takie jak *Staphylococci*, *Streptococci*, *Pseudomonas* i *Escherichia coli* zazwyczaj:

- **przywierają do podłoża w przeciągu kilku minut;**
- **tworzą mocno przytwierdzone mikrokolonie w przeciągu 2-4 godzin;**
- **wytwarzają początkowo zewnątrzkomórkową substancję polimerową i stają się coraz bardziej odporne na środki biobójcze, np. antybiotyki, środki antyseptyczne i dezynfekujące w przeciągu 6-12 godzin;**
- **przekształcają się w pełni dojrzałe kolonie z biofilmem, które są niezwykle odporne na środki biobójcze i wydzielają bakterie planktoniczne po 2-4 dniach;**
- **szybko regenerują się po mechanicznych uszkodzeniach i przekształcają dojrzały biofilm w przeciągu 24 godzin.**

Prowadzi to do wniosku, że okresowe opracowywanie rany/zakłócanie wzrostu biofilmu zapewnia jedynie krótkie okno terapeutyczne, poniżej 24 godzin, w którym leczenie przeciwbakteryjne jest skuteczniejsze i zmniejsza liczbę zarówno bakterii planktonicznych jak i kolonizujących biofilm pokrywający ranę.

Dlaczego dopiero niedawno odkryto występowanie biofilmu w ranach?

Dopiero stosunkowo niedawno powszechnie przyjęto fakt, że biofilm przyczynia się do znacznego spowolnienia gojenia się ran skórnych^{7,8}.

W przewlekłych ranach skórnych często brak jest wyraźnych klinicznych oznak zakażenia i nierzadko standardowe badania mikrobiologiczne przeprowadzane w laboratoriach kli-

nicznych wskazują na występowanie niewielkich populacji bakteryjnych w ranach¹⁸. Jednakże standardowe kliniczne testy mikrobiologiczne zoptymalizowane są pod kątem wykrywania kultur bakterii planktonicznych i nie oznaczają prawidłowo zawartości bakterii w biofilmie, ponieważ wymagane są do tego specjalne techniki hodowli^{19,20}.

Termin „kolonizacja krytyczna” został wprowadzony podczas próby przyjęcia koncepcji, że bakterie odgrywają bardzo ważną rolę w niegojeniu się ran bez wyraźnego zakażenia²¹. W rzeczywistości koncepcja krytycznej kolonizacji/ miejscowego zakażenia opisuje przypuszczalnie obecność biofilmu w ranie przewlekłej.

Czy biofilm jest widoczny gołym okiem?

Biofilm to struktura mikroskopijna. Jednakże w niektórych sytuacjach, jeśli ich rozwój nie zostanie zakłócony przez dłuższy okres, biofilm może utworzyć na tyle grubą warstwę, że można ją zobaczyć gołym okiem. Na przykład płytka nazębna może nagromadzić się i stać się wyraźnie widoczna w przeciągu jednego dnia. Niektóre bakterie w fenotypie biofilmu wytwarzają pigmenty, które mogą ułatwić wzrokowe wykrywanie biofilmu. Na przykład szczep *Pseudomonas aeruginosa* wytwarza piocyjanień - cząsteczkę sygnalizacyjną, która, jeśli znajdzie się w fenotypie biofilmu, ma zabarwienie zielone²². Jednakże zielone zabarwienie rany nie zawsze potwierdza występowanie bakterii *Pseudomonas* w biofilmie.

Czy biofilm można odróżnić od wydzieliny?

Wydzielina z rany jest opisywana jako lepka, żółtawa i stosunkowo nieprzejrzysta warstwa znajdująca się nałożysku rany, natomiast biofilm z założenia posiada bardziej żelowatą konsystencję i jest błyszczący²³. Jednak pomiędzy biofilmem a wydzieliną może istnieć pewne powiązanie. Biofilm stymuluje stan zapalny, który zwiększa przepuszczalność naczyń krwionośnych oraz wytwarzanie wysięków z rany i nadbudowywanie włóknistej wydzieliny²⁴. Dlatego też wydzielina może sugerować obecność biofilmu w ranie. Jednakże takie powiązanie pomiędzy obecnością wydzieliny a biofilmem w ranach przewlekłych nie zostało jeszcze w pełni określone.

