



TOMASZ M. KARPIŃSKI¹, MACIEJ SOPATA², BARTOSZ MAŃKOWSKI³

¹Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

²Pracownia Leczenia Ran Przewlekłych, Katedra i Klinika Medycyny Paliatywnej, Hospicjum Palium, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

³Klinika Chirurgii Urazowej, Leczenia Oparzeń i Chirurgii Plastycznej, Wielospecjalistyczny Szpital Miejski im. J. Strusia, Poznań

PRACA POGLĄDOWA

SKUTECZNOŚĆ PRZECIWDROBNOUSTROJOWA ANTYSEPTYKÓW WYZWANIEM W RANACH TRUDNO GOJĄCYCH SIĘ

The antimicrobial effectiveness of antiseptics as a challenge in hard to heal wounds

STRESZCZENIE

Rany trudno gojące się, do których zaliczamy zarówno rany przewlekłe, jak i chirurgiczne, stanowią istotny problem kliniczny i są wyzwaniem dla lekarzy. Utrudniony proces gojenia jest często związany z obecnością w ranie drobnoustrojów chorobotwórczych, zwłaszcza szczepów wielolekoopornych lub zdolnych do tworzenia biofilmu, które nie tylko powodują rozwój zakażenia, lecz także przedłużają proces leczenia. Dlatego stosowanie miejscowych opatrunków oraz preparatów o działaniu przeciwdrobnoustrojowym jest kluczowym elementem procesu terapeutycznego. Niniejsze opracowanie ma na celu usystematyzowanie wiedzy i przegląd skuteczności biobójczej dostępnych produktów zawierających substancje przeciwdrobnoustrojowe, które są wykorzystywane w leczeniu ran trudno gojących się, ze szczególnym uwzględnieniem ran zagrożonych lub objętych procesem infekcji.

SŁOWA KLUCZOWE

gojenie się ran, infekcje, bakterie, biofilm, antyseptyki

ABSTRACT

Hard to heal wounds, which include both chronic wounds and surgical, are a significant clinical problem and are a challenge for physicians. The hindered healing process is often related to the presence of pathogenic microorganisms within the wound, remarkably multi-drug resistant strains, or those capable of forming a biofilm. They not only lead to the development of infection but also prolong the healing process. Therefore, the use of topical dressings and antimicrobial preparations is a crucial element of the therapeutic process. This review aims to systematize the knowledge and assess the biocidal effectiveness of the available products containing antimicrobial substances, which are used to treat wounds that are hard to heal, with particular emphasis on at risk of becoming infected or infected wounds.

KEY WORDS

wound healing, infection, bacteria, biofilm, antiseptics

ADRES DO KORESPONDENCJI

dr hab. n. med. Tomasz M. Karpiński, prof. UMP, Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, ul. Wieniawskiego 3, 61-712 Poznań, e-mail: tkarpin@ump.edu.pl

WSTĘP

Pomimo coraz większej dostępności licznych preparatów o działaniu przeciwdrobnoustrojowym oraz wspomagających proces gojenia, leczenie ran jest dużym problemem. Szczególnie trudnym wyzwaniem klinicznym dla lekarzy jest leczenie ran trudno gojących się, do których zaliczamy zarówno rany przewlekłe, jak i chirurgiczne. Najczęstsze postacie ran to: rany chirurgiczne (pooperacyjne), owrzodzenia żyłne goleni, zespół stopy cukrzycowej, oparzenia oraz odleżyny. Rany trudno gojące się oraz ich częste nawroty istotnie wpływają na komfort życia pacjentów. Według najnowszych

danych w Polsce problem ten dotyczy ponad 500 tys. osób, a w USA 2,4–4,5 mln [1, 2]. Częstość występowania ran trudno gojących się stale wzrasta, co jest związane m.in. z postępującym procesem starzenia się społeczeństwa. Jest to problem interdyscyplinarny, ponieważ istnieje wiele jednostek chorobowych, w tym otyłość, cukrzyca czy miażdżyca naczyń obwodowych, które predysponują do występowania ran trudno gojących się [3]. Równie istotnym czynnikiem jest obecność w ranie drobnoustrojów chorobotwórczych, zwłaszcza zdolnych do tworzenia biofilmu lub szczepów wielolekoopornych, które nie tylko powodują rozwój zaka-

żenia, lecz także zakłócają gojenie i przedłużają proces leczenia. Mają również wpływ na wzrost kosztów leczenia. Dlatego niezwykle ważne jest kompleksowe leczenie ran trudno gojących się oparte na miejscowym stosowaniu specjalistycznych opatrunków oraz preparatów o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, które są kluczowym elementem procesu terapeutycznego [4, 5].

Niniejsze opracowanie ma na celu usystematyzowanie wiedzy i przegląd skuteczności bójczej dostępnych produktów zawierających substancje przeciwdrobnoustrojowe wykorzystywanych w leczeniu ran trudno gojących się, ze szczególnym uwzględnieniem ran narażonych lub objętych procesem infekcji.

