

# Rola utlenionej, regenerowanej celulozy w zapobieganiu zakażeniom w miejscach zabiegów chirurgicznych: randomizowane, prospektywne badanie z udziałem 49 pacjentów z zanieczyszczonymi ranami chirurgicznymi

Sergio Alfieri, Dario Di Miceli, Marco Pericoli Ridolfini, Fabio Rotondi, Andrea Di Giorgio, Futura Limongelli, Giuseppe Quero, Giovanni Battista Doglietto

## Wprowadzenie

Problem zakażeń w miejscach zabiegów chirurgicznych (ang. surgical site infection – SSI) ma istotne reperkusje kliniczne i ekonomiczne, gdyż jest to wciąż najczęstsza przyczyna zakażeń wewnątrzszpitalnych u pacjentów chirurgicznych.

Duże znaczenie ma coraz większa liczba SSI wywołanych przez mikroorganizmy odporne na antybiotyki. Badania materiałów medycznych stosowanych w celu minimalizowania ryzyka SSI stanowią priorytet, zwłaszcza w odniesieniu do zakażeń wywołanych przez bakterie Gram dodatnie – najczęściej *Staphylococcus aureus*, gronkowce koagulazoujemne i enterokoki.

## Cel

Przedstawiamy wyniki prospektywnego, randomizowanego badania klinicznego, w którym oceniano, czy utleniona, regenerowana celuloza (ang. oxidized regenerated cellulose – ORC), zastosowana na zanieczyszczone rany chirurgiczne, redukuje liczbę bakterii, a co za tym idzie – częstość zakażeń.

## Metody

W badaniu uczestniczyło 49 pacjentów, u których wykonywano zabiegi udrożnienia jelit w okresie od grudnia 2003 r. do grudnia 2006 r., przy czym za miejsce zabiegu chirurgicznego uznano stomię. Następujące parametry uznano za czynniki ryzyka SSI: cukrzyca, palenie tytoniu, wiek > 65 lat, przetoczenia, czas hospitalizacji przed operacją, czas operacji oraz założenie rurki do drenażu. Pacjentów podzielono na dwie grupy dopasowane pod względem płci, wieku i czynników ryzyka; w grupie badanej (A) znalazło się

*Istituto di Clinica Chirurgica  
Università Cattolica del Sacro Cuore – Rzym, Włochy*

26 pacjentów, a w grupie kontrolnej (B) – 23 pacjentów. W grupie A ranę chirurgiczną – wcześniejsze miejsce stomii – wypełniano materiałem Surgicel® zawierającym ORC, natomiast w grupie B stosowano gazę nasączoną jodyną. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne rany oceniano, wykonując posiewy 3 osobnych wymazów z rany (z tkanki podskórnej i skóry właściwej) – w sali operacyjnej przed umieszczeniem materiału w ranie, w 2. dniu po operacji oraz w 3. dniu po operacji (przed zeszcyciem skóry). Pierwszy posiew pozwalał ocenić wstępne zanieczyszczenie powierzchniowych warstw rany, identyfikując występujące gatunki bakterii. Pozostałe dwa posiewy oceniały, czy poszczególne typy wypełnienia rany (ORC w porównaniu z gazą nasączoną jodyną) miały wpływ na zanieczyszczenie bakteriami.

## Wyniki

Nie zaobserwowano przypadków rozejścia się rany ani wyraźnych oznak klinicznych powierzchownego lub głębokiego SSI w żadnej grupie. Najczęściej izolowanymi gatunkami bakterii we wszystkich posiewach łącznie były: *Enterococcus faecalis* D, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* i *Pseudomonas aeruginosa*. Analiza wszystkich danych wykazała, że drugi i trzeci posiew były ujemne, a bakteryjne zanieczyszczenie rany zmniejszyło się u 17 pacjentów (65%) w grupie A oraz jedynie u 6 pacjentów (26%) w grupie B.

## Wnioski

Choć należy rozważyć wszystkie czynniki, które mogły mieć wpływ na SSI oraz podjąć wszystkie działania, co do których wykazano, że skutecznie redukują ryzyko SSI, uzasadnione jest stosowanie ORC do zapobiegania temu typowi zakażeń, zwłaszcza u pacjentów poddawanych tzw. operacjom „brudnym”.

**Słowa kluczowe:** zakażenia chirurgiczne, zakażenia pooperacyjne, utleniona regenerowana celuloza.

Adres do korespondencji:

Dr. Sergio Alfieri  
Istituto di Clinica Chirurgica  
Università Cattolica del Sacro Cuore  
Largo Agostino Gemelli, 8 - 00168 Rzym, Włochy  
Tel./Faks: +39 06-30155331  
E-mail s.alfieri@rm.unicatt.it

Zakażenia w miejscach zabiegów chirurgicznych (SSI) stanowią istotny problem w praktyce chirurgicznej, zarówno z klinicznego, jak i z ekonomicznego punktu widzenia, gdyż łącznie stanowią one trzecią – a w przypadku samych pacjentów chirurgicznych pierwszą – najczęstszą przyczynę zakażeń wewnątrzszpitalnych.

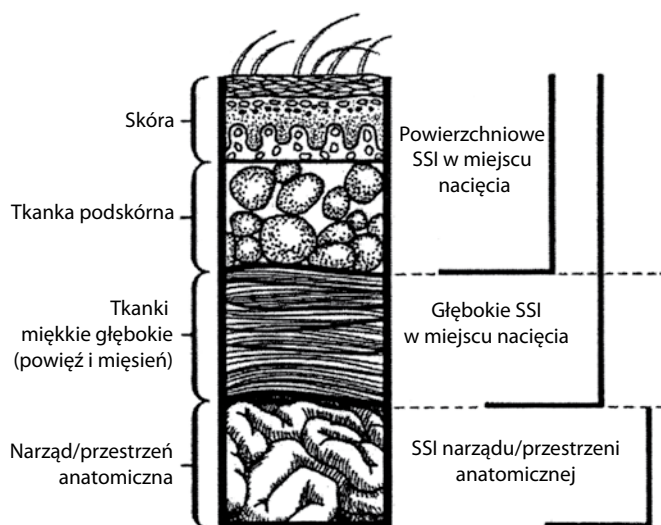
W USA częstość występowania SSI wśród wszystkich pacjentów chirurgicznych wynosi 2–3%, a 20% wśród pacjentów poddawanych operacjom jamy brzusznej<sup>1</sup>. Dane te mogą zaniżać rzeczywistą częstość występowania SSI ze względu na prawdopodobieństwo nieprawidłowego zgłaszania przez personel sanitarny zdarzeń występujących podczas zabiegu oraz warunków w sali operacyjnej<sup>2</sup>.

Przeprowadzone niedawno francuskie badanie ankietowe potwierdziło tę tezę, wykazując częstość SSI równą 7–10% przy uwzględnieniu wszystkich zabiegów chirurgicznych. Wskazuje to na częstość ponownej hospitalizacji równą 28% oraz 14% zgonów po operacji na skutek SSI<sup>3</sup>.

Badanie prospektywne przeprowadzone we Włoszech na 1396 pacjentach wykazało, że częstość występowania SSI wśród pacjentów chirurgicznych wynosi 11%<sup>4</sup>.

Ponadto należy podkreślić rosnącą liczbę przypadków SSI wywołanych przez mikroorganizmy odporne na antybiotyki, gdyż jest to problem dotyczący zarówno terapii, jak i rokowania.

A zatem poszukiwanie wyrobów medycznych, jakie można byłoby stosować w celu minimalizowania ryzyka SSI, stanowi priorytet, zwłaszcza w odniesieniu do zakażeń wywołanych przez bakterie Gram dodatnie



Rycina 1- Lokalizacja zakażeń w miejscu zabiegu chirurgicznego

takie jak *Staphylococcus aureus*, gronkowce koagulazoujemne i enterokoki, które są często izolowanymi czynnikami przyczynowymi SSI<sup>1,5</sup>. W szeregu opisanych w literaturze badań prowadzonych w warunkach *in vitro* na zwierzętach<sup>6</sup> 8 oceniano skuteczność przeciwbakteryjną substancji określanej jako utleniona regenerowana celuloza (ORC), wytwarzanej w reakcji chemicznej celulozy (utlenianie) z czterotlenkiem azotu (N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>), powodującej zakwaszenie środowiska (pH niemal 2,5). Takie kwaśne środowisko jest niekorzystne dla wielu bakterii zwykle opornych na leczenie w zakresie pH od 4,4 do 9.

Co więcej, ORC wykazuje także nieswoiste działanie przeciwko tym szczepom bakterii, które są bardziej odporne na antybiotyki.

Celem niniejszej pracy jest przedstawienie wyników randomizowanego, prospektywnego badania klinicznego z udziałem ludzi, którego celem była ocena skuteczności ORC w zanieczyszczonych miejscach zabiegów chirurgicznych.

Użyto modelu, jakim jest rana powstająca po zamknięciu stomii, uznawana z definicji za „brudną” ranę chirurgiczną o wysokim poziomie zanieczyszczenia bakteryjnego, a co za tym idzie – obciążoną podwyższonym ryzykiem rozwoju zakażenia<sup>9-11</sup> (rycina 1).

## MATERIAŁY I METODY

Od grudnia 2003 r. do grudnia 2006 r. wszystkich pacjentów Oddziału Chirurgii Przewodu Pokarmowego Università Cattolica del Sacro Cuore w Rzymie, we Włoszech, u których wykonywano zabiegi ileostomii lub kolostomii i którzy kwalifikowali się do planowego udrożnienia jelita, uznawano za potencjalnych kandydatów do tego badania (tabele I i II).

Każdy pacjent wypełnił kwestionariusz kwalifikacyjny, obejmujący informacje o jakichkolwiek występujących sytuacjach medycznych, które mogłyby stanowić przeciwwskazanie do udziału w badaniu, takich jak: niedobór odporności, stosowanie kortykosteroidów lub antybiotyków, chemioterapia i (lub) radioterapia w okresie ostatnich 30 dni przed zabiegiem udrożnienia, bądź ogniska zakażeń.

Następujące parametry uznano za czynniki ryzyka SSI: cukrzyca, palenie tytoniu, wiek (> 65 lat), przetoczenia, długi czas hospitalizacji przed operacją, czas operacji oraz założenie rurki do drenażu (tabela III).

