

ULOGA ANTISEPTIKA I STRATEGIJA UKLANJANJA BIOFILMA KRONIČNE RANE

NASTJA KUČIŠEC-TEPEŠ

Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, Zagreb, Hrvatska

Kronična rana ne cijeli u očekivanom razdoblju jer je zaostala u upalnoj fazi cijeljenja. Razlog tome je prisutnost nekrotičnog tkiva, velikog broja mikroorganizama - dominantno bakterija koje izlučuju biofilm - uz ishemiju, hipoksiju i edem. Biofilm je prisutan u 90 % kroničnih i 6 % akutnih rana. Biofilm je korporativna zajednica mikroba adheriranih na površine (rana) kojom upravljaju *quorum sensing* molekule. Zajednica je okružena s hidratantnim matriksom od ekstracelularnih polimernih sastojaka (slime) koji štite mikrobe od djelovanja antibiotika, antiseptika, obrane makroorganizma i stresa. Primarni uzrok kroniciteta rane je biofilm, jer uzrokuje permanentnu upalu, odgođeno formiranje granulacijskog tkiva, migraciju epitelnih stanica i rezervoar je mikroba koji uzrokuju infekciju kronične rane. Cilj dobre kliničke prakse jest da omogući cijeljenje kronične rane u očekivanom razdoblju. Za postizanje cilja nužno je reducirati i cjelovito ukloniti biofilm iz rane i prevenirati njegovu rekonstrukciju. To se postiže primjenom antibiofilm aktivnih spojeva i postupcima koji će razgraditi *quorum sensing* molekule, degradirati ekstracelularne polimerne sastojke (EPS) i blokirati prihvaćanje za površine. Suvremena istraživanja ukazala su da primjena antiseptika ima učinak u prevenciji infekcije i potpora je ciljanom liječenju. Činjenica je da su samo neki antiseptici primjenjivi za kronične rane i aktivni na biofilme primarnih uzročnika infekcije *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp*, *Pseudomonas aeruginosa*. Učinkoviti antiseptici su oktenidin dihidroklorid, polihexanidi, povidon jodin i kadeksomer, nanokristalno srebro i manuka-tip meda. Nepokoreni biofilm je perzistentan problem kroničnih i kroničnih inficiranih rana. Činjenica je da ni jedan pojedinačni terapijski postupak, kao ni pojedini antiseptik, ne mogu cjelovito uništiti biofilm. To je razlog da suvremeni postupci liječenja i skrbi o kroničnoj rani primjenjuju multimodalnu strategiju u obliku kombinacije mehaničko-kemijskih postupaka: *debridement*, antiseptici, antimikrobne potporne obloge. Debridmanom se otvara terapijski „prozor“ za djelovanje antiseptika i antibiotika tijekom 72 sata što omogućuje uklanjanje biofilma i aktivno uništavanje sesilnih i planktonskih bakterija. Tim se postupkom onemogućuje i reformacija biofilma. Postupci se moraju intenzivno ponavljati, antiseptici i potporne obloge izmjenjivati ovisno o stadiju ležišta rane i komorbiditetnim čimbenicima bolesnika. Rezultati kliničkih studija ukazuju da samo takav proaktivan pristup kroničnoj rani omogućuje cijeljenje u očekivanom razdoblju.

Ključne riječi: kronična rana, biofilm, antiseptici

Adresa za dopisivanje: Dr. sc. Nastja Kučišec-Tepeš, prim.dr.med.
Šulekova 30
10 000 Zagreb, Hrvatska
Tel: 095 3777176
E-pošta: davorin.tepes@gmail.com

UVOD

Kronična rana je rana koja je zaostalo u upalnoj fazi cijeljenja i ne može napredovati u daljnjem fiziološkom procesu, tj. u proliferativnu i remodelirajuću fazu. Razlog tome je prisustvo nekrotičnog tkiva, velikog broja mikroorganizama, dominantno bakterija, eksudata. U takvoj okolini bakterije proliferiraju i koloniziraju ranu uz izgradnju protektivnog sloja oko kolonija nazvanog biofilm. Biofilm je primarni uzrok kroniciteta rane, jer uzrokuje perzistentnu upalu, odgođeno

formiranje granulacijskog tkiva, migraciju epitelnih stanica i rezervoar je mikroba koji uzrokuju infekciju (1,2). Pri tom procesu čimbenici građevinskih elemenata nužni za fiziološko cijeljenje, keratinociti, čimbenici rasta, mitogeni i drugi posve su inertni ili razoreni (3). Perzistentna upala i prisustvo biofilma stimuliraju produkciju proinflammatoryh citokina, visoku razinu matriks metaloproteinaza i ekscesivnu prisutnost neutrofila (3). Biofilm je prisutan u 90 % kroničnih i 6 % akutnih rana (4,5).

Biofilmovi povezani s ljudskim tijelom uglavnom se razvijaju na tipično sterilnim područjima, teško se dijagnosticiraju i liječe, jer su tolerantni ili otporni na uobičajenu antibiotsku terapiju, antiseptike i imuni odgovor domaćina. Proučavanje klinički relevantnih biofilмова usmjereno je na specifična anatomska mjesta, različita tkiva i bolesti, fokusirajući se na cilj, a taj je: što treba učiniti da se ublaži ili ukloni njihovo patološko djelovanje.

Postoji niz s biofilmom udruženih infekcija (BAI - engl. *Biofilm-Associated Infections*) među koje pripadaju i infekcije kroničnih rana s učestalošću od 40 % do 80 %, koje su ujedno i paradigma za biofilm (6,7).

ŠTO ZNAMO O BIOFILMU?

Prvi opis biofilma zabilježio je Antoine van Leeuwenhoek 1684. godine (10). Definiranje biofilma mijenjalo se godinama vezano uz razvoj molekularnih metoda i kliničkih opažanja (9).