OCENA MIKROBIOLOGICZNEGO STANU RANY

Wśród drobnoustrojów najczęściej izolowanych z ran przewlekłych znajdują się zarówno tlenowe bakterie Gram-dodatnie, m.in. *Staphylococcus aureus*, w tym oporny na metycylinę (MRSA), *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, a także Gram-ujemne, np. *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* i *Escherichia coli*. Ponadto za infekcje ran mogą być odpowiedzialne bakterie beztlenowe z takich rodzajów, jak *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium* i *Clostridium* [6–8].

Najczęstszymi problemami w trakcie leczenia ran trudno gojących się są zakażenia wywołane przez bakterie bądź grzyby oraz wzrastająca rola biofilmu. Badania i liczne publikacje wskazują, że jednym z głównych czynników patologicznych w ranach trudno gojących się jest biofilm. Oznacza to, że skuteczna kontrola biofilmu jest niezbędna w poszczególnych fazach gojenia się rany [9–11]. Biofilm jest strukturą zawierającą bakterie i wytworzoną przez nie macierz zewnątrzkomórkową, która je otacza i umożliwia ochronę przed warunkami środowiskowymi i odpowiedzią immunologiczną gospodarza. Ponadto utrudnia penetrację antybiotyków oraz substancji przeciwdrobnoustrojowych, ograniczając ich skuteczność. Bakterie tworzące biofilm mogą się komunikować na drodze przekazywania chemicznego (*quorum sensing*), a także są zdolne do wymiany genów oporności na antybiotyki [12, 13].

Właściwa ocena stanu mikrobiologicznego rany jest kluczowa w procesie leczenia, ponieważ umożliwia dobrane odpowiednich miejscowych środków o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, a tym samym pozwala na optymalizację terapii. W sytuacji braku możliwości przeprowadzenia diagnostyki mikrobiologicznej bardzo ważne są objawy kliniczne sugerujące rozwój

biofilmu i zakażenie w ranie. Należą do nich m.in. duża ilość nekrotyzowanej tkanki, szklistość i zwiększony wysięk, nieprzyjemny zapach, powłoka fibrynowa czy też brak gojenia. W takich przypadkach walka z biofilmem i zakażeniem polega na skutecznym usuwaniu drobnoustrojów poprzez regularne oczyszczanie skóry i łożyska rany. W tym celu należy stosować połączenie substancji przeciwdrobnoustrojowej z surfaktantem, czyli substancją obniżającą napięcie powierzchniowe. Połączenia takie występują zarówno w produktach zawierających substancje przeciwdrobnoustrojowe, jak i specjalistycznych opatrunkach [2]. Szczególnie istotny jest dobór właściwego środka przeciwdrobnoustrojowego, który będzie skuteczny wobec form planktonicznych bakterii oraz będzie się charakteryzował wysokim stopniem penetracji przez struktury biofilmu [14].

Kluczowym elementem w procesie leczenia ran jest prawidłowa diagnostyka mikrobiologiczna, oparta na identyfikacji drobnoustrojów i ocenie ich lekowrażliwości. Równie istotna jest ciągła współpraca mikrobiologów i klinicystów. Konieczne jest również uwzględnienie najnowszej wiedzy z zakresu czynników etiologicznych zakażeń oraz analiza sytuacji epidemiologicznej. Nie można też zapominać o monitorowaniu sytuacji mikrobiologicznej w placówce i ocenie mechanizmów oporności u izolowanych szczepów. Pełna diagnostyka mikrobiologiczna umożliwia analizę zagrożenia i pozwala na ograniczenie rozprzestrzeniania się zakażeń wewnątrz danej placówki [15, 16].

PATOFIZJOLOGIA ZAKAŻEŃ RAN TRUDNO GOJĄCYCH SIĘ I ZASADY POSTĘPOWANIA

Drobnoustroje mogą przedostawać się do rany poprzez migrację własnej flory fizjologicznej pacjenta bądź poprzez bezpośredni kontakt (np. użycie niejałowych narzędzi, opatrunków czy płynów). Ranę mogą także skolonizować drobnoustroje znajdujące się w powietrzu lub wodzie. Obecność bakterii w ranie przy jednoczesnym braku odpowiedzi gospodarza nazywana jest kontaminacją. Jeśli dochodzi do namnażania drobnoustrojów, mówi się o kolonizacji. Warto jednak podkreślić, że stan ten nie wpływa negatywnie na proces gojenia rany oraz nie powoduje pogorszenia jej stanu. Środowisko rany stwarza jednak idealne warunki do rozwoju mikroorganizmów. Duża liczba bakterii może powodować upośledzenie gojenia oraz rozwój procesu zapalnego, co określane jest jako kolonizacja krytyczna. Etap ten może bezpośrednio poprzedzać infekcję. Znaczne pogorszenie stanu rany, opóźnienie procesu

gojenia oraz nasilone dolegliwości bólowe przy jednoczesnej silnej odpowiedzi immunologicznej organizmu świadczą o rozwoju zakażenia [17–20].