W celu ułatwienia analizy wyników badania przeprowadzono standaryzację następujących parametrów:

**Tabela I Dane demograficzne pacjentów**

Liczba pacjentów	49
Średni wiek (lata życia)	56 (22-84)
Mężczyźni	30
Kobiety	19
Stosunek M / K	1 : 6

**Tabela II Charakterystyka kliniczna pacjentów**

	Grupa A	Grupa B
Ileostomia	16	14
Kolostomia	10	9
Choroba nowotworowa	16	13
Przewlekła choroba zapalna	5	5
Uchyłkowatość	2	1
Inna patologie	3	4

**Tabela III Czynniki ryzyka**

	Grupa A	Grupa B
<b>Czynniki ryzyka dotyczące pacjenta</b>		
Cukrzyca	1	3
Palenie tytoniu	5	3
Wiek > 65 lat	7	5
Czas hospitalizacji przed operacją > 2 dni	2	4
<b>Czynniki ryzyka dotyczące operacji</b>		
Czas operacji > 2 godziny	4	3
Przetoczenie krwi	1	1

- Usunięcie owłosienia przed zabiegiem operacyjnym.
- Profilaktyka z zastosowaniem antybiotyków: cefalosporyny (Eposerin 2 g dożylnie) i metronidazol (Deflamon 500 mg dożylnie) podane na jedną godzinę przed zabiegiem operacyjnym.
- Dezynfekcja skóry jodopowidonem (betadyna) przy rozpoczęciu zabiegu operacyjnego.

Pacjentów zakwalifikowanych do badania przydzielano do grupy terapeutycznej (A) lub do grupy kontrolnej (B).

Tabela II zawiera listę podstawowych patologii oraz typy stomii, jakie występowały u pacjentów.

W badaniu wzięło udział łącznie 49 pacjentów. Obie grupy były odpowiednio zbilansowane pod względem wieku (średni wiek: 56; zakres 21–84), płci (30 mężczyzn i 19 kobiet) oraz czynników ryzyka.

Do grupy A zrandomizowano 26 pacjentów: ich średni wiek wynosił 56 lat (zakres 22–84); u 1 pacjenta występowała cukrzyca, a 5 paliło tytoń. Średni czas hospitalizacji przed operacją wynosił 1,6 dnia (zakres: 0–4) (tabela III).

Do grupy B zrandomizowano 23 pacjentów: ich średni wiek wynosił 56 lat (zakres: 28–82); u 3 pacjentów występowała cukrzyca, a 3 paliło tytoń. Średni czas hospitalizacji przed operacją wynosił 2,6 dnia (zakres: 1–11) (tabela III).

Zabiegi chirurgiczne w grupie A były wykonywane przez 7 różnych chirurgów. Zespoleńia były zamykane ręcznie, przy użyciu szwów Vicryl w dwóch warstwach w 15 przypadkach, a w 11 przypadkach za pomocą mechanicznego urządzenia do zakładania szwów. Średni czas trwania operacji wynosił 1,6 godziny (zakres: 40 min–6 godzin) (tabela III).

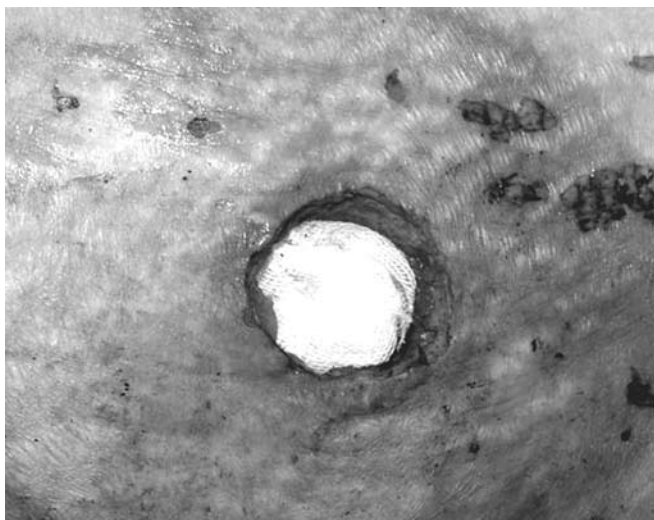
W grupie B zabiegi chirurgiczne były wykonywane przez 5 różnych chirurgów. Zespoleńia były zamykane ręcznie przy użyciu szwów Vicryl w dwóch warstwach w 15 przypadkach, a u 8 pacjentów za pomocą mechanicznego urządzenia do zakładania szwów. Średni czas trwania operacji wynosił 1,9 godziny (zakres: 1–7,30) (tabela III).

W grupie A ranę chirurgiczną – wcześniejsze miejsce stomii – wypełniano materiałem Surgicel® (Ethicon, Somerville, NJ, USA) zawierającym ORC (rycina 2), natomiast w grupie B stosowano gazę nasączoną jodyną (rycina 3).

Po udrożnieniu jelita u wszystkich pacjentów zamykano warstwę otrzewnową i powięziową, natomiast tkankę podskórną i skórę pozostawiano otwartą po założeniu 2–3 luźnych szwów nylonowych w skórze właściwej w celu umożliwienia późniejszego zbliżenia



Rycina 2 - Umieszczenie materiału Surgicel w miejscu wcześniejszej stomii



Rycina 3 - Zakładanie gazy nasączonej jodyną



Rycina 4 - Pobieranie wymazu z tkanki podskórnej i skóry właściwej

brzegów rany. Jeżeli nie doszło do zakażenia, całkowite zamknięcie rany wykonywano 72 godziny po pierwszej operacji. U wszystkich pacjentów zakładano dreny w okolicy zespolenia. Dane na temat czynników ryzyka, częstości występowania i mikrobiologii powierzchownych ran chirurgicznych gromadzono prospektywnie, a następnie porównywano dane uzyskane w obu grupach.

Mikrobiologiczne zanieczyszczenie rany oceniano przez wykonanie posiewów z 3 osobnych wymazów z rany (z tkanki podskórnej i skóry) (rycina 4): w sali operacyjnej przy końcu zabiegu udrożnienia jelita, przed umieszczeniem materiału w ranie, w 1. dniu po operacji oraz w 3. dniu po operacji, przed zeszcyciem skóry. Pierwszy posiew pozwalał ocenić wstępne zanieczyszczenie powierzchniowych warstw rany, identyfikując występujące gatunki bakterii. Pozostałe dwa posiewy oceniały, czy poszczególne typy wypełnienia rany (ORC

w porównaniu z gazą nasączoną jodyną) miały wpływ na zanieczyszczenie bakteriami.

## WYNIKI

W żadnej grupie nie zaobserwowano przypadków rozejścia się rany ani wyraźnych oznak klinicznych powierzchownego lub głębokiego SSI.

U jednego pacjenta w grupie A wystąpiło opóźnione udrożnienie, u 1 rozwinęła się niedokrwistość w przebiegu krwawienia z drenów umieszczonych w miejscu zespolenia (zastosowano leczenie zachowawcze), a u 1 pacjenta wystąpiła temperatura powyżej 38°C. W okresie pooperacyjnym żaden pacjent nie wymagał intensywnej opieki.

W grupie B u 2 pacjentów wystąpiła temperatura powyżej 38°C, a 2 pacjentów wymagało intensywnej opieki w 1. dniu po operacji.

Łącznie we wszystkich posiewach najczęściej izolowanymi gatunkami bakterii były: *Enterococcus faecalis* D,

### Tabela IV Gatunki bakterii i grzybów izolowane najczęściej we wszystkich posiewach

- <i>Enterococcus Faecalis</i> D
- <i>Escherichia Coli</i>
- <i>Staphylococcus Epidermidis</i>
- <i>Pseudomonas Aeruginosa</i>
- <i>Staphylococcus Haemoliticus</i> , <i>Staphylococcus Aureus</i> , <i>Klebsiella Pneumoniae</i>
- <i>Enterococcus Avium</i>
- <i>Candida Albicans</i>
- <i>Bacteroides Fragilis</i>
- <i>Staphylococcus Lugdunensis</i> , <i>Morganella Morganii</i>
- <i>Staphylococcus Hominis</i> , <i>Citrobacter Youngae</i> , <i>Candida Parapsilosis</i> , <i>Bacteroides Distasonis</i> , paciorkowce $\beta$ -hemolizujące z grupy F
- <i>Staphylococcus Warneri</i> , <i>Veillonella Parvula</i> , <i>Clostridium Innocuum</i> , <i>Enterococcus Raffinosus</i> , <i>Acinetobacter Calcoaceticus</i>
- <i>Baumannii Complex</i> , <i>Clostridium Perfringens</i> , <i>Proteus Mirabilis</i>

*Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* (tabela IV).

W grupie A najczęściej izolowano następujące gatunki bakterii (tabela V):

- w 1. posiewie: *Enterococcus faecalis* D, *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*;
- w 2. posiewie: *Enterococcus faecalis* D, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* i *Enterococcus avium*;
- w 3. posiewie: *Enterococcus faecalis* D, *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*.

W grupie B najczęściej izolowano następujące gatunki bakterii (tabela V):

- w 1. posiewie: *Enterococcus faecalis* D, *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*;
- w 2. posiewie: *Enterococcus faecalis* D, *Escherichia coli* i *Staphylococcus epidermidis*;
- w 3. posiewie: *Enterococcus faecalis* D, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* i *Candida albicans*.

Tabela VI przedstawia ogólne wyniki ewolucji/zmian bakteryjnego zanieczyszczenia rany, zarejestrowanego w opisanych niżej posiewach.

wanego w opisanych niżej posiewach.

U 9 pacjentów z grupy A (35%) 2. i 3. posiew były ujemne; u 8 innych pacjentów (30,5%) zaobserwowano stałą redukcję zanieczyszczenia bakteriami, mianowicie redukcję liczby zidentyfikowanych gatunków w 2. i 3. posiewie w porównaniu z 1. posiewem; u 3 pacjentów (11,5%) 2. i 3. posiew nie wykazały żadnych zmian w zidentyfikowanych gatunkach; u 3 innych pacjentów (11,5%) zaobserwowano stały wzrost zanieczyszczenia bakteriami w 2. i 3. posiewie, mianowicie wzrost liczby zidentyfikowanych gatunków w 2. i 3. posiewie; u 3 pozostałych pacjentów (11,5%) wyników 3. posiewu nie można było zinterpretować, gdyż zaobserwowano u nich zmianę jakościową, lecz nie ilościową wyizolowanych gatunków bakterii. Ten ostatni wynik jest prawdopodobnie związany z zanieczyszczeniem próbki oraz ogólnie z nieprzestrzeganiem prawidłowych procedur podczas pobierania i transportu próbek.