Obecnie najbardziej wiarygodną metodą potwierdzenia obecności biofilmu mikrobiologicznego jest specjalistyczna mikroskopia, na przykład przy użyciu skanującego laserowego mikroskopu konfokalnego.

W jaki sposób dojrzały biofilm „chroni” bakterie?

Biofilm w dużym stopniu zwiększa oporność mikroorganizmów znajdujących się w macierzy na działanie układu odpornościowego, środków przeciwbakteryjnych i niekorzystny wpływ czynników środowiskowych (np. niedobór substancji odżywczych lub tlenu). Tolerancja tego typu może prowadzić do wytworzenia całkowitej oporności na czynniki, które w niechronionych warunkach planktonicznych (krążących) z łatwością zabiłyby te mikroorganizmy^{9,25}.

Blokada

Mikroorganizmy są w prosty sposób chronione przez zewnątrzkomórkową substancję polimerową (ang. extracellular polymeric substance, EPS), która zapobiega wnikaniu większych cząsteczek (np. przeciwciał) oraz komórek zapalnych do wnętrza macierzy biofilmu. Dojrzały biofilm może również stanowić barierę dyfuzyjną nawet dla niewielkich cząsteczek, takich jak środki przeciwbakteryjne²⁶.

Wzajemna ochrona

Kolejną unikalną właściwością, jaką wykazuje się biofilm składający się z różnorodnych drobnoustrojów, jest wzajemna ochrona poprzez wykorzystanie różnych mechanizmów ochronnych, z jakich korzystają poszczególne gatunki bakterii. Na przykład bakterie odporne na antybiotyki mogą wytwarzać enzymy ochronne lub białka wiążące antybiotyki, a tym samym ochraniać sąsiednie bakterie w biofilmie², które nie posiadają oporności na antybiotyki. Oporne bakterie mogą również przekazywać geny odpowiedzialne za oporność innym nieopornym bakteriom, także z innego gatunku²⁷. Badania wykazały, że określone właściwości zewnątrzkomórkowej substancji polimerowej (EPS) wytworzonej na biofilmie przez jeden gatunek mogą odgrywać znaczącą rolę w zdolności innych gatunków do przyłączania się i integracji z danym biofilmem²⁸.

Hibernacja (nieaktywne bakterie)

Kolejnym zachowaniem wielu bakterii w biofilmie jest przechodzenie części komórek w kolonii w stan hibernacji, czyli nieaktywne metabolicznie formy przetrwalnikowe.^{2,29,30} Jednym z warunków skuteczności działania antybiotyków jest aktywność metaboliczna bakterii. Antybiotyk, który normalnie zabija czynne bakterie, nie działa na bakterie występujące w biofilmie w stanie hibernacji^{2,31}.

Badania dowodzą, że najniższe stężenia antybiotyków potrzebne do zabicia lub eliminacji bakterii znajdujących się w biofilmie dla wielu antybiotyków przewyższają maksymalną dopuszczalną dawkę³¹⁻³⁴. W związku z tym standardowe dawki antybiotyków przyjmowanych doustnie, które w normalnych przypadkach są wystarczające do zwalczania nieopornych bakterii w stanie planktonicznym hodowanych w laboratoriach klinicznych, mogą być nieskuteczne lub wykazują niewielkie działanie przeciwbakteryjne na bakterie tego samego typu, lecz znajdujące się w biofilmie w ranie pacjenta.

W jaki sposób biofilm spowalnia proces gojenia się rany?