Biofilm je:

- * Zajednica bakterija prihvaćenih za površine, zatvorenih u ekstracelularni polisaharidni vlastito proizvedeni matriks (11)
- * Biofilmovi su kompleksne zajednice mikroba koje se sastoje od bakterija i gljiva. Mikrobi sintetiziraju i izlučuju protektivni matriks koji prihvaća zajednicu biofilma za žive i nežive površine (12,13)
- * Biofilmovi su dinamične heterogene zajednice koje se kontinuirano mijenjaju. Sastoje se od jedne vrste mikroba, ali češće od multiplih različitih vrsta (14,15)
- * Koherentni klaster bakterijskih stanica zarobljenih u polimerni matriks, koje iskazuju povećanu toleranciju na antibiotike, antiseptike i imuni odgovor domaćina (8)
- * Kompleksna mikrobna zajednica koja se sastoji od bakterija povezanih u zaštitni matriks izgrađen od šećera i proteina, koja se stvara na površini medicinskih umetaka i na ranama (16)
- * Zajednica mikroorganizama adherirana za površine (rana, obloge) okružena s hidratantnim matriksom od ekstracelularnih polimernih sastojaka (EPS ili SLIME) koja štiti mikrobe od antimikrobnih tvari, obrane makroorganizma i stresa. EPS je građen predominantno od polisaharida (razlika u vrstama bakterija) proteina, glikopeptida, i ekstracelularne DNK, koja se oslobađa iz živih i mrtvih bakterija (17).
- * To je korporativna zajednica mikroorganizama (planktonskih i sesilnih) s jasnom arhitekturom, kojom upravljaju *quorum sensing* (QS) molekule

(feromoni). Preko njih se odvija komunikacija između specijesa, mijenja se fenotip bakterija, a time i virulencija. QS može izlučiti >800 novih proteina koji se nalaze u fenotipu planktonskih bakterija (18,19). QS molekule imaju sposobnost produkcije čimbenika virulencije, formiranja biofilma i razvoja rezistencije na razini izmjene genetskog materijala (20). Posljedica tih procesa su perzistentne bakterije ili perzisteri ili sesilne metabolički inaktivne, otporne na antibiotike, antiseptike i obranu domaćina, dominantne u zajednici biofilma (21). Predispozicijski uvjeti za razvoj biofilma su isti koji uvjetuju i razvoj kronične rane uz karakterističnu neučinkovitost antibiotika primijenjenih u ciljanom liječenju (22).

- * Formiranje biofilma razvija se u nekoliko stadija. Prvi stadij je da se slobodne planktonske bakterije prihvaćaju za žive ili nežive površine. Ta faza je reverzibilna. Drugi stadij karakteriziraju prihvaćene ili sesilne bakterije. Izmjenom gena omogućeno je preživljavanje mikroba procesom hibernacije i anaerobnog metabolizma. To je posljedica komunikacije između bakterija putem *quorum sensing* molekula. Ta faza je ireverzibilna. Nakon prihvaćanja slijedi treća faza ili izgradnja zaštitnog ekstracelularnog polimernog omotača (EPS). To je matriks ili *slime* biofilma. EPS u sastavu varira ovisno o prisutnom mikrobu. Zreli biofilm kontinuirano „prolijeva“ planktonske bakterije, mikrokolonije i fragmente u okolinu. Dispergira se po ležištu rane, ali i perivaskularno (23,24). Širenje biofilma znatno otežava eradikaciju i rezultira daljnjim raspadom rane (4).
- * Brzina stvaranja biofilma mjeri se u satima. Pri povoljnim uvjetima prihvaćanje mikroba za podlogu odvija se tijekom minute, a rast mikrokolonija tijekom 2-4 sata. Razvoj inicijalnog EPS rezultira iskazivanjem tolerancije na biocide, antibiotike i antiseptike nakon 6-12 sata. Cjelovito izgrađen zreli biofilm rezistentan na biocide dokazuje se za 2-4 dana ovisno o specijesu i uvjetima rasta. Tipične planktonske bakterije koje izgrađuju biofilm i uzročnici infekcije kronične rane su: *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp, *Pseudomonas aeruginosa* i *Escherichia coli*.

Reformacija biofilma nakon mehaničkog uništavanja moguća je u roku od 24 sata, ovisno o specijesu (25). Proces reformacije omogućen je rasapom planktonskih bakterija oslobođenih iz biofilma, iz fragmenata ostalih nakon mehaničkog uklanjanja ili rastom iz novo unesenih mikroba u ranu (22).

Mikroorganizmi u biofilmu zaštićeni su od djelovanja imunog sustava domaćina, a tolerantni su ili rezistentni na djelovanje antibiotika, antiseptika i na stres. Mehanizmi koji to omogućuju su blokiranje, uzaja-

mna zaštita i hibernacija. EPS štiti mikrobe od prodira velikih molekula, protutijela i upalnih stanica kroz matriks ograničavanjem nutritivnih resursa i limitiranjem kisika. Služi kao difuzijska barijera i za male molekule, kao što su antibiotici. Uzajamna zaštita osobitost je polimikrobnih biofilмова koji dominantno uzrokuju infekciju kronične rane i snažnije odgađaju cijeljenje (8). Rezistentne vrste štite osjetljive prijenosom gena između specijesa (enzimi ili promjena stanične stijenke) te tako iskazuju različite razine virulencije mikroba (26-28). Proces hibernacije je sposobnost subpopulacije bakterija u biofilmu da mogu razviti metaboličko mirovanje. Na taj način postaju rezistentne na djelovanje antibiotika, jer se nalaze u neaktivnom obliku. To je ujedno i mehanizam otpornosti na stres (29). Biofilm stimulira kronični upalni odgovor domaćina, koji ujedno pogoduje razvoju samoga biofilma. Prisustvo neutrofila i makrofaga koji okružuju biofilm (strano tijelo) izlučuju visoke razine reaktivnih oksigenirajućih tvari (ROS) i proteaza (matriks mealoproteinaze, elastaze) koje razaraju zdravo tkivo, imune stanice. Fibroblasti kao esencijalne stanice u procesu cijeljenja rane fenotipski su alterirani, pa je njihova sposobnost replikacije i produkcije građevnih elemenata onemogućena, a time i izgradnja granulacijskog tkiva (31).

CILJ

Cilj dobre kliničke prakse je omogućiti kroničnoj rani da zacijeli u očekivanom razdoblju. Da bi se to postiglo nužno je:

- * reducirati biofilm i
- * prevenirati reformaciju biofilma.