W grupie B żaden z 2. lub 3. posiewów nie był ujemny; u 6 pacjentów (26%) zaobserwowano stałą redukcję zanieczyszczenia bakteriami, wykazaną w 2. i 3. posiewie; u 8 pacjentów (34,8%) 2. i 3. posiew nie wykazały

**Tabela V Gatunki izolowane najczęściej w poszczególnych posiewach w obu grupach**

Posiewy	Grupa A	Grupa B
I Posiew	<i>Enterococcus Faecalis</i> D <i>Escherichia Coli</i> <i>Staphylococcus Aureus</i> <i>Klebsiella Pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus Haemoliticus</i> , <i>Staphylococcus</i> <i>Lugdunensis</i> , <i>Bacteroides Fragilis</i> , <i>Enterococcus Avium</i> <i>Staphylococcus Epidermidis</i> , <i>Acinetobacter</i> <i>Calcoaceticus</i> , <i>Morganella Morganii</i>	<i>Enterococcus Faecalis</i> D <i>Escherichia Coli</i> <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> <i>Staphylococcus Haemoliticus</i> , <i>Bacteroides Fragilis</i> , <i>Staphylococcus Epidermidis</i> , <i>Bacteroides Distasonis</i> , <i>Staphylococcus Aureus</i> <i>Clostridium Perfringens</i> , <i>Staphylococcus Warneri</i> , <i>Enterococcus Avium</i> , <i>Morganella Morganii</i> , <i>Proteus</i> <i>Mirabilis</i> , <i>Veillonella Parvula</i> , <i>Clostridium Innocuum</i> , <i>Enterococcus Raffinosus</i>
II Posiew	<i>Enterococcus Faecalis</i> D <i>Escherichia Coli</i> <i>Staphylococcus Epidermidis</i> , <i>Enterococcus Avium</i> <i>Staphylococcus Haemoliticus</i> , <i>Staphylococcus Aureus</i> , <i>Klebsiella Pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus Lugdunensis</i> , <i>Citrobacter Youngae</i> , <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> , <i>Morganella Morganii</i>	<i>Enterococcus Faecalis</i> D <i>Escherichia Coli</i> <i>Staphylococcus Epidermidis</i> , <i>Klebsiella Pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus Aureus</i> <i>Staphylococcus Haemoliticus</i> , <i>Staphylococcus Hominis</i> , <i>Enterococcus avium</i> , <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> , paciorkowce $\beta$ -hemolizujące z grupy F, <i>Candida Albicans</i>
III Posiew	<i>Enterococcus Faecalis</i> D <i>Escherichia Coli</i> <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> <i>Staphylococcus Hominis</i> , <i>Staphylococcus Haemoliticus</i> , <i>Citrobacter Youngae</i> , <i>Enterococcus Avium</i> , <i>Staphylococcus Epidermidis</i> , <i>Klebsiella Pneumoniae</i> , <i>Candida Albicans</i>	<i>Enterococcus Faecalis</i> D <i>Staphylococcus Epidermidis</i> <i>Escherichia Coli</i> , <i>Candida Albicans</i> <i>Candida Parapsilosis</i> , <i>Klebsiella Pneumoniae</i> <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus Haemoliticus</i> , paciorkowce $\beta$ -hemolizujące z grupy F

żadnych zmian; u 7 pacjentów (30,5%) zaobserwowano stały wzrost zanieczyszczenia bakteriami po 1. posiewie; u 2 pacjentów (8,7%) 3. posiewu nie można było zinterpretować w sposób miarodajny.

Analiza wszystkich zebranych danych wykazała, że 2. i 3. posiew były ujemne, a bakteryjne zanieczyszczenie rany zmniejszyło się u 17 pacjentów (65%) w grupie A oraz jedynie u 6 pacjentów (26%) w grupie B ( $p = 0,0059$ ).

## DYSKUSJA

SSI stanowią obecnie najczęstsze powikłanie w chirurgii<sup>3</sup> i mają istotne znaczenie ekonomiczne i kliniczne ze względu na wzrost kosztów opieki zdrowotnej i wydłużenie czasu hospitalizacji po operacji.

„Brudne” rany chirurgiczne są szczególnie związane z jeszcze większą częstością miejscowych i długotrwałych powikłań zakaźnych, w związku z czym chirurdzy preferują pozostawianie ich do wygojenia przez ziarninowanie<sup>4</sup>.

W konsekwencji SSI mają istotny wpływ na:

- aspekt kliniczny: mogą one niekorzystnie wpływać na chorobowość, przyczyniając się na przykład do wystąpienia martwicy tkanek, rozejścia się rany, septycznych powikłań zakrzepowo zatorowych, a nawet sepsy; mogą one także być odpowiedzialne za długofalowe skutki takie jak powstawanie przepukliny brzusznej, oszpecające lub powodujące dolegliwości blizny, a także nawracający, przewlekły ból. Mogą także mieć wpływ na wskaźniki umieralności<sup>1</sup>;
- aspekt ekonomiczny: generują one wyższe koszty dla państwowej służby zdrowia w związku z kosztami przedłużonej hospitalizacji po operacji oraz większą liczbą wizyt u lekarzy ogólnych<sup>12</sup>.

**Tabela VI - Ewolucja zanieczyszczenia bakteryjnego**

	Grupa A (26)	Grupa B (23)	p
Posiewy ujemne	9 (35%)	0	0.0059
Posiewy z redukcją zanieczyszczenia	8 (30.5%)	6 (26%)	0.71
Posiewy ze wzrostem zanieczyszczenia	3 (11.5%)	7 (30.5%)	0.101
Posiewy niezmiennione	3 (11.5%)	8 (34.8%)	0.051
Posiewy z niejasnymi wynikami	3 (11.5%)	2 (8.7%)	0.743

W USA SSI są przyczyną przedłużenia hospitalizacji po operacji średnio o 7,3 dnia, przy średnim koszcie 3 400 euro na rok na każdy przypadek zakażenia, co daje ogólne wydatki rzędu 2 miliardów dolarów każdego roku<sup>1</sup>.

W tym kontekście poszukiwanie materiałów medycznych, które mogą odegrać istotną rolę w zapobieganiu/redukowaniu częstości występowania SSI, ma duże znaczenie i stanowi przedmiot dużego zainteresowania.

Mangram określił w swojej pracy<sup>1</sup> standardowe kryteria definiowania SSI, ustalone przez Krajową Agencję Nadzoru Zakażeń Wewnątrzszpitalnych w USA (US National Nosocomial Infections Surveillance – INSI) (tabela VII)<sup>13</sup>.

Zgodnie z tymi kryteriami, SSI można podzielić na zakażenia w miejscu nacięcia oraz zakażenia narządów-przestrzeni anatomicznych (rycina 1). Zakażenia w miejscu nacięcia mogą mieć charakter powierzchowny, gdy obejmują tylko skórę i tkankę podskórną, bądź głęboki, gdy obejmują powięź i mięśnie. Zakażenia narządów-przestrzeni anatomicznych związane z zabiegami chirurgicznymi mogą dotyczyć dowolnych struktur anatomicznych, naruszonych lub poddawanych manipulacjom podczas operacji, z wyjątkiem powłok jamy brzusznej.

W badaniu Mangrama i wsp.<sup>1</sup> SSI w 70% przypad-

**Tabela VII – Klasyfikacja ran chirurgicznych**

**Klasa I / czyste:** rana związana z zabiegiem chirurgicznym, w której nie wystąpił stan zapalny i która nie dotyczy dróg oddechowych, przewodu pokarmowego, dróg rodnych ani dróg moczowych. Ranę czystą zamyka się przez rychłozrost, a w razie potrzeby drenuje się przy użyciu drenu zamkniętego. Rany chirurgiczne wynikające z urazu tępego należy zaliczyć do tej kategorii, o ile spełniają powyższe kryteria.

**Klasa II / czyste-zanieczyszczone:** rana chirurgiczna związana z planowym zabiegiem chirurgicznym w obrębie dróg oddechowych, przewodu pokarmowego, dróg rodnych lub dróg moczowych, bez nietypowego zanieczyszczenia. Do kategorii tej należą też rany związane z zabiegami chirurgicznymi w obrębie dróg żółciowych, wyrostka robaczkowego, pochwy i nosogardzieli, o ile zastosowana technika nie powoduje stanu zapalnego lub znacznego urazu.

**Klasa III / zanieczyszczone:** rany otwarte, świeże i przypadkowe. Do kategorii tej należą rany wynikające z zabiegów chirurgicznych związanych z poważnymi urazami, gdy stosuje się techniki sterylne (np.: otwarty masaż serca) lub w przypadkach znacznego wydostania się treści przewodu pokarmowego bądź nacięć, w których napotyka się ostry, nieropny stan zapalny.

**Klasa IV / brudne-zakażone:** stare rany urazowe, zawierające martwe tkanki, a także rany w miejscach istniejących zakażeń klinicznych lub perforowanych narządów wewnętrznych. Oznacza to, że mikroorganizmy powodujące zakażenie pooperacyjne występowały w sali operacyjnej przed zabiegiem.