Biofilm stymuluje wywołanie przewlekłej reakcji zapalnej, związanej z próbą usunięcia przez organizm biofilmu z rany. (Ilustracja 2). W wyniku tej reakcji biofilm zostaje otoczony ogromną ilością neutrofilów i makrofagów. Te komórki reakcji zapalnej wydzielają duże ilości reaktywnych form tlenu (RFT) i proteazy (metaloproteinyzyny macierzy zewnątrzkomórkowej [ang. MMPs] oraz elastazy). Proteazy wspomagają proces rozkładu wiązań pomiędzy biofilmem a tkanką, wypierając tym samym biofilm z rany³⁵. Jednakże reaktywne formy tlenu oraz proteazy uszkadzają też zdrową i odbudowaną tkankę, białka oraz komórki odpornościowe, co, jako efekt uboczny, upośledza proces gojenia się rany.

Ilustracja 2 Spowolnione gojenie się rany: czynniki gospodarza, czynniki drobnoustrojowe



Niestety, ta przewlekła reakcja zapalna nie zawsze skutkuje usunięciem biofilmu. Z tego też powodu została wysunięta hipoteza, że taka reakcja obronna organizmu w efekcie sprzyja interesom biofilmu. Biofilm, wywołując nieskuteczną reakcję zapalną, chroni drobnoustroje w swoim wnętrzu i przyczynia się do zwiększania wydzielania wysięków, które stanowią źródło składników odżywczych i tym samym podtrzymuje swoje istnienie³⁶.

Czy istnieją warunki, które sprzyjają powstawaniu biofilmu?

Nie wiadomo, czy istnieją jakieś konkretne warunki sprzyjające rozwojowi biofilmu. Jednakże ogólne czynniki osłabiające działanie układu odpornościowego lub skuteczność antybiotyków mogą wspomagać rozwój biofilmu w ranach. Są to między innymi niedokrwienie lub martwica, słabe odżywienie oraz choroby współistniejące, które osłabiają układ odpornościowy.

Jakie są zasady postępowania w przypadku biofilmu?

Nawet jeśli istnieje podejrzenie, że w ranie znajduje się biofilm, to brak jest prostej metody leczenia. Należy podjąć działania proaktywne składające się z kombinacji różnych strategii opartych na zasadach przygotowywania łóżyska rany³⁷ (Ilustracja 3) mające na celu:

- **zmniejszenie populacji drobnoustrojów w biofilmie;**
- **powstrzymanie odbudowy biofilmu.**

Takie podejście jest czasem nazywane „pielęgnacją rany pod kątem biofilmu”.

W jaki sposób można zmniejszyć populację drobnoustrojów w biofilmie?

Dotychczas zebrane dowody sugerują, że fizyczna eliminacja, tzn. opracowanie rany lub intensywne fizyczne oczyszczanie rany stanowią najlepszy sposób na ograniczenie biofilmu³⁷.

Opracowywanie rany obejmuje usuwanie tkanki martwiczej i skażonej oraz wydzielin z rany i ma na celu zapoczątkowanie procesu gojenia. Istnieje wiele metod opracowywania rany, zaczynając od metod chirurgicznych, a kończąc na technikach uważanych generalnie za oczyszczanie rany, np. irygacja^{38,39}. Wybór metody opracowywania lub oczyszczania rany jest mocno uzależniony od posiadanej przez lekarzy wiedzy, umiejętności i odbytych szkoleń. Przy wyborze należy wziąć pod uwagę kwestie bezpieczeństwa oraz etyczne⁴⁰.

Badania prowadzone nad usuwaniem biofilmu w ranach dotychczas skupiały się na chirurgicznym i ultradźwiękowym opracowywaniu rany w celu otwarcia wszystkich kanałów i usunięcia podminowania, całości martwej tkanki, wydzielin oraz odbarwionych lub miękkich fragmentów kości⁴¹. Jednakże ze względu na trudności w wizualizacji biofilmu, wybór najlepszej metody opracowywania rany oraz wpływ, jaki wywiera to na usuwanie biofilmu, nie zostały jeszcze jednoznacznie ustalone.