Biorąc pod uwagę konieczność postępowania miejscowego, w tym także z wykorzystaniem strategii wczesnego zapobiegania tworzeniu biofilmu, rany można podzielić na niezakażone, „zagrożone ryzykiem infekcji” oraz zakażone. W celu oceny ryzyka możemy także posłużyć się skalą WAR (*Wounds At Risk, Rany Zagrożone Ryzykiem Infekcji*), która opiera się na ocenie czynników ryzyka i predyspozycji do wystąpienia zakażenia, a tym samym umożliwia podjęcie odpowiednich działań terapeutycznych bądź profilaktycznych [21].

Zgodnie z wytycznymi Polskiego Towarzystwa Leczenia Ran (PTLR) oraz międzynarodowego konsensusu dotyczącego postępowania z ranami trudno gojącymi się najważniejsze jest wykorzystanie strategii wczesnego zapobiegania tworzeniu się biofilmu opartej na higienie rany [2, 10, 19]. Rany niezakażone, czyli w fazie kontaminacji, kolonizacji i kolonizacji krytycznej, należy regularnie monitorować i oczyszczać. Długoletnie badania i obserwacje kliniczne wykazały, że decydującymi czynnikami wpływającymi na jakość procesu gojenia się ran są ich dokładne oczyszczenie, utrzymanie wilgotnego środowiska i ochrona przed zakażeniem. Pomocne w tym procesie jest przemywanie ran produktami zwanymi lawaseptykami, z zawartością substancji przeciwdrobnoustrojowej i surfaktantu, np. oktenidyna (OCT) z etyloheksylogliceryną, poloksamer lub betaina z poliheksanidem (PHMB). Rany są jednak ekspozowane na warunki niejałowe i narażone na zakażenie. Dotyczy to szczególnie ran późno poddanych opracowaniu chirurgicznemu i rozległych, ze znacznym zniszczeniem tkanek. Zgodnie z Wytycznymi PTLR oraz Farmakopeą Europejską w przypadku ran rozległych należy stosować produkty sterylne [2, 22].

SKUTECZNOŚĆ MIKROBIOLOGICZNA ANTYSEPTYKÓW

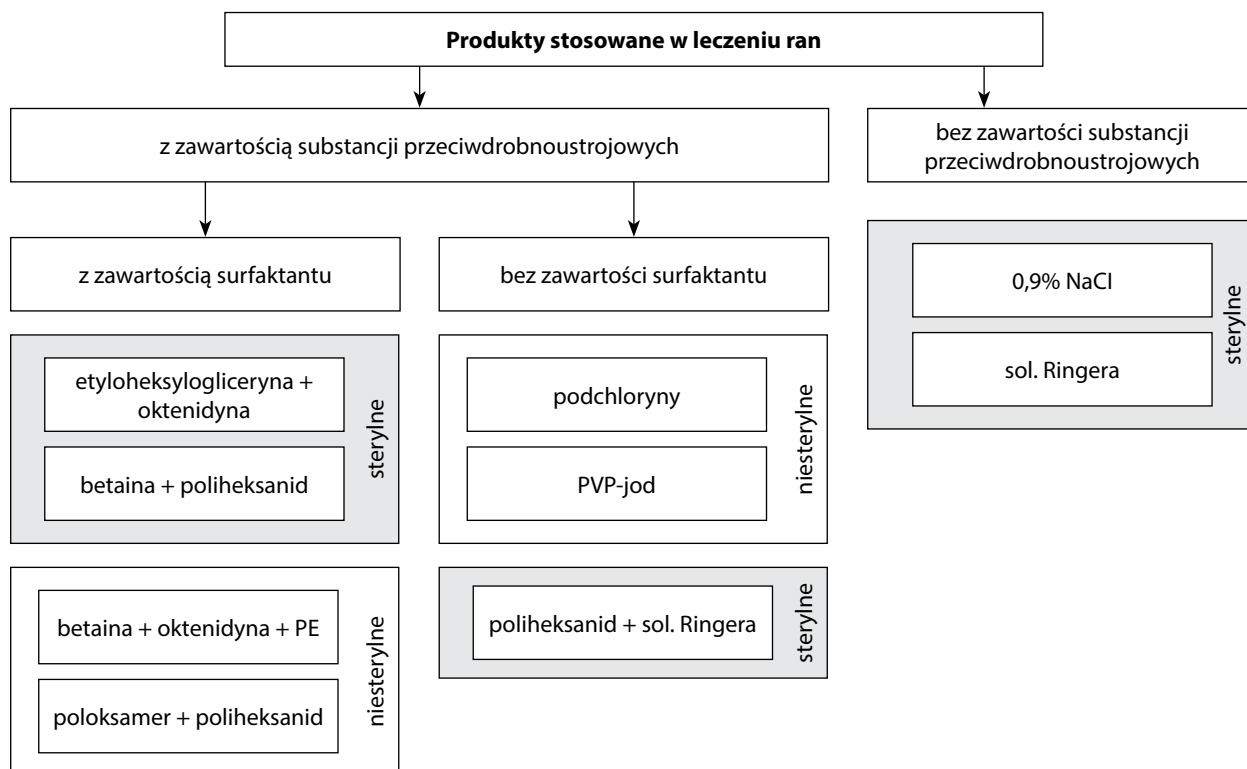
Kryteria doboru produktów przeciwdrobnoustrojowych w procesie gojenia się rany:

- skuteczność przeciwdrobnoustrojowa obejmująca jak najszersze spektrum w jak najkrótszym czasie, dostosowanym do codziennej praktyki klinicznej,
- tolerancja tkankowa,
- cytotoksyczność i kancerogenność,
- zawartość substancji zmniejszających napięcie powierzchniowe (tzw. surfaktantów),
- zdolność penetracji przez biofilm,

- brak efektu bólowego,
- brak narastania oporności nawet wskutek długotrwałego stosowania,
- kompatybilność ze stosowanymi opatrunkami specjalistycznymi,
- brak inaktywacji pod wpływem obciążeń białkowych i zmian pH [2, 19].

Preparaty i opatrunki stosowane przy opracowywaniu rany powinny działać profilaktycznie i zwalczać infekcję oraz tworzenie się biofilmu we wszystkich stanach mikrobiologicznych rany. W tym celu producenci oprócz substancji przeciwdrobnoustrojowych dodają do nich substancje powierzchniowo czynne (surfaktanty), które mają za zadanie obniżyć napięcie powierzchniowe lub międzyfazowe pomiędzy cieczą a ciałem stałym w celu zwiększenia siły oczyszczania. Prowadzi to do niszczenia struktury biofilmu i szybszego jego usunięcia podczas zmiany opatrunków [23, 24]. Na rycinie 1 przedstawiono charakterystykę wybranych tzw. nowoczesnych antyseptyków, czyli preparatów o zróżnicowanych właściwościach przeciwdrobnoustrojowych i w miarę niskiej cytotoksyczności, stosowanych w opiece nad raną i dostępnych w Polsce [8, 25, 26]. Istotne są również inne cechy produktów warunkujące ich zastosowanie, takie jak bezbarwność umożliwiająca ocenę stanu rany oraz wysoki indeks biogodności (*Biocompatibility Index – BI*), który powinien wynosić $BI > 1$. Z uwagi na opisane właściwości produkty na bazie oktenidyny i poliheksanidu są rekomendowane w przypadku ran trudno gojących się, takich jak rany przewlekłe i oparzeniowe. W ranach zakażonych, szczególnie szczepami wielolekoopornymi (MDR), a także w ranach pooperacyjnych, rekomendowane jest zastosowanie połączenia oktenidyny i fenoksyetanolu [2, 27].

Przeciwdziałanie powstawaniu biofilmu i jego eradykacja to zadanie niezwykle trudne do zrealizowania bez wprowadzenia agresywnych, nieselektywnych metod fizycznych. Opieka nad raną z biofilmem polega na zastosowaniu strategii BBWC (*biofilm-based wound care*) [28]. W metodzie tej stosuje się m.in. płyny z zawartością surfaktantu w połączeniu z opracowaniem mechanicznym przy użyciu gąbek lub opracowanie chirurgiczne z płukaniem substancjami przeciwdrobnoustrojowymi zawierającymi surfaktant. Podstawowym założeniem strategii BBWC jest częste opracowywanie rany (enzymatyczne, biologiczne, mechaniczne oraz przeciwdrobnoustrojowe w połączeniu z surfaktantem) w celu dokładnego usunięcia warstw martwicy,