**Tabela VIII Główne patogeny i zabiegi związane z SSI<sup>1</sup>**

Zabiegi chirurgiczne	Patogeny <sup>(1)(2)</sup>
Wszystkie rodzaje przeszczepów, ustawianie protezy	<i>Staphylococcus aureus</i> ; gronkowce koagulazoujemne
Operacje serca	<i>Staphylococcus aureus</i> ; gronkowce koagulazoujemne
Neurochirurgia	<i>Staphylococcus aureus</i> ; gronkowce koagulazoujemne
Zabiegi dotyczące gruczołów piersiowych	<i>Staphylococcus aureus</i> ; gronkowce koagulazoujemne
Zabiegi okulistyczne Dane ograniczone: zazwyczaj zabiegi takie jak resekcja przedniego oka, witrektomia i odkształcenia twardówki	<i>Staphylococcus aureus</i> ; gronkowce koagulazoujemne paciorkowce, pałeczki Gram-ujemne
Zabiegi ortopedyczne Całkowita alloplastyka stawu Złamania zamknięte / użycie igieł, płytek kostnych i innych wewnętrznych urządzeń zespajających	<i>Staphylococcus aureus</i> ; gronkowce koagulazoujemne; pałeczki Gram-ujemne
Zabiegi w obrębie klatki piersiowej, które nie dotyczą serca Lobektomia, pneumonektomia, resekcja klinowa Inne zabiegi w obrębie śródpiersia, które nie dotyczą serca Torakostomia z zamkniętą rurką	<i>Staphylococcus aureus</i> ; gronkowce koagulazoujemne; <i>Streptococcus pneumoniae</i> ; pałeczki Gram-ujemne
Zabiegi naczyniowe	<i>Staphylococcus aureus</i> ; gronkowce koagulazoujemne
Appendektomia	Pałeczki Gram-ujemne; bakterie beztlenowe
Zabiegi w obrębie dróg żółciowych	Pałeczki Gram-ujemne; bakterie beztlenowe
Zabiegi dotyczące jelita grubego	Pałeczki Gram-ujemne; bakterie beztlenowe
Zabiegi dotyczące żołądka i dwunastnicy	Pałeczki Gram-ujemne; paciorkowce; bakterie beztlenowe pochodzące z nosogardzieli (np. <i>Peptostreptococci</i> )
Zabiegi w obrębie głowy i szyi (zwłaszcza zabiegi związane z nacięciem śluzówki nosogardzieli)	<i>Staphylococcus aureus</i> ; paciorkowce; bakterie beztlenowe pochodzące z nosogardzieli (np. <i>Peptostreptococci</i> )
Zabiegi położnicze i ginekologiczne	Pałeczki Gram-ujemne; enterokoki; paciorkowce z grupy B; bakterie beztlenowe
Zabiegi urologiczne	Pałeczki Gram-ujemne

<sup>1</sup> Głównie patogeny ze źródeł endo- i egzogennych; <sup>2</sup>Gronkowce są związane ze wszystkimi typami SSI w chirurgii.

ków były związane z miejscami cięć chirurgicznych, a w 30% przypadków obejmowały narządy lub przestrzenie anatomiczne, które były poddawane manipulacjom podczas operacji. Jeżeli chodzi o dane NNSI, warto zaobserwować, że populacja czynników patogennych izolowanych w SSI pozostaje zasadniczo niezmienną od roku 1986 do 1996 (tabela VIII) – najczęściej izolowanymi patogenami są: *Staphylococcus aureus*, gronkowce koagulazoujemne, różne typy enterokoków i *Escherichia coli*. Z drugiej strony, zaobserwowano wzrost częstości SSI wywołanych przez patogeny odporne na antybiotyki, takie jak metycylinooporne szczepy *Staphylococcus aureus* (MRSA)<sup>15,16</sup>, *Candida albicans* i ogólnie zakażenia grzybicze<sup>17</sup>.

Dane te mogą być związane z podwyższoną liczbą pacjentów chirurgicznych z zaburzeniami odporności, jak też z szerokim, nieuzasadnionym i niewłaściwym stosowaniem antybiotyków o szerokim spektrum działania<sup>1</sup>, co prowadzi do wzrostu oporności mikroorganizmów na antybiotyki.

Nasza praca – pierwsza, która dotyczy badania przeprowadzonego na ludziach – przedstawia wyniki randomizowanego, prospektywnego badania z udziałem 49 pacjentów poddawanych udrożnieniu jelita, u których rany chirurgiczne – miejsce wcześniejszej stomii – były wypełniane materiałem Surgicel® zawierającym ORC (26 pacjentów) lub gazą nasączoną jodyną (23 pacjentów) w celu oceny częstości występowania SSI w ocenie kli-

nicznej i mikrobiologicznej poprzez porównanie obu grup.

Jako przedmiot badania wybrano rany pozostałe po zamknięciu stomii, gdyż są one z definicji uznawane za rany „brudne”, w których częstość występowania zakażeń wynosi 30–40%<sup>9-11</sup>. Rany takie stanowią doskonały model do oceny skuteczności materiału Surgicel®, który charakteryzuje się miejscowym redukowaniem pH, przez co tworzy środowisko niekorzystne dla wzrostu mikroorganizmów, w tym także tych wykazujących oporność na antybiotyki. Dane przedstawione w literaturze wykazują również, że w zabiegach chirurgicznych związanych z otwarciem jelita najczęstsze i najciężiej przebiegające SSI są spowodowane bezpośrednim zanieczyszczeniem przez patogeny takie jak bakterie Gram ujemne (np. *Escherichia coli*), bakterie Gram dodatnie (np. enterokoki), a czasem bakterie beztlenowe (np. *Bacillus fragilis*)<sup>1,5</sup>. W naszym badaniu we wszystkich posiewach łącznie najczęściej izolowanymi patogenami były rzeczywiście *Enterococcus faecalis* D i *Escherichia coli*.

W naszym badaniu izolowano także grzyby. W 5 przypadkach wykryto *Candida albicans*, a w dwóch przypadkach – *Candida parapsilosis*, co potwierdza dane z literatury wskazujące, że w rzadkich przypadkach grzyby egzo- lub endogenne mogą powodować SSI<sup>17</sup>.

W badaniu tym zaobserwowaliśmy statystycznie istotną różnicę ( $p = 0,0059$ ) pod względem redukowania lub ustępowania bakteryjnych SSI, gdzie w grupie leczonej materiałem Surgicel® 35% posiewów było ujemnych w porównaniu z 0 posiewów w grupie kontrolnej, a redukcję zanieczyszczenia bakteriami stwierdzono u 30% w grupie leczonej z zastosowaniem ORC w porównaniu z 26% w grupie kontrolnej. Wzrost liczby bakterii zaobserwowano w 3 posiewach (11,5%) w grupie leczonej z zastosowaniem ORC oraz w 7 posiewach (30%) w grupie leczonej gazą nasączoną jodyną.

## WNIOSKI

Badania przeprowadzone w celu oceny skuteczności przeciwbakteryjnej ORC były dotychczas prowadzone niemal wyłącznie w warunkach *in vitro* lub na zwierzętach.

Przedstawione w niniejszej pracy wyniki naszego wstępnego badania oceniającego działanie przeciwbakteryjne ORC u ludzi są zachęcające.

Możemy podsumować, że – choć należy rozważyć wszystkie czynniki, które mogły mieć wpływ na SSI i jednocześnie podjąć wszystkie działania, co do których

wykazano, że skutecznie redukują ryzyko takich zakażeń – analiza literatury oraz naszych wstępnych wyników (pomimo stosunkowo niewielkiej liczby pacjentów) pozwala uznać, iż stosowanie ORC jako materiału pomocniczego w zapobieganiu SSI jest uzasadnione, zwłaszcza u pacjentów poddawanych tzw. operacjom chirurgicznym „zanieczyszczonym” lub „brudnym”.

W przyszłości dane te powinny jednak zostać potwierdzone innymi, przeprowadzonymi na większą skalę, randomizowanymi badaniami wieloośrodkowymi.

## REFERENCJE

1. Mangram AJ, Horan TC, Pearson M, Silver LC, Jarvis WR. Guideline for prevention of surgical site infection. Infect Control Hosp Epidemiol 1999; 20: 247-78.
2. Barie PS. Surgical site infection: epidemiology and prevention. Surg Infect (Larchmt) 2002; 3: S9-21.
3. Perniceni T, Vons C. Interest of a programme of monitoring of infections' incidence of the operative site in digestive surgery. Ann Chir 2002; 127: 786-90.
4. Barana L, Gastaldo L, Maestri F, Sgarrella A, Rescigno G, Prati U, et al. Postoperative infection. A prospective analysis of 1,396 cases. Min Chir 1992; 47: 1177-87.
5. Centers for Disease Control and Prevention: National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) report, data summary from October 1986-April 1996, issued May 1996. A report from the NNIS System. Am J Infect Control 1996; 24: 380-8.
6. Dineen P. Antibacterial activity of oxidized regenerated cellulose. Surg Gynecol Obst 1976; 142: 481-6.
7. Dineen P. The effect of oxidized regenerated cellulose on experimental intravascular infection. Surgery 1977; 82: 576-9.
8. Dineen P. The effect of oxidized regenerated cellulose on experimental infected splenotomies. J Surg Res 1977; 23: 114-6.
9. Garner JS. CDC guideline for prevention of surgical wound infections, 1985. Supersedes guideline for prevention of surgical wound infections published in 1982. (Originally published in November 1985). Revised. Infect Control 1986; 7: 193-200.
10. Cruse PJ, Foord R. The epidemiology of wound infection. Surg Clin North Am 1980; 60: 27-39.
11. Grace RH, Cox SJ. Incidence of incisional hernia following dehiscence of the abdominal wound. Proc R Soc Med 1973; 66: 1091-2.
12. Fry DE. The economic costs of surgical site infection. Surg Infect 2002; 3: S37-43.
13. Horan TC, Gaynes RP, Martone WJ, Jarvis WR, Emori TG. CDC definitions of nosocomial surgical site infections, 1992: a modification of CDC definitions of surgical wound infections. Infect Control Hosp Epidemiol 1992; 13: 606-8.
14. Velasco E, Thuler LC, Martins CA, Dias LM, Conalves VM. Risk factors for infectious complications after abdominal surgery for malignant disease. Am J Infect Control 1996; 24: 1-6.
15. Schaberg DR. Resistant gram positive organisms. Ann Emerg Med 1994; 24: 462-4.
16. Schaberg DR, Culver DH, Gaynes RP. Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. Am J Med 1991; 91: S72-5.
17. Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections with emphasis on *Candida* species. Clin Infect Dis 1995; 20: 1526-30.