Częstość opracowywania/oczyszczanie rany

Nie istnieje idealna metoda opracowywania lub oczyszczania rany, która usuwałaby biofilm w całości, dlatego też wszelkie pozostałe bakterie/biofilm umożliwiają odtworzenie i powstanie dojrzałego biofilmu w ciągu kilku dni. W związku z tym zaleca się, aby opracowywanie rany, w której prawdopodobnie znajduje się biofilm, wykonywać regularnie. Jak dotychczas nie ustalono idealnej częstości, z jaką powinno się opracowywać ranę. W badaniu z udziałem pacjentów z krytycznym niedokrwieniem kończyn opracowywanie rany przeprowadzano raz na tydzień⁴¹.

Uważa się, że niektóre produkty posiadają dodatkowe zalety, które pomagają w usuwaniu bakterii i zanieczyszczeń oraz niszczeniu biofilmu podczas procesu oczyszczania rany. Dużą nadzieję pokłada się na przykład we właściwościach środków powierzchniowo czynnych niektórych preparatów do oczyszczania ran zawierających biguanid polihexametylenowy (polihexamid lub PHMB), np. Prontosan®. Betaina (środek powierzchniowo czynny) wchodzący w skład środków czyszczących zmniejsza napięcie powierzchniowe i przyczynia się do usuwania zanieczyszczeń i bakterii poprzez irygację^{42,43}.

Jeśli rana nadal się nie goi przy regularnym opracowywaniu za pomocą jednej metody, należy rozważyć bardziej „agresywne” metody, włącznie ze skierowaniem w razie potrzeby pacjenta do specjalisty.

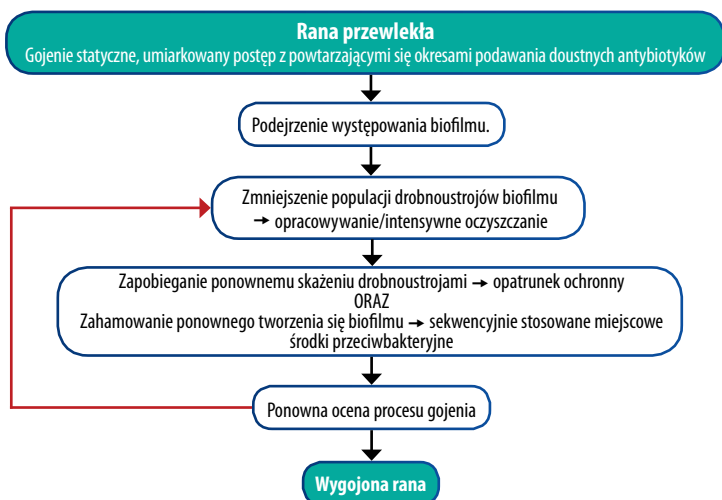
W jaki sposób można zapobiec odtwarzaniu się biofilmu?

Biofilm może odtworzyć się w ranie poprzez:

- **rozwój fragmentów pozostałych po opracowaniu/oczyszczeniu rany;**
- **rozprzestrzenianie się bakterii planktonicznych uwolnionych z pozostałości biofilmu;**
- **wzrost biofilmu dzięki nowo wprowadzonym mikroorganizmom.**

Zasady postępowania w celu zapobiegania ponownemu tworzeniu się biofilmu obejmują zapobieganie dalszym zanieczyszczeniom rany (tj. stosowanie opatrunków) oraz

Ilustracja 3 Główne zasady postępowania z biofilmem w ranie



stosowanie środków przeciwbakteryjnych do usuwania mikroorganizmów planktonicznych.

Różnorodność drobnoustrojów znajdujących się w wielu rodzajach biofilmu sugeruje, że bardziej odpowiednią metodą w walce z biofilmem jest stosowanie środka przeciwbakteryjnego o szerokim spektrum działania, który zabija mikroorganizmy, a nie tylko hamuje ich rozwój. Szczegółowe dane dotyczące skuteczności środków przeciwbakteryjnych w walce z odtwarzaniem się biofilmu nie są jeszcze znane. Jednakże środki przeciwdrobnoustrojowe o szerokim spektrum działania bakteriobójczego najpowszechniej stosowane w pielęgnacji ran to srebro, jod, miód oraz PHMB. Są one dostępne pod wieloma postaciami.