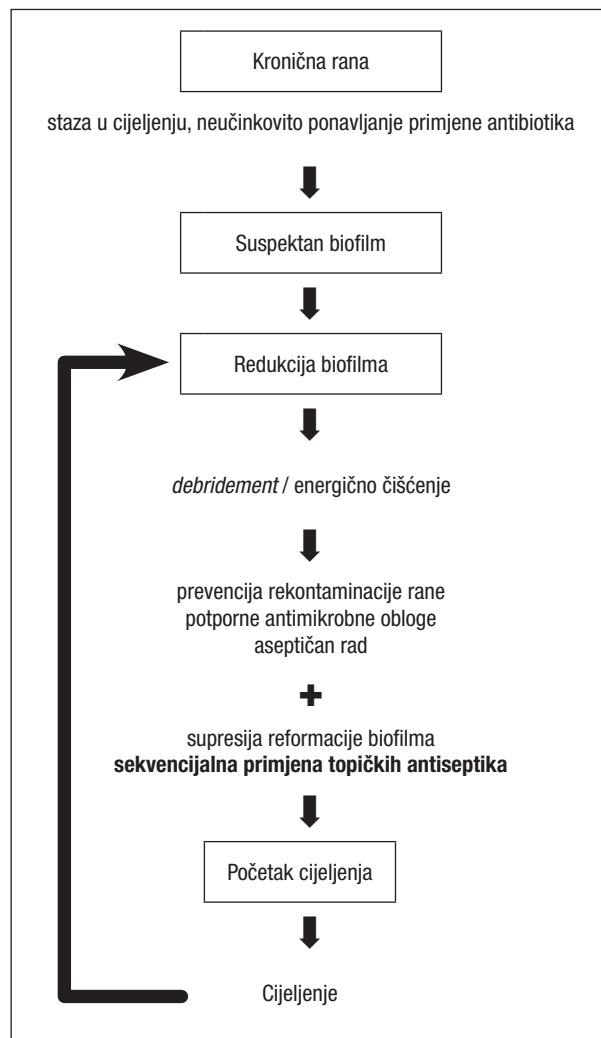
Zadane ciljeve nije moguće ostvariti pojedinačnim postupcima. Proaktivan stav uključuje kombinaciju strategija temeljenih na elementima pripreme ležišta rane s jasno određenim ciljevima koji se kao cjelina nazivaju „biofilm-temeljna skrb o rani“ (22,25,73). Obrada rane s biofilmom uvjetuje učestali *debridement* uz kombinaciju primjene učinkovitih antiseptika i antimikrobnih potpornih obloga koji imaju sposobnost eliminiranja ili inhibiranja biofilma (32,33). Antibiofilm spojevi moraju imati sposobnost razaranja biofilma na način da:

- razgrade *quorum sensing* molekule
- degradiraju ekstracelularne polimerne tvari (EPS)
- blokiraju prihvaćanje na površine (4)

TERAPIJSKE OPCIJE

Prepoznavanje biofilma je teško, pa kombinacija vizualnih pokazatelja uz kliničke znakove određuje kliničku praksu djelovanja na biofilm (10,16,17,27,34,35) (tablica 1).

Tablica 1.
Principi djelovanja na biofilm (17)



Debridement i energično čišćenje kronične rane s biofilmom ključni su terapijski postupci (5,36,41). Opće je prihvaćena činjenica da je oštri *debridement* ključ koji će preokrenuti kroničnu ranu u akutnu, te tako stvoriti uvjete za cijeljenje (37). To je „zlatni standard“ jer razara biofilm i eksponira planktonske bakterije vanjskim utjecajima (27). Fizičko ponavljanje oštrog *debridementa* rezultira uklanjanjem djelomičnog ili cjelovitog biofilma tijekom 48-72 sata, a to omogućuje otvaranje terapijskog „prozora“ (38,39). Tim postupkom uklanja se „stari“ biofilm (izgrađena struktura, hibernacija, dobro izraženi odgovor na stres), suprimira se ponovni rast, a „novo“ stvoreni nezreli biofilm (neizgrađena struktura, aktivni metabolizam, slabiji

odgovor na stres) osjetljiviji je na djelovanje antiseptika, obloga (38). Terapijskim „prozorom“ omogućuje se razaranje biofilma prije završetka maturacijske faze i ponovne reformacije cjelovitog biofilma. Osim toga oslobođene sesilne bakterije postaju mnogo osjetljivije na vanjske utjecaje (4,37). Ponavljanje debridmana iskazalo se značajnim i smislenim postupkom kojim se mijenja osjetljivost biofilma na antibiofilm aktivne tvari (40). Primjenom mehaničke energije i alternativnih biocida na strukturu glikokaliksa biofilma moguće ga je eradicirati (4,38,40).

Cjelovito uklanjanje biofilma debridmanom je malo vjerojatno, jer on ima tendenciju širenja i obnavlja se iznimno brzo. Zbog toga je nužno kombinirati *debridement* i iskoristiti terapijski „prozor“ za primjenu aktivnih antiseptika i suvremenih obloga (34).

Terapijski „prozor“ od 48 sati omogućava aktivnost antibiotika, a do 72 sata djelovanje određenih antiseptika (38). Pri svim tim procesima, ravnoteža vlage je esencijalna za optimalizaciju okoline rane i minimalizaciju rekonstrukcije biofilma (17).

ANTISEPTICI

Nepokoreni biofilm je perzistentni problem kroničnih i kroničnih inficiranih rana. Činjenica je da ni jedan pojedinačni terapijski postupak, kao ni pojedinačni antiseptik nemaju cjelovitu učinkovitost na planktonske i sesilne polimikrobne zajednice biofilma. To je temeljni razlog da se terapijski postupci i antibiofilm aktivne tvari moraju kombinirati (18,19). Učinkoviti antimikrobni spojevi su antiseptici, a neki od njih imaju sposobnost supresije biofilma u ranama (42). Suvremena istraživanja ukazala su da primjena površinski aktivnih tvari - antiseptika - za kronične rane imaju učinak u prevenciji infekcije i kao potpora ciljanom liječenju (43). Antiseptici su aktivne tvari, različite kemijske strukture koji se razlikuju po sastavu, spektru djelovanja na stanicu mikroba, učinkovitosti, citotoksičnosti, teratogenosti, indukciji rezistencije i aktivnosti na biofilm (44).

Činjenica je da su samo neki antiseptici pogodni za primjenu na kroničnu ranu i učinkoviti na biofilm. Prema preporukama i zaključcima *American Medical Association* (AMA), grupe autora Müller G, Kramer A, *A World Union of Wound Healing Societies Initiative, an International Consensus* (WUWHS) i *European Wound Management Association* (EWMA) sljedeći su antiseptici primjenjivi za kronične rane i učinkoviti na biofilm (45-49): Oktenidin dihidroklorid, polihexanidi, povidon jodin i kadeksomer, nanokristalno srebro i manuka-tip meda (45-49) (tablica 2).

Tablica 2.