# Aktywność przeciwdrobnoustrojowa utlenionej regenerowanej celulozy w warunkach *in vitro* w stosunku do drobnoustrojów opornych na antybiotyki

DANIEL SPANGLER,<sup>1</sup> STEPHEN ROTHENBURGER,<sup>1</sup> KIEN NGUYEN,<sup>2</sup>  
HANUMAN JAMPANI,<sup>3</sup> SCOTT WEISS,<sup>4</sup> i SHUBHANGI BHENDE<sup>1</sup>

## STRESZCZENIE

**Tło:** Pojawianie się wielolekoopornych drobnoustrojów stanowi kluczowy problem w przypadku pacjentów poddawanych zabiegom chirurgicznym. Kwaśne pH, wytwarzane przez utlenioną regenerowaną celulozę (ORC), wykazuje szerokie, niekorzystne spektrum działania fizjologicznego na przeżycie drobnoustrojów, które powodują zakażenia w chirurgii. Celem niniejszego badania było zbadanie przeciwdrobnoustrojowego działania ORC wobec organizmów antybiotykoopornych.

**Metody:** Wyroby ORC zakażano szczepami referencyjnymi ATCC oraz izolatami klinicznymi metycylooopornego *Staphylococcus aureus* (MRSA), metycylooopornego *Staphylococcus epidermidis* (MRSE), wankomycynoopornego *Enterococcus* (VRE), penicylooopornego *Streptococcus pneumoniae* (PRSP) oraz szczepami ATCC *S. aureus* i *Pseudomonas aeruginosa* niewykazującymi oporności. Próbkę trzech wyrobów ORC (wchłaniany materiał hemostatyczny SURGICEL\*, wchłaniany filamentowy materiał hemostatyczny SURGICEL\* i wchłaniany materiał hemostatyczny SURGICEL NU-KNIT\*, (\*zastrzeżony znak towarowy Ethicon), do celów niniejszego badania określone odpowiednio jako: ORC-R, ORC-F i ORC-N) inokulowano zakaźnymi organizmami w bulionie odżywczym w celu uzyskania stosunku wagowo/objętościowego 15 mg ORC/ml. Po 0, 1, 6 i 24 godzinach odczytywano płytki.

**Wyniki:** Obserwowano działanie przeciwdrobnoustrojowe wszystkich trzech wyrobów ORC wobec zakaźnych organizmów. Uzyskane dane wskazują, że antybiotykooporne drobnoustroje są wrażliwe na przeciwdrobnoustrojowe działanie ORC. W badaniu, po 24-godzinnej ekspozycji, obserwowano spadek liczby drobnoustrojów o co najmniej 103 dla dziewięciu z 10 badanych bakterii, w tym czterech antybiotykoopornych izolatów klinicznych (VRE, MRSA i PRSP). Jeden szczep ATCC VRE wykazywał pewnego stopnia oporność na działanie kwaśnego pH. Spadek liczby tych bakterii po zastosowaniu ORC-N wynosił 103, a po zastosowaniu ORC-R i ORC-F był mniejszy od dziesięciokrotnego.

**Wnioski:** Ponieważ kwaśne pH wpływa na względnie szerokie spektrum bakterii i, w przeciwieństwie do antybiotyków, nie działa w sposób swoisty, jest mało prawdopodobne, aby szczepy antybiotykoopornych bakterii były odporne na działanie ORC zależne od pH. Wyniki tego badania *in vitro* potwierdzają hipotezę, że ORC wykazuje skuteczne działanie przeciwdrobnoustrojowe wobec drobnoustrojów antybiotykoopornych.

<sup>1</sup> Corporate Microbiology and Sterilization Sciences, Ethicon, Somerville, New Jersey.

<sup>2</sup> Johnson & Johnson Wound Management, Somerville, New Jersey.

<sup>3</sup> Johnson & Johnson Consumer Products, Skillman, New Jersey.

<sup>4</sup> Austin, Texas.

**P**OJAWIANIE SIĘ antybiotykoopornych drobnoustrojów stanowi kluczowy problem w przypadku pacjentów poddawanych zabiegom chirurgicznym. W przypadku zakażenia antybiotykoopornym drobnoustrojem leczenie i wyzdrowienie pacjenta napotyka na trudności [1]. W związku z tym w chirurgii istnieje zapotrzebowanie na wyroby, które będą zmniejszały ryzyko zakażenia. Najważniejsze znaczenie ma zapobieganie zakażeniom ran pooperacyjnych (ZRP).

Problem ten dotyczy przede wszystkim grupy bakterii gram dodatnich, do której należą trzy najczęstsze patogeny izolowane z ZRP i która często wykazuje antybiotykooporność. Są to: gronkowiec złocisty (*Staphylococcus aureus*), koagulazoujemne gronkowce i bakterie z rodzaju *Enterococcus*. W badaniu przeprowadzonym na terenie całego kraju w latach 1990–1996, 20% ZRP było spowodowanych przez gronkowca złocistego [1]. W tym samym badaniu koagulazoujemne gronkowce odpowiadały za 14% ZRP, a bakterie z rodzaju *Enterococcus* za 12%.

Utleniona regenerowana celuloza (ORC) jest szeroko wykorzystywana w trakcie zabiegów chirurgicznych jako materiał hemostatyczny. Chociaż na rynku dostępnych jest kilkanaście wyrobów, które są wykorzystywane w celach hemostatycznych, ORC jest jedynym materiałem hemostatycznym wykazującym szerokie spektrum działania przeciwdrobnoustrojowego [2]. Utleniona regenerowana celuloza jest wytwarzana w procesie utleniania celulozy czterotlenkiem azotu ( $N_2O_4$ ) [3].

Po raz pierwszy ogólne omówienie właściwości przeciwdrobnoustrojowych ORC w warunkach *in vitro* oraz *in vivo* przedstawił Dineen [2]. Badania przeprowadzone w warunkach *in vitro* wskazują, że ORC wywierają działanie przeciwdrobnoustrojowe przeciw szerokiemu spektrum patogenów. W badaniach tych posługiwano się strefami zahamowania wzrostu oraz ilościowym odzyskiem szerokiego zakresu organizmów zakaźnych za pomocą ORC w bulionie tryptozowo-sojowym. W modelu zakażonej rany u świnek morskich ORC wykazywały aktywność w warunkach *in vivo*, zapobiegając wystąpieniu posocznicy, w porównaniu z modelami zakażonej rany u zwierząt kontrolnych [2]. W badaniu *in vivo* przypadków zakażeń u psów mieszańców po zabiegu splenektomii Dineen wykazał,

że ORC skutecznie zmniejszała liczbę bakterii po zakażeniu szczepem testowym [4]. W innym badaniu przeprowadzonym na psach mieszańcach, owinięcie przeszczepu aortalnego w materiał z ORC przed zakażeniem szczepem testowym prowadziło do zmniejszenia liczby bakterii [5].

Pernet [6] wykazał, że ORC była skuteczna w warunkach *in vitro* wobec koagulazoujemnych gronkowców, *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter calcoaceticus*. Dineen [4] jednoznacznie stwierdził, że mechanizm działania ORC niewątpliwie zależy od wpływu na pH, gdyż w warunkach *in vitro* działanie przeciwbakteryjne ORC można osłabić lub wyeliminować wodorotlenkiem sodu. Dineen podał, że pH ORC w warunkach *in vitro* wynosi około 2,5 [5]. W podsumowaniu stwierdził, że tak kwaśne środowisko jest zabójcze dla większości organizmów [4]. W innej pracy Abaev i wsp. [7] eksponowali materiały celulozowe na wzrastające stężenia  $N_2O_4$  i stwierdzili, że liczba grup karboksylowych przyłączonych do celulozy była wprost proporcjonalna do działania przeciwdrobnoustrojowego na *S. aureus*.

Należy zwrócić uwagę, że dla wielu organizmów, w tym gronkowców, *Pseudomonas*, paciorkowców, pałeczek coli i innych bakterii często występujących w przypadku ZRP związanych z wyrobami medycznymi, zakres pH umożliwiającego przeżycie wynosi 4,4–9 [14]. Ponieważ kwaśne pH wpływa na względnie szerokie spektrum bakterii i w przeciwieństwie do antybiotyków nie wywiera działania swoistego, postawiliśmy hipotezę, że antybiotykooporne szczepy bakterii nie będą odporne na efekt ORC związany ze zmianą pH. W niniejszej pracy przedstawiamy ocenę aktywności przeciwdrobnoustrojowej ORC wobec antybiotykoopornych drobnoustrojów przeprowadzoną *in vitro*.

## MATERIAŁY I METODY

### Szczepy bakteryjne

Do drobnoustrojów stosowanych w tym badaniu należały: izolaty kliniczne oraz szczepy pochodzące z Amerykańskiej Kolekcji Szczepów Wzorcowych (ATCC, Manassas, VA, USA). Izolaty kliniczne, uzyskane z Robert Wood Johnson Pharmaceutical Research Institute (PRI), obejmowały: metycylinooporny *Staphylococcus au-*

reus (MRSA) (CIOC4159), wankomycynooporny *Enterococcus faecalis* (VRE) (CI-OC4328), wankomycynooporny *Enterococcus faecium* (CI-OC4345) i penicylinooporny *Streptococcus pneumoniae* (PRSP) (CI-OC4409). Badane szczepy pochodzące z ATCC obejmowały MRSA (ATCC 33591), metycylinooporny *Staphylococcus epidermidis* (MRSE; ATCC 51625), VRE (ATCC 700221), a także *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) i *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) niewykazujące oporności

### Ocena

Przygotowano inokulaty szczepów bakteryjnych, inokulując bulion kulturami badanych organizmów i inkubując je w temperaturze 30–35°C przez 24 godziny. Wszystkie szczepy hodowano w bulionie tryptozowo-sojowym (TSB) (Difco, Grand Island, NY), z wyjątkiem PRSP, który hodowano w bulionie z wyciągiem mózgowo-sercowym (BHI, Difco).

Celem niniejszego badania była ocena wpływu kilku próbek wyrobów ORC na zakażenie drobnoustrojami w okresie 24 godzin. Oceniano trzy różne wyroby ORC: wchłaniany materiał hemostatyczny SURGICEL\*, wchłaniany materiał hemostatyczny SURGICEL NU-KNIT\* i wchłaniany filamentowy materiał hemostatyczny SURGICEL\* (Ethicon, Somerville, NJ), do celów niniejszego badania określane odpowiednio jako: ORC-R, ORC-N i ORC-F.