Obecnie coraz częściej praktykuje się zasadę zmiany stosowanego miejscowego środka przeciwbakteryjnego na inny, jeśli dotychczasowe leczenie nie przynosi rezultatów. Jak dotychczas brak jest danych, dzięki którym można byłoby zalecić preferowane środki przeciwbakteryjne pierwszego rzutu; wybór będzie zależał od sposobu stosowania danego środka przeciwbakteryjnego. Na przykład, czy dany środek będzie można pozostawić na miejscu przez kilka dni? Jeśli tak, to na dłuższe okresy czasu będzie potrzebny środek w postaci o przedłużonym uwalnianiu. Należy

również wziąć pod uwagę nadwrażliwość/potencjalne alergie pacjenta.

Kiedy będzie wiadomo, że biofilm został usunięty?

Brak wyraźnie określonych objawów oraz łatwo dostępnych testów laboratoryjnych wykrywających biofilm oznacza, że jednoznaczne określenie czasu, po jakim rana będzie wolna od biofilmu, nie jest możliwe. Najbardziej wyraźnym wskaźnikiem klinicznym jest prawdopodobnie postęp gojenia się rany oraz zmniejszenie ilości wydzielanego wysięku i wydzieliny.

Do momentu ustalenia wyraźnych wytycznych w tym zakresie, modyfikacja leczenia i ocena stanu ran z podejrzeniem obecności biofilmu musi być dokonywana w oparciu o ocenę kliniczną. Na przykład, jeśli zauważalny jest postęp w gojeniu się rany, stosowna może okazać się zmiana metody lub częstości opracowywania rany i/lub rozważenie, czy niezbędne jest np. stosowanie miejscowego środka przeciwbakteryjnego.

Dodatkowe, ale równie ważne kwestie to częstość dokonywania ponownej oceny stanu rany oraz holistyczne podejście do stanu zdrowia pacjenta w celu pobudzenia układu odpornościowego oraz procesu gojenia się rany.