RYC. 1. Wybrane nowoczesne antyseptyki dostępne w Polsce

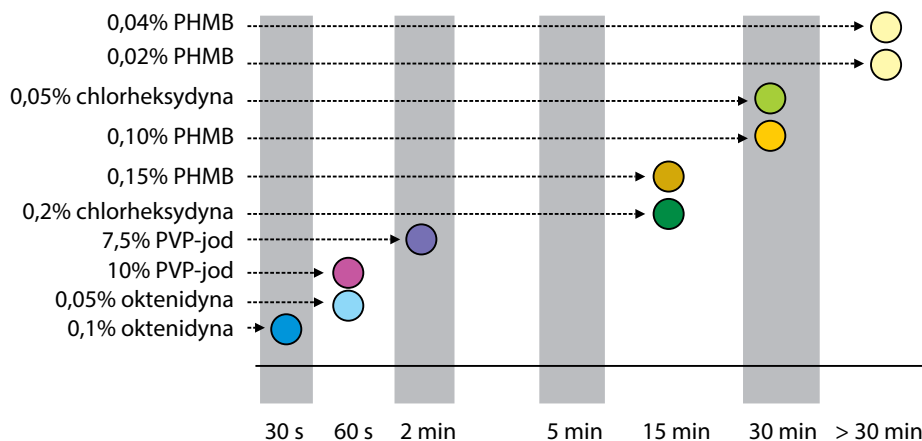
uszkodzonych tkanek oraz biofilmu [29–31]. Korzyści płynące z opracowania rany zwykle przewyższają straty związane z małą selektywnością metody oraz możliwością doświadczenia bólu przez pacjenta. Zasady BBWC dotyczące leczenia miejscowego z zastosowaniem substancji przeciwdrobnoustrojowych z surfaktantem do eradykacji biofilmu pokrywają się ze strategią TIME (*tissue, infection, moisture, epithelialization*) oraz międzynarodowym konsensusem dotyczącym higieny rany w przypadku ran trudno gojących się [10, 32].

W wielu badaniach porównywana jest głównie aktywność przeciwbakteryjna substancji przeciwdrobnoustrojowych pod względem działania na formy planktonowe i biofilm oraz czasu wymaganego do eradykacji bakterii. W badaniach przeprowadzonych w 2014 r. oceniano zdolność dwóch lawaseptyków (ActiMaris zawierający podchloryn i Prontosan do irygacji ran) do hamowania biofilmu. Oba badane preparaty hamowały tworzenie biofilmu *Staphylococcus aureus* w czasie wynoszącym 30 minut oraz 3 godziny. Jednocześnie żaden z nich nie doprowadził do eradykacji biofilmu wytworzonego przez *Pseudomonas aeruginosa* oraz biofilmu mieszanego *S. aureus* i *P. aeruginosa* [14].

W innych badaniach porównano aktywność przeciwdrobnoustrojową antyseptyku zawierającego oktenidynę i produktu z etakrydyną. Testy były prowadzone względem 50 szczepów *S. aureus* i *P. aeruginosa* w for-

mie biofilmowej. Wyniki wykazały wysoką skuteczność oktenidyny i jednocześnie brak aktywności etakrydyny [33]. Skuteczność oktenidyny wykazano zarówno wobec bakterii planktonowych, jak i w formie biofilmu, w tym tworzonoego przez gronkowca złocistego oraz pałeczkę ropy błękitnej [34–36].