Preporuke o vrsti antiseptika za kronične rane

Antiseptik	Consensus paper AMA 2004 (45)	GMS interdisc. 2007 (46)	WUWHS 2008 (47)	Kramer A 2008 (49)	EWMA 2013 (48)
Oktenidin dihidroklorid	+	+	+	+	+
Polihexanidi	+	+	+	+	+
Povidon jodin	+	+	+	+	+
Klorheksidin diglukonat	-	+	+	+	+
Srebro: sulfadiazin	+	+			+
Nanokristalno			+		+
Kadeksomer jodin	+				
Manuka-tip meda			+		+

Cilj svake preporuke je da odgovorno dizajnira primjenu antiseptika pri kroničnoj rani, te omogući kvalitetno cijeljenje razarajući biofilm i sprječavajući njegovu reformaciju multimodalnim postupcima (2,31,32,38). Pri tome je izrazito značajno ograničiti primjenu antiseptika od nekritične i nekontrolirane primjene (42). Kombinacija debridmana i antiseptika kombinirana s tenzidima (detergentom) može cjelovito ukloniti biofilm u kroničnoj rani (50) (tablica 3).

Tablica 3.

Antiseptici učinkoviti na biofilm (48)

Godina primjene	Vrsta antiseptika	Djelovanje na biofilm	Selekcija rezistentnih mutanti
od antike do danas	srebro-nanokristalno	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterobacteriaceae</i>	NE
1954.	klorheksidin diglukonat	<i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	NE
1956.	povidon jodin	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	NE
1984.	oktenidin dihidroklorid	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Streptococcus spp</i>	NE
1994.	polihexanidi	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Escherichia coli</i>	NE
2005.	Manuka-tip meda (polako otpušajući vodikov peroksid)	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> MRSA	NE

Oktenidin dihidroklorid (OH)

Oktenidin dihidroklorid (OH) je pozitivno nabijeni bispiridin, koji posjeduje široki spektar antimikrobne aktivnosti. To uključuje *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*; značajne ili dominantne uzročnike infekcije kronične rane (51). Ne iskazuje osobitosti citotoksičnosti, karcinogenosti, teratogenosti ili mutagenosti, pa je stoga iznimno prikladan za primjenu u imunokompromitiranih bolesnika (52).

OH kation je aktivna tvar koja se veže na negativno nabijenu staničnu ovojnica bakterije, razarajući vitalne funkcije staničnih membrana i ubijajući stanicu. Osim toga čvrsto adherira na lipidnu komponentu (kardiolipin) koji je istaknut u bakterijskim staničnim membranama. Djelovanje mu je izrazito baktericidno bez atakiranja na ljudske epitelne stanice (53).

Djelovanje OH dominantno je istraženo na biofilmovima implantata, različitim neživim površinama i usnoj šupljini (54).

Rešliński i sur. dokazali su da OH djeluje baktericidno na biofilmove *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli in vitro* (55). Junka i suradnici verificirali su učinkovitost OH direktno na biofilmove odgovorne za odgođeno cijeljenje rane. Dokazali su eradikaciju biofilмова *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa* (56).

OH je stabilan pri pH 1,6-12,2 i otporan na hidrolizu. Ipak, dokazano je da OH pri pH od 5,5 može dovesti do alteracije u sastavu fosfolipida i promjena u sastavu stanične membrane bakterije. Izmjene pH mogu igrati ulogu pri razvoju rezistencije na kationske biocide (42).

Poliheksametilen biguanidi (PHMB)

Poliheksametilen biguanidi (PHMB) su kationski antiseptici, kemijski stabilni, netoksični i bez indukcije rezistencije. Ne iskazuju citotoksičnost, teratogenost ni mutagenost. Primijenjeni u potpornim oblogama kombiniraju se antiseptičke osobitosti sa sposobnošću apsorpiranja ili otpuštanja vlage što omogućuje primjenu i za rane s malo sekreta (42).

PHMB djeluje na staničnu membranu bakterije inaktivirajući efluks pumpu i tako iskazuje izrazitu baktericidnu aktivnost. Djelovanje je izvanredno brzo. Posljedica je ireverzibilni gubitak osnovnih staničnih komponenta, a to razara citoplazmatsku membranu (57). Zbog brzine djelovanja prevenira se razvoj rezistencije. Primjenjuje se u različitim oblicima (otopine, obloge, spužve, gelovi itd.) Ipak, još uvijek nije posve

jasno djelovanje PHMB na bakterijsku stanicu, te se istražuje još jedan način djelovanja. Naime i elektrostatska interakcija PHMB s kiselim fosfolipidima u citoplazmatskoj membrani, uzrokuje rupturu membrane s gubitkom permeabiliteta bez lize staničnog zida (57).

Djelovanje PHMB na biofilmove evaluirano je od različitih istraživačkih skupina na biofilmovima u rana s odgođenim cijeljenjem i *in vitro* na sesilnim bakterijama. PHMB penetrira kroz matriks biofilma i ubija sesilne bakterije pod uvjetom da se primjenjuje kontinuirano (58). Biocidan je za biofilmove planktonskih bakterija *Escherichia coli* i *Staphylococcus epidermidis*, ali ne inaktivira *Staphylococcus aureus* učinkovito (58). Razara biofilm *Pseudomonas aeruginosa* (59,74). Maksimalna aktivnost PHMB je pri pH 5-6. Mnogo je aktivniji pri alkalnom pH.

Jodidi

Jodin se kao antiseptik ekstenzivno upotrebljava kadama. Prvi antiseptik bio je tinktura kalijevog jodida i etanola ili Lugolova otopina. Jodin se rabi u kliničkoj praksi od 1950. do danas, ali u različitim oblicima zbog brojnih nuspojava koje su se vremenom uklanjale.

Postoji četiri vrste nosača koji se rabe. To su polioksimer jodofori, kationski surfaktanti jodofori, ne-ionski surfaktanti jodofori i polivinil-pirolidin jodofori (60). Jodin posjeduje široki baktericidni spektar temeljen na agregaciji bakterija i diferencijaciji stanične penetracije. Ne uzrokuje rezistenciju.

U vodenim otopinama postoji sedam osnovnih vrsta jodina, a samo hidratizirani jodin (I_2), hipoidolna kiselina (HOI) i kation jodin (H_2OI^+) su baktericidi (60).

Brzo djelovanje jodina događa se na razini respiratornog lanca, blokirajući transport elektrona kroz elektrofiličnu reakciju, oštećujući prihvaćanje kisika u aeroba (60). Primarna učinkovitost je interakcija jodina s proteinima citoplazmatske membrane, zatim penetracija kroz stanični zid, raspad sinteze proteina kao i funkcije lipidnih membrana i nukleinske kiseline (61).