Piśmiennictwo

1. Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW. Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol* 2002; 56: 187-209.
2. Hall-Stoodley L, Stoodley P. Evolving concepts in biofilm infections. *Cell Microbiol* 2009; 11(7): 1034-43.
3. Dowd SE, Sun Y, Secor PR, et al. Survey of bacterial diversity in chronic wounds using pyrosequencing, DGGE, and full ribosome shotgun sequencing. *BMC Microbiol* 2008; 8(1): 43.
4. Trengove NJ, Stacey MC, McGeachie DF, Mata S. Qualitative bacteriology and leg ulcer healing. *J Wound Care* 1996; 5(6): 277-80.
5. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999; 284(5418): 1318-22.
6. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15(2): 167-93.
7. Wolcott RD, Rhoads DD, Bennett ME, et al. Chronic wounds and the medical biofilm paradigm. *J Wound Care* 2010; 19(2): 45-50, 52-53.
8. James GA, Swogger E, Wolcott R, et al. Biofilms in chronic wounds. *Wound Repair Regen* 2008; 16(1): 37-44.
9. Flemming HC, Neu TR, Wozniak DJ. The EPS matrix: the "house of biofilm cells". *J Bacteriol* 2007; 189(22): 7945-47.
10. Horswill AR, Stoodley P, Stewart PS, Parsek MR. The effect of the chemical, biological, and physical environment on quorum sensing in structured microbial communities. *Anal Bioanal Chem* 2007; 387(2): 371-80.
11. Sutherland I. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology* 2001; 147(Pt 1): 3-9.
12. Rice KC, Mann EE, Endres JL, et al. The cidA murein hydrolase regulator contributes to DNA release and biofilm development in *Staphylococcus aureus*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(19): 8113-18.
13. Phillips P, Sampson E, Yang Q, et al. Bacterial biofilms in wounds. *Wound Healing Southern Africa* 2008; 1(2): 10-12.
14. Xavier JB, Foster KR. Cooperation and conflict in microbial biofilms. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(3): 876-81.
15. Hibbing ME, Fuqua C, Parsek MR, Peterson SB. Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. *Nat Rev Microbiol* 2010; 8(1): 15-25.
16. Costerton JW. The etiology and persistence of cryptic bacterial infections: a hypothesis. *Rev Infect Dis* 1984; 6 Suppl 3: S608-16.
17. Bester E, Kroukamp O, Wolfaardt GM, et al. Metabolic differentiation in biofilms as indicated by carbon dioxide production rates. *Appl Environ Microbiol* 2010; 76(4): 1189-97.
18. World Union of Wound Healing Societies (WUWHS). *Principles of best practice: Wound infection in clinical practice. An international consensus*. London: MEP Ltd, 2008.
19. Kaerberlein T, Lewis K, Epstein SS. Isolating "uncultivable" microorganisms in pure culture in a simulated natural environment. *Science* 2002; 296(5570): 1127-29.
20. Bjarnsholt T, Kirketerp-Møller K, Jensen PØ, et al. Why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis. *Wound Repair Regen* 2008; 16(1): 2-10.
21. Edwards R, Harding KG. Bacteria and wound healing. *Curr Opin Infect Dis* 2004; 17(2): 91-96.
22. Dietrich LE, Price-Whelan A, Petersen A, et al. The phenazine pyocyanin is a terminal signalling factor in the quorum sensing network of *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol* 2006; 61(5): 1308-21.
23. Hurlow J, Bowler PG. Clinical experience with wound biofilm and management: a case series. *Ostomy Wound Manage* 2009; 55(4): 38-49.
24. Wolcott RD, Rhoads DD, Dowd SE. Biofilms and chronic wound inflammation. *J Wound Care* 2008; 17(8): 333-41.
25. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, et al. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995; 49: 711-45.
26. Guiot E, Georges P, Brun A, et al. Heterogeneity of diffusion inside microbial biofilms determined by fluorescence correlation spectroscopy under two-photon excitation. *Photochemistry and Photobiology* 2002; 75(6): 570-79.
27. Weigel LM, Donlan RM, Shin DH, et al. High-level vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates associated with a polymicrobial biofilm. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(1): 231-38.
28. Liu Y, Li J. Role of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm in the initial adhesion, growth and detachment of *Escherichia coli* in porous media. *Environ Sci Technol* 2008; 42(2): 443-49.
29. Davies DG, Parsek MR, Pearson JP, et al. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science* 1998; 280(5361): 295-98.
30. Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nat Rev Microbiol* 2007; 5(1): 48-56.
31. Brooun A, Liu S, Lewis K. A dose-response study of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(3): 640-46.
32. Koseoglu H, Aslan G, Esen N, et al. Ultrastructural stages of biofilm development of *Escherichia coli* on urethral catheters and effects of antibiotics on biofilm formation. *Urology* 2006; 68(5): 942-46.
33. Olson ME, Ceri H, Morck DW, et al. Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. *Can J Vet Res* 2002; 66(2): 86-92.
34. Conley J, Olson ME, Cook LS, et al. Biofilm formation by group A streptococci: is there a relationship with treatment failure? *J Clin Microbiol* 2003; 41(9): 4043-48.
35. European Wound Management Association (EWMA). Position Document: *Wound Bed Preparation in Practice*. London: MEP Ltd, 2004.
36. Lawrence JR, Swerhone GD, Kuhlicke U, Neu TR. In situ evidence for microdomains in the polymer matrix of bacterial microcolonies. *Can J Microbiol* 2007; 53(3): 450-58.
37. Wolcott RD, Kennedy JP, Dowd SE. Regular debridement is the main tool for maintaining a healthy wound bed in most chronic wounds. *J Wound Care* 2009; 18(2): 54-56.
38. Vowden KR, Vowden P. Wound debridement, Part 1: non-sharp techniques. *J Wound Care* 1999; 8(5): 237-40.
39. Vowden KR, Vowden P. Wound debridement, Part 2: sharp techniques. *J Wound Care* 1999; 8(6): 291-94.
40. O'Brien M. Debridement: ethical, legal and practical considerations. *Br J Community Nurs* 2003; 23-25.
41. Wolcott RD, Rhoads DD. A study of biofilm-based wound management in subjects with critical limb ischaemia. *J Wound Care* 2008; 17(4): 145-55.
42. Kaehn K, Eberlein T. In-vitro test for comparing the efficacy of wound rinsing solutions. *Br J Nurs* 2009; 18(11): S4-10.
43. Andriessen AE, Eberlein T. Assessment of a wound cleansing solution in the treatment of problem wounds. *Wounds* 2008; 20(6): 171-75.
44. Phillips PL, Yang Q, Sampson E, Schultz G. Effects of antimicrobial agents on an in vitro biofilm model of skin wounds. *Advances in Wound Care* 2010; 1: 299-304.