Każdą próbkę ORC wycinano aseptycznie i ważono, tak aby uzyskać do 165 mg ( $\pm 5$  mg). Próbkę umieszczano w jałowych próbkach i inokulowano 0,1 ml zakaźnego drobnoustroju pochodzącego z 24-godzinnej hodowli. Bulion o objętości 11 ml dodawano do każdej badanej próbki, co prowadziło do uzyskania stężenia 15 mg ORC/ml podłoża. Zdecydowano się zastosować ten stosunek wagowo objętościowy głównie na podstawie wcześniejszych badań autorstwa Dineena [2], w których oceniano aktywność przeciwdrobnoustrojową, dodając 2 cm<sup>2</sup> ORC do 10 ml bulionu hodowlanego. Podłożem testowym dla wszystkich badanych szczepów było TSB (z wyjątkiem PRSP, w którego przypadku stosowano bulion BHI).

Po dodaniu podłoża, każdą badaną próbkę krótko wstrząsano na wstrząsarce. Z tak przy-

gotowanych próbek pobierano porcje próbek i następnie rozcieńczano 0,85% jałową solą fizjologiczną i wylewano na płytkę. Do zebrana drobnoustrojów z płytki używano agaru tryptozowo-sojowego (TSA, Difco), z wyjątkiem PRSP, w przypadku którego, ze względu na wymagający charakter tego drobnoustroju, zastosowano agar BHI. Procedurę tę przeprowadzano trzykrotnie, w punkcie czasowym 0 (bezpośrednio po inokulacji), 1, 6 i 24 godziny po inokulacji. Dodatkowo kontrole wszystkich badanych szczepów oznaczano równolegle z badanymi szczepami w obecności ORC, i wysiewano je na płytki w punkcie czasowym 0 i 24 godziny. Wszystkie płytki z wysianymi zebranymi drobnoustrojami inkubowano w temperaturze 30–35°C przez 24 godziny. Następnie płytki odczytywano, a wyniki odczytu zapisywano w postaci jednostek tworzących kolonie (CFU)/ml.

### Analiza statystyczna

Dla każdego połączenia wyrobu ORC/zakaźnego drobnoustroju dane uśredniano i wykreślano w skali logarytmicznej, w funkcji czasu. Dane analizowano przy użyciu testu t-Studenta; obliczano wartości p w celu stwierdzenia, czy obserwowano istotne działanie przeciwbakteryjne ( $p < 0,05$ ), czy nie. Różnice między odczytem w punkcie 0 i 24 godzin dla każdego organizmu i każdego wyrobu porównywano z różnicami między odczytem w punkcie 0 i 24 godzin dla kontroli, w których nie stosowano wyrobów ORC. Ze względu na małą wielkość próby, obliczenia wykonywano dla założenia nierównej wariancji. Kontrole, w których nie stosowano wyrobów ORC, przeprowadzano przy mniejszej liczbie powtórzeń, niż w przypadku właściwych próbek. W związku z tym, do celów obliczeń statystycznych poczyniono założenie, że każda kontrola dostarczyłaby prawdopodobnie takich samych danych, jak przeprowadzona kontrola. Na podstawie tego założenia dane kontrolne zwielokrotniono, aby uzyskać tę samą liczbę wartości, co we właściwych eksperymentach z zastosowaniem ORC.

### WYNIKI

Celem tego badania była ocena działania bakteriobójczego wyrobów ORC wobec antybioty-

TABELA 1. Procent Martwych Bakterii Zakaźnych Po Zastosowaniu Badanych Materiałów Orc Po 24 Godzinach.

Drobnoustroj	Źródło	Numer identyfikacyjny	Procent martwych bakterii (wartość p) po 24 godzinach ekspozycji		
			ORC-R	ORC-F	ORC-N
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	Izolat kliniczny	OC-4159	99.9999 (0.00002)	99.9999 (0.00001)	99.9999 (0.00009)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PRSP)	Izolat kliniczny	OC-4409	99.9999 (0.00008)	99.9999 (0.00001)	99.9996 (0.0003)
<i>Enterococcus faecium</i> (VRE)	Izolat kliniczny	OC-4345	99.9565 (0.004)	99.9998 (0.001)	99.9413 (0.00003)
<i>Enterococcus faecialis</i> (VRE)	Izolat kliniczny	OC-4238	99.9045 (0.0003)	99.9735 (0.003)	99.9992 (0.003)
<i>Enterococcus faecium</i> (VRE)	ATCC	700221	35.15 (0.001)	63.0939 (0.001)	99.9723 (0.002)
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (MRSE)	ATCC	51625	99.9999 (0.00007)	99.9999 (0.00004)	99.9999 (0.00004)
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC	6538	99.9999 (0.00004)	99.9999 (0.00004)	99.9999 (0.00001)
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	ATCC	33591	99.9147 (0.0001)	99.9831 (0.00007)	99.9999 (0.00007)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC	9027	99.9999 (0.00007)	99.9997 (0.0003)	99.9999 (0.0003)

Wartości *p* w jednostronnym teście *t*-Studenta obliczono przy założeniu nierównej wariancji.

ATCC, Amerykańska Kolekcja Szczepów Wzorcowych; MRSA, metycylinooporny gronkowiec złocisty; MRSE, metycylinooporny *S. epidermidis*; PRSP, penicylinooporny *S. pneumoniae*; VRE, wankomycynooporne enterokoki.

koopornych izolatów klinicznych. Wyniki badania wskazują, że wszystkie trzy wyroby ORC wywierają działanie przeciwdrobnoustrojowe wobec dziewięciu zakaźnych organizmów. W Tabeli 1 przedstawiono podsumowanie aktywności trzech wyrobów ORC na 24 godziny po ekspozycji organizmów na te wyroby. Wartości *p* uzyskane w teście *t*-Studenta wskazują, że wszystkie wyroby wywierały działanie przeciwbakteryjne, w porównaniu z odpowiednimi kontrolami, niezawierającymi ORC.

Uzyskane dane przedstawiono graficznie na Rycinach 1–3. W jałowych (ujemnych) kontrolach dla agaru i soli fizjologicznej nie uzyskano wzrostu drobnoustrojów po 24 godzinach inkubacji w temperaturze 30–35°C. W kontrolach dodatnich liczba drobnoustrojów przy braku ORC wzrosła we wszystkich przypadkach co najmniej 100-krotnie. Sugeruje to, że spadek liczby drobnoustrojów był bezpośrednio związany ze spadkiem pH podłoża wzrostowego, wtórnym do zastosowania ORC, gdyż po 24-godzinym zastosowaniu ORC/bulionu obserwowano logarytmiczny spadek liczby drobnoustrojów.

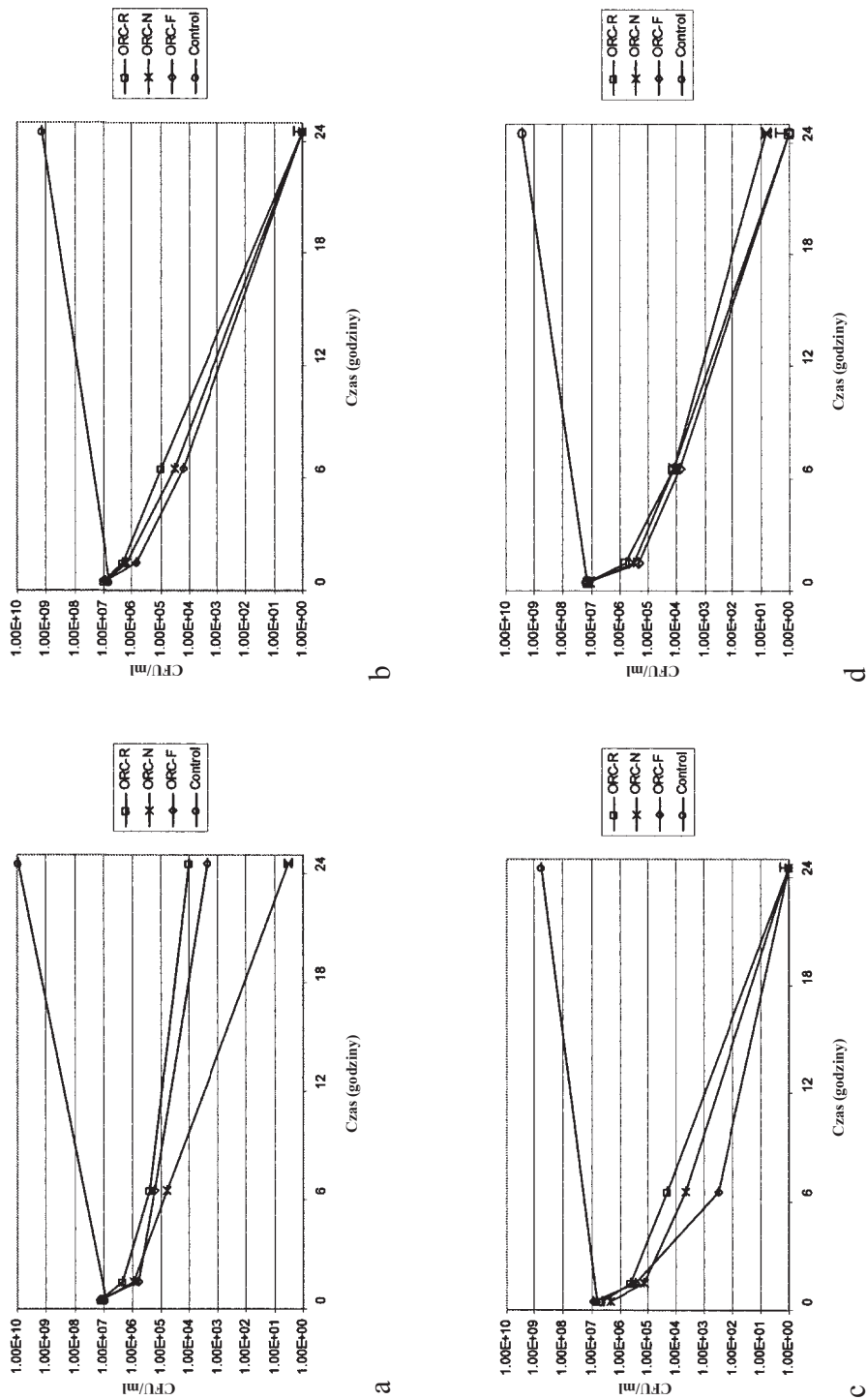
W Tabeli 2 przedstawiono względny wpływ wyrobów ORC na spadek pH TSB przy braku i w obecności bakteryjnego inokulum. Po zasto-

sowaniu wszystkich trzech wyrobów, w okresie 24 godzin badania obserwowano spadek pH od około 7,3 do 3,7–4,5 w porównaniu z kontrolami. Wśród trzech badanych wyrobów najszybszy spadek pH obserwowano po zastosowaniu ORC-F (pH 4,8 w punkcie czasowym 0) i ostatecznie przez całe 24 godziny badania pH utrzymywało się na poziomie poniżej 4.