Povidon jodin (PVP-1) je u vodi topivi kompleks koji se sastoji od elementarnog jodina i sintetskog polimera koji postupno otpušta jodin. Zbog toga je slabiji alergen i iritans od elementarnog jodina (62). Posjeduje široki spektar aktivnosti na gram-pozitivne, gram-negativne bakterije, gljive, neke viruse pa čak i bakterijske spore (63,46).

Povidon jodin djeluje na matriks glikokaliksa *Pseudomonas aeruginosa*, ali i na miješani biofilm pseudo-

monasa i stafilokoka. Zanimljiva je spoznaja da nema razlike u građi glikokaliksa između biofilma sesilnih i planktonskih bakterija, ali je distribucija glikokaliksa oko bakterijskih kolonija različita. Tako, na primjer, otpornost *Pseudomonas aeruginosa* u biofilmu na PVP-1 ovisi o protektivnoj naslagi stanica unutar matriksa glikokaliksa, koje uvjetuju produženje kontakta s jodinom da bi dosegao granice na unutrašnjem ležištu biofilma. Terapija negativnim tlakom uz primjenu povidon jodina daje dobre rezultate pri liječenju kroničnih inficiranih rana (64).

Kadeksomer jodin (CI) uveden je u kliničku praksu 1980. kao alternativa PVP-1 i iskazao je bolje i kontrolirano oslobađanje jodina s reduciranom toksičnošću. CI učinkovito razara biofilmove *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*. Učinkovitost se sastoji u prožimanju (namakanju) mikrobnih stanica koje okružuju glikokaliks. Na taj način omogućuje se jodinu da postepeno ubija *Staphylococcus aureus* unutar biofilma bez klinički značajnog oštećenja stanica domaćina. Značajno je da CI učinkovito destruiira zreli (maturacijski) biofilm (65).

Aktivnost jodina povezana s pH kreće se u rasponu od 3 do 9. Najjača biocidna aktivnost je pri pH 3-6. Bez obzira na prikazane vrijednosti učinkovitost jodina je uglavnom konstantna i nema velikih oscilacija u odnosu na pH okoline (42).

Srebro

U antisepsi rane srebro se rabi još od doba antike, a u posljednjih 200 godina primjenjuje se kao srebrno nitrata otopina. Od 1960. u kliničkoj praksi primjenjuje se srebrni sulfadiazin i ionizirano srebro u niskim koncentracijama, kao najkvalitetniji biocid.

Učinkovitost ionskog srebra ipak je ograničena prisustvom aniona, iona, klorida, fosfata. Razina ionskog srebra koja djeluje inhibitorno na mikrobe u rani iznosi 5-50 mgL⁻¹ ili 5.000-50.000 ppm (66). Osjetljivost mikroba signifikantno varira ovisno o vrsti. Iznimno je važno kontrolirati primjenu srebra, jer je dokazano da prekomjerna i nekontrolirana uporaba može rezultirati tolerancijom nekih bakterija zbog akumulacije aktivne tvari. Takav oblik rezistencije dokazan je u *Pseudomonas stutzeri* i nekih članova porodice *Enterobacteriaceae* (42,67).

Interakcija srebra s eksudatom iz rane ionizira inertni metal u aktivni oblik pri čemu se oslobađa antimikrobna učinkovitost. Antimikrobna aktivnost srebra rezultira reakcijom sa skupinama tiol, sulfid, iridazol, karboksil što dovodi do denaturacije proteina bakterijske stanične membrane. Osim toga srebro može oštetiti i celularnu respiraciju, vezati se za

mikrobnu DNK i interferirati s prijenosom elektrona (68). Kada se srebro nalazi u obliku nanopartikala ima sposobnost reakcije s bazama DNK što onemogućuje replikaciju. To je glavni mehanizam djelovanja na gram-negativne bakterije *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia proteamaculans* (42). Osim toga srebro može spriječiti podjelu mikrobnih stanica akumulirajući intracelularne vakuole, razarajući citoplazmatsku membranu i prirodni električni potencijal (van der Wallsove sile) (12).

Brzo djelovanje srebra na metaboličke procese bakterija rezultira i brzim baktericidnim djelovanjem (68).

Učinkovitost ionskog srebra na redukciju razine mikroba u biofilmu ili preveniranju reformacije biofilma ovisi o koncentraciji nanopartikala. Razina od 100 mgL⁻¹ je nedostatna da razori biofilmove. Koncentracije >100-150 mgL⁻¹ su dostatne da razore biofilmove *Pseudomonas aeruginosa* i *Serratia proteamaculans*, te da ubiju sesilne oblike *E. coli* u biofilmu. Sesilne bakterije su 25 puta tolerantnije na nanosrebro od planktonskih. Visoke koncentracije nanosrebra učinkovite su i u destabilizaciji matriksa biofilma *S. epidermidis* (69).

Cjelovitu destrukciju mikroba u polimikrobnom biofilmu, sastavljenom od *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* i *Enterobacter cloacae*, pri ekspoziciji nanosrebru tijekom 48 sati dokazao je Percival, ali *in vitro* (70).

Utjecaj pH na antimikrobnu učinkovitost srebra je bitna, jer o pH okoline ovisi učinkovita produkcija srebrnih nanopartikala. Oksidirajući oblik srebra prisutan je u kiselom okruženju pri pH 5,5 i o tome ovisi bakterijska osjetljivost i antimikrobna učinkovitost (42).

Manuka-tip meda

U nizu aktivnih antibiofilm spojeva moramo navesti i novo-zelandski manuka-tip meda. Mnoge studije opisivale su antibakterijsku učinkovitost meda, ali nažalost nisu kvalitetno dokumentirale antibakterijske komponente ni njihovu kvantifikacijsku razinu. Zbog toga je bilo nemoguće dokazati učinkovitost meda kao vrijednog agensa protiv biofilma i učinkovitog spoja pri liječenju kronične rane.

Precizna istraživanja i dobar opis svojstava novo-zelandskog manuka-tip meda otkrila su da on posjeduje dvije antibakterijske komponente. To su metilgliksal i vodikov peroksid, koje su kvantificirane i dokazano učinkovite na biofilmove *Staphylococcus aureus* i MRSA (metilicilin resistant *S. aureus*). Metilgliksal i vodikov peroksid djeluju sinergistički tako da med penetrira kroz matriks biofilma i ubija u njemu zaroblje-

ne sesilne stanice. Pri tome ne inducira rezistenciju. Dominantno se primjenjuje u suvremenim potpornim oblogama (71,72).