Dodatkowe piśmiennictwo

Bryers JD. Medical Biofilms. *Biotechnology and Bioengineering* 2008; 100: 1-18.

Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nature* 2003; 2: 114-22

Costerton JW, Stewart PS. Battling biofilms. *Scientific American* 2001; 285: 74-81.

Gibson D, Cullen B, Legerstee R, et al. MMPs Made Easy. *Wounds International* 2009; 1(1). Dostępny na <http://www.woundsinternational.com/article.php?issueid=1&contentid=123&articleid=21>.

Dalszy rozwój

Istnieje potrzeba opracowania metod lub produktów do szybkiego wykrywania obecności biofilmu przed i po przeprowadzeniu wybranych zabiegów. Po pierwsze, pomogłoby to badaczom i personelowi medycznemu w opracowaniu skutecznych strategii pielęgnacji ran. Ponadto byłoby to pomocne w monitorowaniu postępu leczenia.

Zarówno aktualnie dostępne, jak i nowo opracowywane środki przeciwbakteryjne oraz metody leczenia są poddawane gruntownym badaniom pod kątem ich skuteczności wobec biofilmu, w odniesieniu do zarówno eliminacji, jak i hamowania wzrostu biofilmu. Na przykład w czasie prowadzonych niedawno badań nad skutecznością przeciwbakteryjną

różnych opatrunków do ran wobec dojrzałego biofilmu wytworzonego przez bakterie *Pseudomonas aeruginosa* wyhodowanego na skórze świńskiej wykazano, że kadexomer jodu⁴⁴ posiada wysoką skuteczność w eliminowaniu biofilmu. Jednakże różnorodność drobnoustrojowa i stale zmieniająca się natura biofilmu, dodatkowo skomplikowana przez heterogeniczność fenotypu bakteryjnego biofilmu, oznacza, że skuteczność środków przeciwko biofilmowi musi być weryfikowana w każdym leczonym przypadku.

W jaki sposób można wyjaśnić pojęcie biofilmu pacjentom?

Pacjentów można uspokoić, że biofilm może

być skutecznie eliminowany za pomocą kombinacji metod opracowywania i/lub oczyszczania rany, stosowania opatrunków zapobiegających przedostawaniu się nowych bakterii do rany oraz stosowania środków bakteriobójczych opracowanych specjalnie do usuwania bakterii z łożyska rany. Pacjentów należy uprzedzić, że leczenie rany musi być powtarzane i wykonywane systematycznie, gdyż biofilm może odnawiać się w ciągu jednego dnia i opóźnić gojenie się rany.

Wspierane przez grant edukacyjny B. Braun. Opinie wyrażane w niniejszej sekcji „Made Easy” niekoniecznie odzwierciedlają opinie B. Braun. Prontosan® jest zarejestrowanym znakiem handlowym firmy B. Braun.