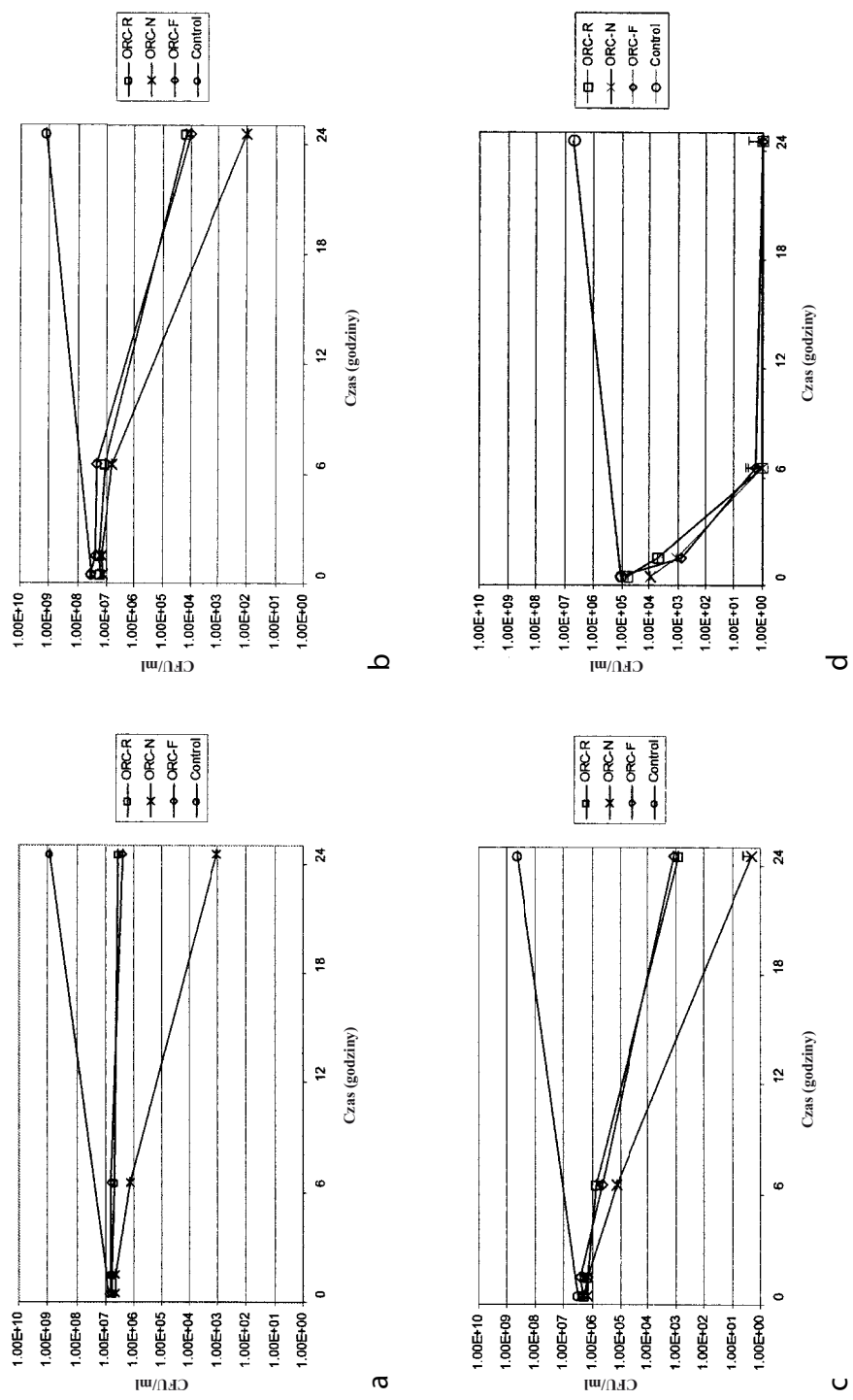
#### Badanie z zastosowaniem gronkowców

Na Rycinie 1 przedstawiono wyniki uzyskane dla gronkowców, w tym metycylinoopornego szczepu *S. aureus* ATCC 33591 (Ryc. 1a) i *S. epidermidis* ATCC 51625 (Ryc. 1c), szczepów *S. aureus* ATCC 6538 niewykazujących oporności (Ryc. 1b) i metycylinoopornego izolatu klinicznego *S. aureus* CI-OC4159 (Ryc. 1d). Wyniki uzyskane dla izolatu klinicznego oraz szczepu ATCC MRSE i szczepu ATCC niewykazującego antybiotykooporności pokazują spadek liczby drobnoustrojów po 24 godzinach o co najmniej  $10^6$  (Ryc. 1a, c, d). Na Rycinie 1a pokazano, że w przypadku MRSA ATCC 33591, dla ORC-R i ORC-F po 24 godzinach obserwowano spadek liczby drobnoustrojów o około  $10^3$ , natomiast dla ORC-N o około  $10^6$ .

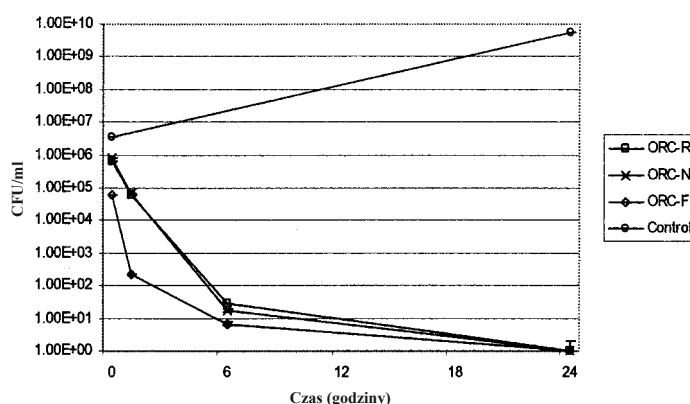




RYC. 1. Spadek liczby (a) *Metacyliooopomych S. aureus* (MRSA) 33591, (b) *S. aureus* ATCC 6538, (c) *Metacyliooopomych S. epidermidis* ATCC 51625 i (d) izolatów klinicznych MRSA CI-OC4159 w trakcie 24-godzinnej ekspozycji na trzy wyroby utlenionej regenerowanej celulozy w bulionie tryptozowo-sojowym, w skali logarytmicznej (Wszystkie liczby bakterii wyrażono w jednostkach tworzących kolonie (CFU/ml)).



RYC. 2. Spadek liczby (a) wankomycynoopornych *Enterococcus* (VRE) ATCC 700221, (b) izolatów klinicznych VRE *faecalis* CIO4159, (c) izolatów klinicznych VRE *faecium* CI-OC4345 i (d) penicylinoopornych *Streptococcus pneumoniae* w trakcie 24-godzinnej ekspozycji na trzy wyroby utlenionej regenerowanej celulozy w bulionie tryptozowo-sojowym, w skali logarytmicznej.



RYC. 3. Spadek liczby *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 w trakcie 24-godzinnej ekspozycji na trzy wyroby utlenionej regenerowanej celulozy w bulionie tryptozowo-sojowym, w skali logarytmicznej.

### Badanie z zastosowaniem wankomycynoopornych enterokoków i penicylinoopornych paciorkowców

Na Rycinach 2 a-c przedstawiono wyniki odpowiednio dla jednego referencyjnego szczepu ATCC i dla dwóch klinicznych izolatów VRE. W przypadku izolatów klinicznych, liczba drobnoustrojów spadła o  $10^3$ – $10^4$  po 24 godzinach ekspozycji na ORC-R i ORC-F i o  $10^5$ – $10^6$  dla ORC-N. W przypadku szczepu ATCC VRE (Ryc. 2a), spadek liczby drobnoustrojów był mniejszy od 10-krotnego dla ORC-R i ORC-F i wynosił około  $10^4$  dla ORC-N. Ten wynik może być przynajmniej częściowo konsekwencją znanej tolerancji pH przez niektóre bakterie VRE [10].

Rycina 2d wskazuje, że wszystkie trzy badane materiały ORC doprowadziły do szybkiego spadku liczby penicylinoopornych *S. pneumoniae* (PRSP). W ciągu sześciu godzin liczba żywych bakterii spadła o co najmniej  $10^5$ ; w ciągu 24 godzin badania obserwowano dalszy spadek liczby drobnoustrojów.

### Badanie z zastosowaniem *Pseudomonas aeruginosa*

Badanie z zastosowaniem *P. aeruginosa* ATCC 9027 przeprowadzono, aby ocenić aktywność wobec bakterii gram ujemnych. Uzyskane wyniki były zgodne z wynikami wcześniejszej pracy autorstwa Dineena [2]. Jak pokazano na Rycinie 3, organizm ten był podatny na szybkie działanie przeciwdrobnoustrojowe wszystkich trzech badanych materiałów ORC, przy czym

liczba bakterii spadła o co najmniej  $10^3$  po 6 godzinach i o  $10^3$  do  $10^4$  po 24 godzinach.

Wartości p w jednostronnym teście t-Studenta obliczono przy założeniu nierównej wariancji. ATCC, Amerykańska Kolekcja Szczepów Wzorcowych; MRSA, metycylinooporny gronkowiec złocisty; MRSE, metycylinooporny *S. epidermidis*; PRSP, penicylinooporny *S. pneumoniae*; VRE, wankomycynooporne enterokoki.