RASPRAVA

Gljučna komponenta kronične rane je odgođeno cijeljenje i kronična infekcija pri čemu je biofilm mikroba dominantni virulentni čimbenik (4). Ciljevi liječenja su razoriti biofilm i onemogućiti njegovu reformaciju (2,21). Postoji mnogo vrsta antimikrobnih aktivnih spojeva, ali egzistira samo nekoliko relevantnih podataka o njihovoj učinkovitosti inhibicije stvaranja biofilma ili razaranja postojećeg. Ni za jedan antibiofilm spoj nije dokazano da je aktivan za cijeli spektar mikroba koji se nalaze u kroničnim ranama ili da djeluje na sve bitne komponente biofilma (EPS, QS, prihvaćanje na površine) (4,17) (tablica 4).

Tablica 4.
Djelovanje antiseptika na strukturu biofilma
(56,58,64,65,69,71)

Antiseptik	Biofilm
Oktenidin dihidroklorid	destrukcija EPS, alteracija fosfolipida i promjene stanične stijenke
Poliheksanidi	penetracija kroz matriks biofilma i ubija sesilne bakterije
Povidon jodin	djelovanje na matriks glikokaliksa, prodor do ležišta biofilma
Kadeksomer jodin	destrukcija zrelog (maturacijskog) biofilma
Nanokristalno srebro	destrukcija matriksa biofilma, ležišta i sesilnih bakterija
Manuka-tip meda	penetracija kroz matriks biofilma i ubija sesilne bakterije

Sve to je razlog da je nužan multimodalni pristup liječenju (17). Pod tim podrazumijevamo učestali oštri *debridement*, primjenu mehaničke energije, aplikaciju antiseptika učinkovitih na biofilmove dominantnih uzročnika infekcije kronične rane, potpornih obloga s antibakterijskim i antibiofilm djelovanjem simultano (33). Sve je to dio koordinirane strategije koja može omogućiti cijeljenje rane, a ujedno ukazuje na nužnost i potrebu primjene različitih tipova liječenja kroničnih rana (27,34).

Od budućih se istraživanja očekuje cjelovito razumijevanje kompleksnog bakterijskog ekosistema-biofilma, kako bi se moglo napredovati u skrbi i liječenju. Znanstveni ciljevi uključuju bolju dijagnostiku i liječenje, kvalitetnije određivanje dijagnostičkih biljega koji će razlikovati planktonske od sesilnih ili biofilm stanica (9,73).

To zahtijeva razvoj liječenja planiranog za pojedinu - individualnu ranu, a ne općeniti, generalizirani pristup liječenju (4).

ZAKLJUČAK

Ciljana primjena antiseptika za kronične rane vremenski je ograničena, simultana i dio je aktivnog multimodalnog pristupa liječenju i prevenciji infekcije. Primjena antiseptika jasno definira vrstu aktivne tvari, vrijeme, način i razlog uporabe, sposobnost uništavanja biofilma, te onemogućavanje njegovog ponovnog obnavljanja te konačno i cijeljenje kronične rane u očekivanom razdoblju.

Učinkoviti antibiofilm antiseptici prema međunarodnim preporukama su: oktenidin-dihidroklorid, poliheksanidi, povidon jodin i kadeksomer, nanokristalno srebro, klorheksidin diglukonat i manuka-tip meda. Učinkovitost je različita jer ovisi o vrsti bakterije koja proizvodi biofilm, količini organskog matriksa i hipervarijabilnosti biofilma, te okolini. Ni jedan antiseptik nije učinkovit na sve vrste mikroba u kroničnoj rani kao ni na sve komponente biofilma. To je razlogom što su antiseptici dio aktivnog multimodalnog pristupa rješavanju problema nazvanog biofilm.

L I T E R A T U R A

1. Nguyen K, Seth AK, Hong SJ i sur. Deficient cytokine expression and neutrophil oxidative burst contribute to impaired cutaneous wound healing in diabetes, biofilm-containing chronic wounds. *Wound Repair Regen* 2013; 21: 833-4.
2. Wolcott RD, Rhoads DD, Bennett ME. Chronic wounds and the medical biofilm paradigm. *J Wound Care* 2010; 19: 45-53.
3. James GA, Swogger E, Wolcott R i sur. Biofilms in chronic wounds. *Wound Repair Regen* 2008; 16: 37-44.
4. Attinger CH, Wolcott R. Clinically addressing biofilm in chronic wounds. *Advances in Wound Care* 2012; 3: 127-32.
5. Harding KG, Carville K, Cuddigan J i sur. Wound infection in clinical practice. *Int Wound J* 2008; doi:10111/j 1742-81x.
6. Expert working group. Wound infection. *Int Wound J* 2008; 5: 1-11.
7. Kučičec-Tepeš N. Prepoznavanje i liječenje infekcije kronične rane. *AMC* 2014; 67(supl 1): 51-9.
8. Burmølle M, Thomsen TR, Fazli M i sur. Biofilms in chronic infections - a matter of opportunity - monospecies biofilms in multispecies infections. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2010; 59: 324-36.