Słownik pojęć

Fenotyp biofilmu	Mikroorganizmy fenotypowe biofilmu dokonujące optymalnej ekspresji genów, co przyczynia się do rozwoju towarzyszącej im grupy/mikrokolonii osadzonej w utworzonej przez nie „śluzowatej” macierzy, która chroni je przed niekorzystnym wpływem czynników zewnętrznych i pomaga w przetrwaniu.
Drobnoustrój komensalny	Drobnoustrój żyjący na/w tkance, zazwyczaj niepowodujący choroby.
Zewnątrzkomórkowa substancja polimerowa (ang. extracellular polymeric substance, EPS)	Śluz wytwarzany przez mikroorganizmy w biofilmie, składający się z polisacharydów, protein, glikolipidów oraz bakteryjnego DNA; chroni on mikroorganizmy żyjące w biofilmie przed działaniem układu odpornościowego gospodarza oraz środków przeciwbakteryjnych.
Fenotyp	Zespół cech mikroorganizmu wynikający z interakcji pomiędzy środowiskiem a genami mikroorganizmu.
Planktoniczny	Odnosi się do mikroorganizmów krążących, które dokonują ekspresji genów optymalnych dla swobodnego rozwoju bez połączenia z podłożem.
Wyczuwanie kworum (ang. quorum sensing)	Mechanizm stosowany przez mikroorganizmy podczas komunikacji w obrębie i pomiędzy poszczególnymi gatunkami bakterii. Wykorzystywany jest do wykrywania zmian środowiskowych i odpowiedzi na nie (włączając w to rozpoznawanie obecności innych mikroorganizmów lub ograniczeń pokarmowych). Wyczuwanie kworum zapoczątkowuje zmiany w ekspresji genów bakteryjnych, co pomaga w przetrwaniu mikroorganizmów.
Przytwierdzone	Mikroorganizmy mocno przywierające do podłoża, umocowane za pomocą receptorów i/lub białek zwanych adhezynami.

Informacje o autorach

PL Phillips¹, RD Wolcott², J Fletcher³, GS Schultz⁴.

1. Pracownik naukowy w ramach stażu podoktoranckiego, Institute for Wound Research, Department of Obstetrics and Gynecology, University of Florida, Gainesville, Floryda, USA
2. Dyrektor medyczny, Southwest Regional Wound Care Center, Lubbock, Teksas, USA
3. Główny wykładowca, School of Nursing, Midwifery and Social Work, University of Hertfordshire, Hatfield, Wielka Brytania, oraz starszy instruktor, Department of Dermatology and Wound Healing, School of Medicine, Cardiff University, Cardiff, Wielka Brytania
4. Profesor, Institute for Wound Research, Department of Obstetrics and Gynecology, University of Florida, Gainesville, Floryda, USA

Z podziękowaniami dla forum pielęgniarskiego Bedfordshire and Hertfordshire Tissue Viability Nurses' Forum.

Informacje ogólne

Biofilm bakteryjny przyczynia się wielu przewlekłych chorób zapalnych, a ostatnie doniesienia sugerują, że jest istotnym czynnikiem upośledzającym gojenie się ran przewlekłych. Biofilm wykazuje wysoki poziom oporności na przeciwciała, antybiotyki, środki dezynfekcyjne oraz komórki fagocytyczne. Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy nt. biofilmu, sugeruje się, aby postępowanie w przypadku rany z podejrzeniem biofilmu obejmowało częste opracowywanie rany razem ze zmianami opatrunku i stosowaniem środków przeciwbakteryjnych w celu zapobiegania powtórnemu skażeniu rany i hamowaniu ponownego tworzenia się biofilmu.

Aby zacytować niniejszą publikację

Phillips PL, Wolcott RD, Fletcher J, Schultz GS. Biofilms Made Easy. *Wounds International* 2010; 1(3). Dostępna na <http://www.woundsinternational.com>