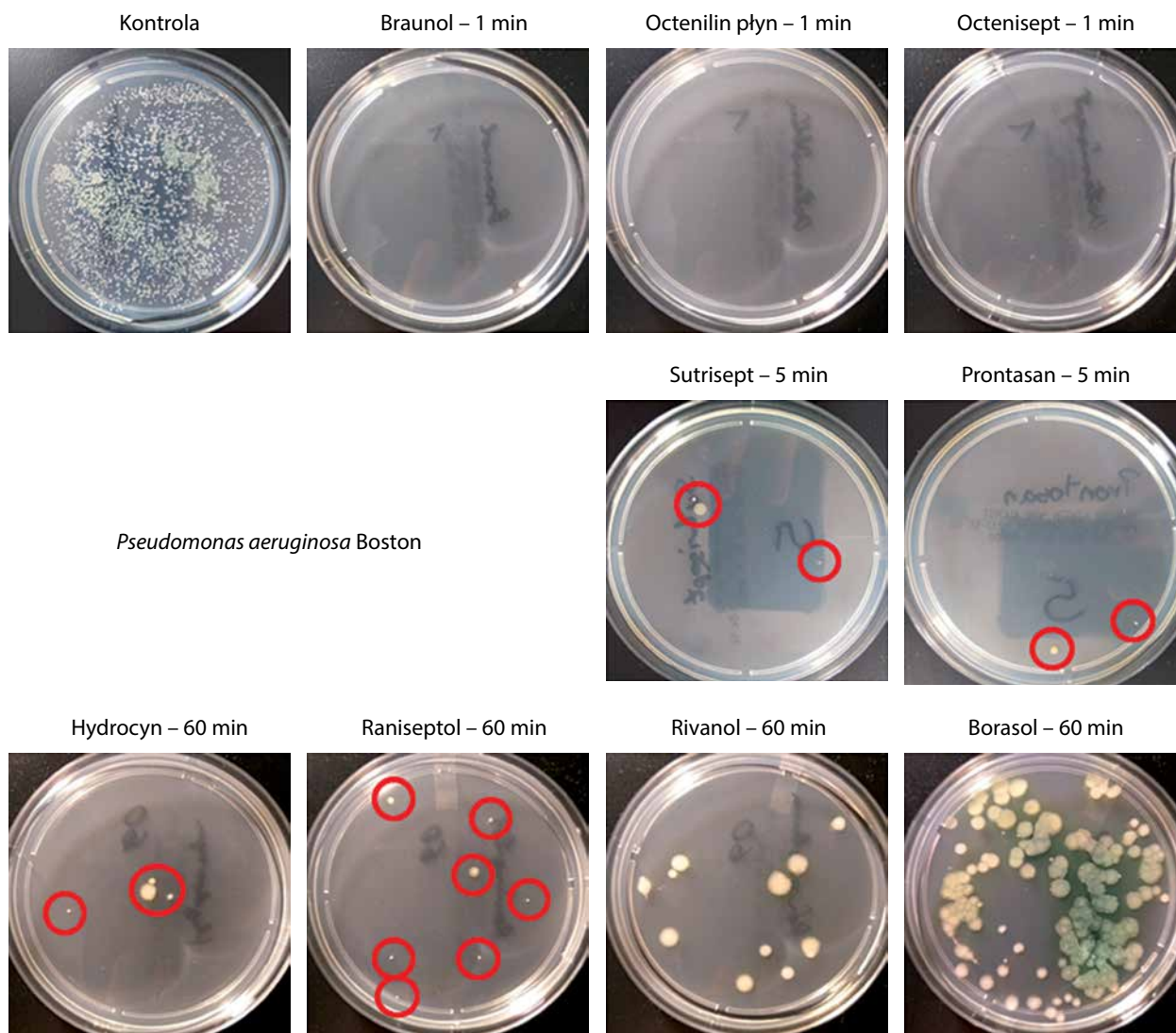
Interesujące są również wnioski z pracy, w której oceniano skuteczność przeciwdrobnoustrojową następujących antyseptyków: powidonu jodu, oktenidyny, etakrydyny, chlorheksydyny, nadtlenu wodoru i poliheksanidu, względem klinicznych szczepów *P. aeruginosa* w formie planktonicznej oraz biofilmowej. Najskuteczniejszymi antyseptykami w stosunku do formy planktonicznej i biofilmowej *P. aeruginosa* w warunkach bez obciążenia (czystych) były poliheksanid, oktenidyna i chlorheksydyna. Najslabsze działanie wykazywały etakrydyna, powidon jodu i nadtlenu wodoru. W warunkach imitujących środowisko rany (warunki z obciążnikiem) wobec formy planktonicznej najskuteczniejsze okazały się chlorheksydyna, oktenidyna i poliheksanid, jednocześnie wszystkie badane antyseptyki nie wykazały aktywności wobec szczepów *P. aeruginosa* w formie biofilmowej [37]. Podobne wyniki uzyskano dla szczepów klinicznych *Enterococcus faecalis*, wobec których najwyższą skuteczność wykazywały dichlorowodorek oktenidyny i poliheksanid, zarówno wobec formy planktonicznej, jak i biofilmu.



RYC. 2. Czasy ekspozycji wymagane do redukcji 5 log poziomu bakterii, przedstawione przez Radischat i wsp. [39]

Najsłabszym działaniem przeciwko *E. faecalis* charakteryzowały się etakrydyna, powidon jodu i nadtlenek wodoru [38].

W większości publikacji porównywana jest skuteczność środków przeciwdrobnoustrojowych *in vitro* w warunkach czystych lub imitujących środowisko



RYC. 3. Czasy ekspozycji wybranych antyseptyków, przy których obserwowany jest wzrost *Pseudomonas aeruginosa* Boston. Badania wykonane zgodnie z normą EN 1040:2005

rany. Radischat i wsp. [39] opublikowali badania oceny *in vivo* produktów stosowanych w leczeniu ran trudno gojących się. W badaniach przeprowadzonych zgodnie z normą DIN EN 13727 porównano skuteczność oktenidyny, chlorheksydy, poliheksanidu i powidonu jodu w obecności wysięku z ludzkiej rany wobec metycylino-opornego szczepu *S. aureus* ATCC 33592. Wysięk pobierano z ran 30 pacjentów z przewlekłymi owrzodzeniami nóg. Wykazano, że roztwory 0,1% i 0,05% oktenidyny oraz 7,4% i 9,7% PVP-I miały najwyższą skuteczność (ryc. 2). Redukcję 5 log poziomu bakterii osiągały odpowiednio po 30 i 60 sekundach. Chlorheksydyna i poliheksanid wymagały co najmniej 15-minutowego czasu ekspozycji [39].

Podobne konieczne czasy ekspozycji stwierdzono dla szczepu *Pseudomonas aeruginosa* Boston w badaniach prowadzonych na Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (Karpiński i wsp. – dane niepublikowane). Badania były wykonywane zgodnie z normą EN 1040:2005 dla czasów ekspozycji 1, 5, 15 i 60 minut. Najwyższą skuteczność, już po 1 minucie ekspozycji wykazano w przypadku produktów zawierających PVP-I (Braunol), oktenidynę z fenoksyetanolem (Octenisept) i oktenidynę z etyloheksylogliceryną (Octenilin płyn) (ryc. 3). Preparaty z PHMB – poliheksanid z betainą (Prontosan) i poliheksanid z poloksamerem (Sutrissept) wymagały czasu 15 minut do eradykacji bakterii. Najmniejszą skuteczność wykazano w przypadku preparatów z podchlorynem (Hydrocyn), roztworem jonów srebra (Raniseptol), mleczanem etakrydyny (Rivanol) i kwasem bornym (Borasol). Substancje te nie doprowadziły do eradykacji szczepu *P. aeruginosa* Boston nawet po godzinnej ekspozycji.