9. Hall-Stoodley L, Stoodley P, Kathju S i sur. Towards diagnostic guidelines for biofilm-associated infections. Federation of European Microbiological Societies. FEMS Immunol Med Microbiol 2012; 65: 127-45.
10. Percival ST, Malic S, Cruz S, Williams DW. Introduction to biofilms. U: Percival ST, Knottenhelt D, Cochrane CC. Biofilms in veterinary medicine. Vol. 6. Berlin Heidelberg: Springer, 2011, 41-68.
11. Costerton JW, Irvin RT, Cheng KJ. The bacterial glyco-calyx in nature and disease. ANNU Rev Microbiol 1981; 36: 299-324.
12. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infection. Science 1999; 284: 1318-22.
13. Stoodley P, Saver K, Davies DG, Costerton JW. Biofilms as complex differentiated communities. ANNU Rev Microbiol 2002; 56: 187-209.
14. Dowd SE, Sun J, Sector PR i sur. Survey of bacterial diversity in chronic wounds using pyrosequencing, DGGE and full ribosome shotgun sequencing. BMC Microbiol 2008; 8: 43.
15. Hall-Stoodley L, Stoodley P. Evolving concepts in biofilm infections. Call Microbiol 2009; 11: 1034-43.
16. Leaper DJ, Schula G, Carville K i sur. Extending the TIME concept what have we learned in the past 10 years? Int Wound J 2012; 9(supl 2): 1-19.
17. Metcalf DG, Bowler PG, Hurlow J. A clinical algorithm for wound biofilm identification. J Wound Care 2014; 23: 137-42.
18. Rhoads DD, Wolcott RD, Percival SL. Biofilms in wounds. Management strategies. J Wound Care 2008; 11: 502-8.
19. Wolcott R. Understanding biofilm formation and biofilm-based wound care. Wound Middle East (Wound International) 2014; 1: 24-6.
20. Holm A, Vikström E. Quorum sensing communication between bacteria and human cells: signals, targets and functions. Front Plant Sci 2014; 5: 309-11.
21. Keast D, Carville K, Fletcher I, Schultz G, Black J. Understanding and managing wound biofilm. Wounds International 2014; 5: 20-4.
22. Phillips PL, Wolcott RD, Fletcher I, Schultz GS. Biofilms made easy. Wound International 2010; 1: 1-6.
23. Flemming HC, Neu TR, Wozniak DJ. The EPS matrix, „house of biofilms cells“. J Bacteriol 2007; 189: 7945-7.
24. O'Toole G, Kaplan HB, Wolter R. Biofilm formation as microbial development. ANNU Rev Microbiol 2000; 54: 49-79.
25. Besaer E, Kroukamp G, Wolfaardt GM i sur. Metabolic differentiation in biofilms as indicated by carbon dioxide production rates. APPL Environ Microbiol 2010; 76: 1189-97.
26. 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: 443-9.
27. Hurlow J, Cough K, Laforet K, Bolton L, Metcalf D, Bowler P. Clinical biofilms: A challenging frontier in wound care advances. Wound Care Adv (New Rochelle) 2015; 5: 295-301.
28. Seth AK, Geringer MR, Galinao RD i sur. Quantitative comparison and analysis of species wound biofilm virulence using an in vivo rabbit model. J Am Coll Surg 2012; 215: 388-99.
29. Kosenglu H, Aslan G, Esen N i sur. Ultrastructural stages of biofilm development of *Escherichia coli* on urethral catheters and effects of antibiotics on biofilm formation. Urology 2006; 68: 942-6.
30. Lawrence JR, Swershane GD, Kuhlicke LI, Neu TR. In situ evidence for microdomains in the polymer matrix of bacterial microcolonies. Can J Microbiol 2007; 53: 450-8.
31. Wolcott RD, Kennedy IP, Dowd SE. Healing and healing rates of chronic wounds in the age of molecular pathogen diagnostics. J Wound Care 2010; 19: 272-4.
32. Wolcott RD, Kennedy IP, Dowd SE. Regular debridement is the main tool for maintaining a healthy wound bed in most chronic wounds. J Wound Care 2009; 18: 54-6.
33. Rodeheaver GT, Ratliff GR. Wound cleansing, wound irrigation, wound disinfection. U: Rodeheaver GT i sur. Chronic wound care. A clinical source book for healthcare professionals. HMP Communication Malvern, 2007, 331-42.
34. Rajpaul K. Biofilm in wound care. Community Wound Care 2015; 13: 6s-11s.
35. White RJ, Cutting KF. Wound biofilms-are they visible? Wound Care 2012; 21: 140-1.
36. Cardinal M, Eisenbud DE, Armstrong DG i sur. Serial surgical debridement a retrospective study on clinical outcomes in chronic lower extremity wounds. Wound Repair Regen 2009; 17:306-8.
37. Kirshen C, Woo K, Ayello EA, Sibbald RG. Debridement. A vital component of wound bed preparation. Adv Skin Wound Care 2006; 19: 508-11.
38. Wolcott RD, Rumbaugh KP, James G i sur. Biofilm maturity studies indicate sharp debridement opens a time dependent therapeutic window. J Wound Care 2010; 8: 320-4.
39. Percival SL, Suleman L. Slough and biofilm: removal of barriers to wound healing by desloughing. J Wound Care 2015; 24: 498-510.
40. Wolcott RD, Dowd SE. A rapid molecular method for characterising bacterial bioburden in chronic wounds. J Wound Care 2008; 17: 513-20.
41. Excisional debridement of wound for infection. BioMed Lib Review CN; 709697631, ISSN; 2331-5717, 2015; 12:7. on line
42. Percival SL, Finnegan S, Donelli G, Vuotto C, Rimmer S, Lipsky BA. Antiseptics for treating infected wounds: efficacy on biofilms and effect of pH. Crit Rev Microbiol 2014; 1-17. ISSN 1549-7828. <http://informahealthcare.com/mb>.
43. Human use antiseptic drugs. Guidance dokument. Health Canada 2009.
44. Kučišec-Tepeš N. Antiseptici u prevenciji infekcije kronične rane - činjenice i zablude. AMC 2015; 67(supl 1): 91-9.