**RYC. 1.** Spadek liczby (a) Metycylinoopornych *S. aureus* (MRSA) 33591, (b) *S. aureus* ATCC 6538, (c) Metycylinoopornych *S. epidermidis* ATCC 51625 i (d) izolatów klinicznych MRSA CI-OC4159 w trakcie 24-godzinnej ekspozycji na trzy wyroby utlenionej regenerowanej celulozy w bulionie tryptozowo-sojowym, w skali logarytmicznej (Wszystkie liczby bakterii wyrażono w jednostkach tworzących kolonie (CFU)/ml).

Tabela 2. Wartości Ph Wyrobów Utlenionej Regenerowanej Celulozy (Orc) W Bulionie Tryptozowo-sojowym

Format wyrobu	Czas (godz.)			
	0	1	6	24
ORC-R z bakteriami <sup>a</sup>	6.9	4.3	4.3	4.2
ORC-R bez bakterii	6.9	4.3	4.3	4.3
ORC-N z bakteriami	7.0	4.5	4.5	4.5
ORC-N bez bakterii	7.0	4.5	4.4	4.4
ORC-F z bakteriami	4.8	3.9	4.0	4.0
ORC-F bez bakterii	4.8	3.9	3.6	3.7
Kontrola z bakteriami	7.3	7.2	7.2	6.7
Kontrola bez bakterii	7.3	7.2	7.2	7.2

<sup>a</sup> Próbkę zawierającą bakterie inokulowano około 106 cfu *S. epidermidis* ATCC 51625.

Skróty wyjaśniono w tekście

## OMÓWIENIE WYNIKÓW

Powszechnie wiadomo, że przeżycie i wzrost drobnoustrojów wymaga spełnienia pewnych ogólnych wymagań fizjologicznych, niezależnych od profilu wrażliwości na antybiotyki danego organizmu. Wymagania te obejmują właściwy zakres temperatur, składniki odżywcze, tlen (lub jego brak w przypadku bakterii beztlenowych), wilgotność i pH. W ludzkim organizmie drobnoustroje napotykają niezbędne dla wzrostu składniki odżywcze, temperaturę, wilgotność i tlen. Zasadniczo wszystkie płyny ustrojowe dostarczają odpowiednich organicznych składników odżywczych dla optymalnego wzrostu bakterii [11].

Znaczne zakwaszenie lub zasadowość mogą skutecznie zmniejszyć wzrost i przeżycie drobnoustrojów. Strategia ta jest szeroko stosowana w przemyśle żywnościowym, farmaceutycznym i kosmetycznym [13]. Jak wspomniano wcześniej, zakres pH od 4,4 do 9,0 jest zakresem wzrostu dla wielu organizmów [14], w tym *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, pałeczek coli i innych często występujących w ZRP. Wyniki niniejszego badania wskazują, że działanie ORC obniżające pH było skuteczne wobec wszystkich badanych izolatów klinicznych. Jak wspomniano wcześniej, kliniczne izolaty VRE były bardziej wrażliwe na działanie przeciwdrobnoustrojowe wyrobów ORC, niż szczep ATCC 700221, który spośród wszystkich zakaźnych organizmów wykazał się największą opornością na przeciwdrobnoustrojowy efekt spadku pH, zależny od ORC. Fakt, że w tym badaniu szczep *Enterococcus* był organizmem najoporniejszym na pH nie jest zaskakujący. W badaniach fermentacyjnych stwierdzono, że niektóre szczepy *Enterococcus* obniżają pH bulionu glukozowego poniżej wartości 4,2, a niektóre szczepy są także zdolne do wzrostu w pH 9,6 [10]. To sprawia, że enterokoki są jednymi z powszechniejszych rodzajów ziarniaków gram dodatnich w różnych wartościach pH. Należy natomiast zaznaczyć, że izolaty kliniczne VRE wykorzystywane w tym badaniu nie wykazywały istotnej oporności na działanie przeciwdrobnoustrojowe ORC.

W niniejszym badaniu ORC-N był istotnie skuteczniejszy wobec VRE, niż ORC-R i ORC-F. W przypadku ORC-N, liczba drobnoustrojów po 24-godzinnej ekspozycji była co najmniej o

$10^2$  niższa niż w przypadku pozostałych dwóch wyrobów ORC. Chociaż nie zbadano do końca powodów tej różnicy, może być ona związana z fizyczną konfiguracją macierzy wyrobu lub jego utkaniem. Bardzo luźna, względnie gruba (>5 mm) macierz o wyglądzie zbliżonym do bawełny jest charakterystyczna dla ORC-F. ORC-R jest względnie cienką (o grubości około 1 mm), luźno utkaną tkaniną o wyglądzie zbliżonym do gazy. ORC-N jest grubszy od ORC-R i najściślej utkany – jest najgęstszy z trzech omawianych wyrobów. Chociaż wszystkie badania przeprowadzono przy jednakowym stosunku wagowo-objętościowym, konfiguracja utkania wyrobu może tłumaczyć uzyskane różnice.

Jak wykazano w tym badaniu, ORC wywiera działanie przeciwbakteryjne, najprawdopodobniej związane z kwaśnym środowiskiem opisanym wcześniej przez Dineena [5]. Dane uzyskane w tym badaniu *in vitro* potwierdzają wyniki wcześniejszych badań i wskazują, że antybiotykkooporność patogenów nie wpływa na ich wrażliwość na przeciwdrobnoustrojowe działanie ORC zależne od spadku pH.

<sup>a</sup> Próbkę zawierającą bakterie inokulowano około  $10^6$  cfu *S. epidermidis* ATCC 51625.

Skróty wyjaśniono w tekście

## PODZIĘKOWANIA

Chcielibyśmy podziękować dr Karen Bush i Barbarze Foleno z Robert Wood Johnson Pharmaceutical Research Institute za pomoc w uzyskaniu izolatów klinicznych.

## BIBLIOGRAFIA

1. Rapp RP. Overview of resistant gram-positive pathogens in the surgical patient. *Surg Infect* 2000;1: 39–47.
2. Dineen P. Antibacterial activity of oxidized regenerated cellulose. *Surg Gynecol Obstet* 1976;142:481–486.
3. Stilwell R, Marks M, Saferstein L, Wiseman D. Oxidized cellulose: Chemistry, processing and medical applications. In Domb AJ, Kost J, Wiseman D, eds. *Handbook of Biodegradable Polymers*. Newark, NJ: Harwood Academic Publishers, 1997:291–304.
4. Pernet M. Antibacterial effect of oxidized regenera-



5. Dineen P. The effect of oxidized regenerated cellulose on experimental intravascular infection. *Surgery* 1977; 82:576–579.
6. Dineen P. The effect of oxidized regenerated cellulose on experimental infected splenotomies. *J Surg Res* 1977;23:114–116.
7. Abaev Y, Kaputsky V, Adarchenko A, Sobeshchuk O. Mechanism of antibacterial effects of monocarboxyl cellulose and other ion exchange derivatives of cellulose. *Antibiot Med Biotekhnol* 1986;31:624–628.
8. Sands K, Vineyard G, Platt R. Surgical site infections occurring after hospital discharge. *J Infect Dis* 1996; 173:963–970.
9. Nichols R. Surgical wound infection. *Am J Med* 1991; 91:54–64.
10. Mundt, JO. Enterococci. In Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG, eds. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 2. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986:1063.
11. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell D, et al. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995;49:711–745.
12. Aly R. Effects of drugs on cutaneous microbial flora. In Marizulli F, Maibach H, eds. *Advances in Modern Toxicology*, Vol. 4, *Dermatotoxicology and Pharmacology*. Washington, DC and London: Hemisphere Publishing Company, 1977:504.
13. Kostenbauder H. Physical factors influencing the activity of antimicrobial agents. In Block S, ed. *Disinfection, Sterilization, Preservation*, 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991:60–61.
14. Atlas R, Bartha R. *Microbial Ecology: Fundamentals and Applications*. Manila: Addison-Wesley, 1981.
15. Larson PO. Topical hemostatic agents for dermatologic surgery. *J Dermatol Surg Oncol* 1988;14:623–631.
16. Dimitrijevič SD, Tatarko M, Gracy R, et al. In vivo degradation of oxidized, regenerated cellulose. *Carbohydr Res* 1990;198:331–341.

Adres dla próśb o reprint:

*Daniel Spangler, MS*

*Corporate Research Microbiology*

*Ethicon*

*P.O. Box 151*

*Somerville, NJ 08876*

*E-mail: dspangl2@ethus.jnj.com*

## Niniejszy artykuł był cytowany przez:

1. Jarmila Vytrasova, Andrea Tylsova, Iveta Brozkova, Libor Cervenka, Marcela Pejchalova, Pavel Havelka. 2008. Antimicrobial effect of oxidized cellulose salts. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* **35**:11, 1247-1252. [CrossRef]
2. H. Seyednejad, M. Imani, T. Jamieson, A. M. Seifalian. 2008. Topical haemostatic agents. *British Journal of Surgery* **95**:10, 1197-1225. [CrossRef]
3. Omar Felipe Duenas-Garcia, Jeffrey M. Goldberg. 2008. Topical Hemostatic Agents in Gynecologic Surgery. *Obstetrical & Gynecological Survey* **63**:6, 389-394. [CrossRef]
4. J. Dissemond. 2007. Praktische Konsequenzen durch den Nachweis von MRSA in chronischen Wunden. *Der Hautarzt* **58**:11, 952-958. [CrossRef]
5. Ahmed El-Assmy, Waleed Eassa, Mohamed Abd El-Hamid, Eman M. Nour, Ashraf T. Hafez. 2007. Use of oxidized cellulose for corporal body grafting and suture-less correction of severe penile chordee: an experimental study in rabbits. *BJU International* **99**:5, 1098-1102. [CrossRef]
6. Joachim Dissemond, Andreas Korber, Michaela Lehnert, Stephan Grabbe. 2005. Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus (MRSA) in chronischen Wunden: Therapeutische Optionen und Perspektiven. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in chronic wounds: Therapeutic options and perspectives. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft* **3**:4, 256-262. [CrossRef]
7. Leslie J. Christenson, Clark C. Otley, Randall K. Roenigk. 2005. Oxidized Regenerated Cellulose Gauze for Hemostasis of a Two-Stage Interpolation Flap Pedicle. *Dermatologic Surgery* **30**:12p2, 1593-1594. [CrossRef]