WNIOSKI

Najlepszą skutecznością przeciwdrobnoustrojową, w tym przeciwbiofilmową, charakteryzują się nowoczesne substancje przeciwdrobnoustrojowe, w szczególności poliheksanid i oktenidyna. Najszybsze działanie przeciwdrobnoustrojowe, już w ciągu 1 minuty ekspozycji, mają oktenidyna i powidon jodu. Ze względu na słabą skuteczność preparaty z podchlorynem, roztworem jonów srebra, mleczanem etakrydyny i kwasem bornym nie powinny być stosowane w profilaktyce i leczeniu ran zakażonych. Zgodnie z wytycznymi do higieny ran trudno gojących się w celu przeciwdziałania powstawaniu i usuwania biofilmu powinny być stosowane produkty sterylne, mające w składzie substancję przeciwbakteryjną i surfaktant, np. połączenie

oktenidyny z etyloheksylogliceryną lub poliheksanidu z betainą. W ranach zakażonych szczepami wielolekoopornymi Wytyczne zalecają stosowanie preparatów z oktenidyną.

OŚWIADCZENIE

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów.

PIŚMIENNICTWO

1. Frykberg RG, Banks J. Challenges in the treatment of chronic wounds. *Adv Wound Care* 2015; 4: 560-582.
2. Sopata M, Jawień A, Mrozikiewicz-Rakowska B i wsp. Wytyczne postępowania miejscowego w ranach niezakażonych, zagrożonych infekcją oraz zakażonych – przegląd dostępnych substancji przeciwdrobnoustrojowych stosowanych w leczeniu ran. *Zalecenia Polskiego Towarzystwa Leczenia Ran. Leczenie Ran* 2020; 17: 1-21.
3. Avishai E, Yeghiazaryan K, Golubnitschaja O. Impaired wound healing: facts and hypotheses for multi-professional considerations in predictive, preventive and personalised medicine. *EPMA J* 2017; 8: 23-33.
4. Han G, Ceilley R. Chronic wound healing: a review of current management and treatments. *Adv Ther* 2017; 34: 599-610.
5. Jones RE, Foster DS, Longaker MT. Management of chronic wounds – 2018. *JAMA* 2018; 320: 1481-1482.
6. Fijan S, Frauwallner A, Langerholc T i wsp. Efficacy of using probiotics with antagonistic activity against pathogens of wound infections: an integrative review of literature. *Biomed Res Int* 2019; ID 7585486.
7. Sadeghpour Heravi F, Zakrzewski M, Vickery K i wsp. Bacterial diversity of diabetic foot ulcers: current status and future perspectives. *J Clin Med* 2019; 8: 1935.
8. Gmur MK, Karpiński TM. Povidone-iodine in wound healing and prevention of wound infections. *Eur J Biol Res* 2020; 10: 232-239.
9. Azevedo MM, Lisboa C, Coimbra L i wsp. Hard-to-heal wounds, biofilm and wound healing: an intricate interrelationship. *Br J Nurs* 2020; 29: S6-S13.
10. Murphy C, Atkin L, Swanson T i wsp. Defying hard-to-heal wounds with an early antibiofilm intervention strategy: wound hygiene. *J Wound Care* 2020; 29: S1-S26.
11. Trøstrup H, Laulund ASB, Moser C. Insights into host-pathogen interactions in biofilm-infected wounds reveal possibilities for new treatment strategies. *Antibiotics* 2020; 7: 396.
12. Li YH, Tian X. Quorum Sensing and bacterial social interactions in biofilms. *Sensors* 2012; 12: 2519-2538.
13. Sierńko A, Ojdana D, Majewski P i wsp. Comparison of biofilm-producing *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, and unusual *Enterococcus* strains. *Eur J Biol Res* 2017; 7: 291-298.
14. Westgate SJ, Cutting KC. In vitro evaluation of the single and multispecies biofilm prevention capabilities of two wound irrigation solutions and a topical antiseptic. *Leczenie Ran* 2014; 11: 109-113.
15. Bartoszewicz M, Banasiewicz T, Bielecki K i wsp. Zasady postępowania miejscowego i ogólnego w ranach/owrzodzeniach przewlekłych objętych procesem infekcji. *Forum Zakażeń* 2019; 10: 1-30.
16. Järbrink K, Ni G, Sönnergren H i wsp. Prevalence and incidence of chronic wounds and related complications: a protocol for a systematic review. *Syst Rev* 2016; 5: 152.
17. Jawień A, Bartoszewicz M, Przondo-Mordarska A i wsp. Wytyczne postępowania miejscowego i ogólnego w ranach objętych procesem infekcji. *Leczenie Ran* 2012; 9: 59-75.
18. Jawień A, Szewczyk MT, Kaszuba A i wsp. Wytyczne Grupy Ekspertów w sprawie gojenia owrzodzeń żylnych goleni. *Leczenie Ran* 2011; 8: 59-80.