45. Assessment of the evidence on antiseptics: A consensus paper on their use in wound care. *J Wound Care* 2014; 4: 1-8.
46. Müller G, Kramer A. Wechselwirkung von Octenidin und Chlorhexidin mit Saugerzellen und die resultierende Mikrobioloizidie der Reaktionsprodukte. *GMS Krankenhaushy Interdiszip* 2007; 2: 17.
47. A World Union of wound healing societies initiative. Wound infection in clinical practice. An international consensus. Principles of best practice. London; WUWHS, 2008; 1-10.
48. A EWMA document. Antimicrobials and non-healing wounds. Evidence, controversies and suggestions. *J Wound Care* 2013; 5: 10-26.
49. Kramer A, Assadian O, Müller G i sur. Octenidine, chlorhexidine, iodine and iodophores. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2008.
50. Metcalf DG, Bowler PG. Biofilm delays wound healing: A review of the evidence. *Burns and trauma* 2013; 1: 1-8.
51. Uygur F, Özyurt M, Evinc R i sur. Comparison of octenidine dihydrochloride, polihexanide and povidon iodine for topical antibacterial effects in *Pseudomonas aeruginosa* - contaminated, full-skin thickness burn wounds in rats. *Cent Eur J Med* 2008; 3: 417-21.
52. Tietz A, Frei R, Marc B i sur. Octenidine hydrochloride for the care of central venous catheter insertion sites in severely immunocompromised patients. *Infec Control Hosp Epidemiol* 2005; 51: 3217-24.
53. Block SS. Disinfection, sterilization and preservation 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2001.
54. Rupf S, Balkenhol M, Sahrhage TO i sur. Biofilm inhibition by an experimental dental resin composite containing octenidine dihydrochloride. *Dent Mater* 2012; 28: 974-84.
55. Rešliński A, Dabrowiecki S, Glowacka K, Szymkowski J. The influence of OH on bacterial biofilm on the surface of polypropylene mesh. *Med Biol Sci* 2013; 27: 41-7.
56. Junka A, Bartoszewicz M, Smutnicka D, Secewicz A, Szymczyk P. Efficacy of antiseptics containing povidone-iodine, octenidine dihydrochloride and etacridine lactate against biofilm formed by *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* measured with the novel biofilm-oriented antiseptics test. *Int Wound J* 2014; 11: 730-4.
57. Moore K, Gray D. Using PHMD antimicrobial to prevent wound infection. *Wounds UK* 2007; 3: 96-102.
58. Lenselink E, Andriessen A. A cohort study on the efficacy of a polyhexanide-containing biocellulose dressing in the treatment of biofilms in wounds. *J Wound Care* 2011; 11: 34-9.
59. Phillips PL, Yang Q, Schultz GS. The effect of negative pressure wound therapy with periodic instillation using antimicrobial solutions on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm on porcine skin explants. *Int Wound J* 2013; 10: 48-55.
60. Cooper RA. Iodine revisited. *Int Wound J* 2007; 4: 124-37.
61. Selvaggi G, Monstrey S, Van Landuyt K i sur. The role of iodine in antiseptics and wound management; a reappraisal. *Acta Chirurgica Belgica* 2003; 3: 241-7.
62. Lipsky BA, Hoey C. Topical antimicrobial therapy for treating chronic wounds. *Clin Infect Dis* 2009; 49: 1541-9.
63. Müller G, Kramer A. Biocompatibility index of antiseptic agents by parallel assessment of antimicrobial activity and cellular cytotoxicity. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61: 1281-7.
64. Kim PJ, Attinger CE, Steinberg JS i sur. The impact of negative-pressure wound therapy with instillation compared with standard negative-pressure wound therapy: a retrospective, historical, cohort, controlled study. *Plast Reconstr Surg* 2014; 133: 709-16.
65. Miller CN, Carville K, Newall N i sur. Assessing burden in wounds: comparing clinical observation and wound swabs. *Int Wound J* 2011; 8: 45-55.
66. Reimer K, Vogt PM, Broegmann B i sur. An innovative topical drug formulation for wound healing and infection treatment: *in vitro* and *in vivo* investigation of a povidone-iodine liposome hydrogel. *Dermatology* 2000; 201: 235-41.
67. Chopra I. The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern? *J Antimicrob Chemother* 2007; 59: 587-90.
68. Radzig MA, Nadtochenko VA, Koksharova OA i sur. Antibacterial effects of silver nanoparticles on gram-negative bacteria: influence on the growth and biofilms formation, mechanisms of action. *Colloids Surf B* 2013; 102: 300-6.
69. Storm-Versloot MN, Vos CG, Ubbink DT, Vermeulen H. Topical silver for preventing wound infection. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; 17:CD006478.
70. Percival SL, Bowler P, Woods EJ. Assessing the effect of an antimicrobial wound dressing on biofilms. *Wound Repair Regen* 2008; 16: 52-7.
71. Lu J, Trumbull L, Burke CM i sur. Manuka-type honeys can eradicate biofilms produced by *Staphylococcus aureus* strains with different biofilm-forming abilities. *Peer J* 2014; 2: e 326; DOI 107717/peerj.326.
72. Abstract. Methylglyoxal: (Active agent of manuka honey) *in vitro* activity against bacterial biofilms. *International forum of allergy and rhinology* 2011; 1:348-50. DOI 10.1002/abr.20073.
73. Schultz G. Understanding biofilm-based wound care. What you need to know? *Wounds Internat Webcast* 2015; 2011 <http://bit.ly/1FWZTeA>.
74. Seth AK, Geringer MR, Gurjala AN i sur. Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm-infected wounds with clinical wound care strategies: a quantitative study using an *in vitro* rabbit ear model. *Plast Reconstr Surg* 2012; 129: 262e-74e.

SUMMARY

THE ROLE OF ANTISEPTICS AND STRATEGY OF BIOFILM REMOVAL IN CHRONIC WOUND

N. KUČIŠEC-TEPEŠ

Croatian Academy of Medical Sciences, Zagreb, Croatia

Chronic wound does not heal within the expected time frame because it remains in the inflammation phase of healing. The reason for this is the presence of necrotic tissue and a large number of microorganisms, primarily bacteria that secrete the biofilm, along with ischemia, hypoxia and edema. Biofilm is present in 90% of chronic wounds and 6% of the acute ones. Biofilm is a corporative association of microbes which adhere to the surface of the wound, guided by quorum sensing molecules. The association is surrounded by a moisturizing matrix of extracellular polymeric substances (slime) which protect the microbes from the impact of antibiotics, antiseptics, macro-organism defense and stress. Biofilm is the primary cause of the wound chronicity because it causes permanent inflammation, delayed granulation tissue formation and migration of epithelium cells, thus providing a reservoir of microbes that lead to infection of the chronic wound. The aim of good clinical practice is to enable healing of a chronic wound within the expected time frame. In order to achieve this aim, it is necessary to reduce and thoroughly remove the biofilm from the wound and prevent its reappearance. This is achieved by the application of active anti-biofilm compounds and procedures that disintegrate the quorum sensing molecules, degrade the extracellular polymeric substances and block adherence to the surfaces. Recent researches have shown that the application of antiseptics is effective in the prevention of infection and is a support to targeted treatment. However, the fact is that only some antiseptics are applicable to chronic wounds and can have an impact on biofilms of the primary infective agents such as *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., and *Pseudomonas aeruginosa*. Effective antiseptics are octenidine dihydrochloride, polyhexanides, povidone and cadexomer iodine, nanocrystal silver and Manuka-type honey. Immobile biofilm is a persistent problem of chronic and chronic infected wounds. In fact, there is no isolated therapeutic procedure or an individual antiseptic that can fully destroy the biofilm. For this reason, modern strategy in the management of chronic wound applies a multimodal approach which combines mechanical-chemical procedures such as debridement, antiseptics, and antimicrobial supportive compresses. Debridement creates a therapeutic 'window' for the action of antiseptics and antibiotics in a 72-hour period, which enables removal of the biofilm and active destruction of the sessile and planktonic bacteria. This approach also prevents *de novo* formation of the biofilm. The above procedures must be intensively repeated, and antiseptics and supportive compresses changed, depending on the phase of the wound bed and comorbidity factors in the patient. The results of clinical studies show that only such a proactive approach to chronic wound enables achievement of healing within the expected period of time.

Key words: chronic wound, biofilm, antiseptics