19. Kramer A, Dissemond J, Kim S i wsp. Consensus on Wound Antisepsis: Update 2018. *Skin Pharmacol Physiol* 2018; 31: 28-58.
20. Patel S. Investigating: wound infection. *Wound Essent* 2010; 5: 40-47.
21. Dissemond J, Assadian O, Gerber V i wsp. Classification of wounds at risk and their antimicrobial treatment with polyhexanide: a practice-oriented expert recommendation. *Skin Pharmacol Physiol* 2011; 24: 245-255.
22. European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) 10th Edition, EDQM – European Directorate for the Quality of Medicines. <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-10th-edition>
23. Gabriel A. Wound irrigation: overview, preparation, technique. <https://emedicine.medscape.com/article/1895071-overview>.
24. Percival SL, Mayer D, Malone M i wsp. Surfactants and their role in wound cleansing and biofilm management. *J Wound Care* 2017; 26: 680-690.
25. Junka A. Nowoczesne antyseptyki – definicje, obszar zastosowania, mechanizmy działania i oporności. *Forum Zakażeń* 2010; 1: 43-51.
26. Szkołuda P, Karpiński TM. Polyhexanide (PHMB) – properties and applications in medicine. *Eur J Biol Res* 2020; 10: 225-231.
27. Müller G, Kramer A. Biocompatibility index of antiseptic agents by parallel assessment of antimicrobial activity and cellular cytotoxicity. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61: 1281-1287.
28. Schultz GS, Woo K, Weir D, Yang Q. Effectiveness of a monofilament wound debridement pad at removing biofilm and slough: ex vivo and clinical performance. *J Wound Care* 2018; 27: 80-90.
29. Nowakowski J, Sikorski J, Szymański K i wsp. Nekrektomia enzymatyczna jako alternatywa dla tradycyjnych metod leczenia ran oparzeniowych. *Chir Po Dyplomie* 2020; 1.
30. Parnés A, Lagan KM. Larval therapy in wound management: a review. *Int J Clin Pract* 2007; 61: 488-493.
31. Sopata M, Banasiewicz T, Kucharzewski M i wsp. Nowa metoda leczenia i oczyszczania trudno gojących się ran. *Leczenie Ran* 2017; 14: 145-148.
32. Dowsett C, Hall Y. T.I.M.E to improve patient outcomes: optimising wound care through a clinical decision support tool. *Br J Nurs* 2019; 28: S17-S21.
33. Bartoszewicz M, Junka A, Smutnicka D i wsp. Porównanie skuteczności przeciwdrobnoustrojowej antyseptyków zawierających oktenidynę i etakrydynę względem biofilmu tworzonego przez szczepy *S. aureus* i *P. aeruginosa* izolowane z zakażeń ran przewlekłych. *Leczenie Ran* 2012; 9: 147-152.
34. Junka A, Bartoszewicz M, Smutnicka D i wsp. Efficacy of antiseptics containing povidone-iodine, octenidine dihydrochloride and ethacridine lactate against biofilm formed by *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* measured with the novel biofilm-oriented antiseptics test. *Int Wound J* 2014; 11: 730-734.
35. Karpiński TM. Efficacy of octenidine against *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Eur J Biol Res* 2019; 9: 135-140.
36. Rupf S, Balkenhol M, Sahrhage TO i wsp. Biofilm inhibition by an experimental dental resin composite containing octenidine dihydrochloride. *Dent Mater* 2012; 28: 974-984.
37. Bartoszewicz M, Junka A, Dalkowski P i wsp. Wrażliwość na wybrane antyseptyki klinicznych szczepów *Pseudomonas aeruginosa* w formie biofilmowej i planktonicznej. *Chir Plast Oparzenia* 2016; 4: 131-138.
38. Bartoszewicz M, Junka A, Dalkowski P, Sopata M. Wrażliwość klinicznych szczepów *Enterococcus faecalis* wywołujących zakażenia miejscowe w formie biofilmowej i planktonicznej na antyseptyki. *Forum Zakażeń* 2017; 8: 337-343.
39. Radischat N, Augustin M, Herberger K i wsp. Influence of human wound exudate on the bactericidal efficacy of antiseptic agents in quantitative suspension tests on the basis of European Standards (DIN EN 13727). *Int Wound J* 2020; 17: 781-789.