

RANA OPARZENIOWA – PROCESY JEJ ROZWOJU ORAZ WYBRANE CZYNNIKI ETIOLOGICZNE ZAKAŻENIA

Kamila Korzekwa^{1*}, Kamil Sobolewski¹, Bartłomiej Sobolewski²

¹Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Biologicznych, Zakład Mikrobiologii

²Głogowski Szpital Powiatowy

Wpłynęło w kwietniu, zaakceptowano w październiku 2021 r.

Streszczenie: Choć tematyka oparzeń wydaje się być stosunkowo dobrze opracowana w piśmiennictwie, nadal istnieje potrzeba określenia związku patomechanizmu urazów termicznych z kluczową kwestią zakażeń w ich obrębie. Niezmiernie istotna w przypadku zakażeń ran oparzeniowych jest diagnostyka mikrobiologiczna. Prawidłowe pobranie materiału klinicznego i wykonanie badań mikrobiologicznych pozwala na ustalenie czynnika etiologicznego zakażenia i dobrane antybiotykoterapii celowanej. Jest to szczególnie istotne w dobie narastania oporności drobnoustrojów na antybiotyki i częstego izolowania szczepów wieloantybiotykoopornych. Oparzenie bowiem, zwłaszcza rozległe, stanowi unikalne środowisko, które – wraz z nieprzemyślaną, bądź niecelowaną terapią – determinuje u drobnoustrojów nabywanie oporności na antybiotyki. Fizjologiczna obrona organizmu przed urazem prowadzi do sytuacji, kiedy w ranie oparzeniowej środki przeciwdrobnoustrojowe mogą nie osiągnąć MIC/MBC, co drastycznie zmniejsza szanse powodzenia terapeutycznego.

1. Wstęp. 2. Patomechanizm rany oparzeniowej. 2.1. Powstawanie rany oparzeniowej. 2.2. Hemostaza. 2.3. Odpowiedź zapalna. 2.4. Przebudowanie (remodeling) rany i gojenie. 2.5. Wstrząs oparzeniowy. 3. Aspekt immunologiczny oparzeń. 4. Mikrobiota rany oparzeniowej. 5. Zakażenie rany oparzeniowej. 6. Przyczyny nieskuteczności antybiotykoterapii zakażenia rany oparzeniowej. 7. Podsumowanie

BURN WOUND – THE PROCESSES OF ITS DEVELOPMENT AND SELECTED ETIOLOGICAL FACTORS OF INFECTION

Abstract: Although the topic of burns appears to be relatively well understood in the literature, there is still an apparent discontinuity in the understanding of the correlation of the pathomechanism of thermal injury with the key issue of infection within it. From the analysis of the literature, an intriguing picture emerges for both clinicians and microbiologists. Microbiological diagnosis is extremely important in burn wound infections. The correct sampling and performance of microbiological cultures allows for the identification of the etiological agent of infection and the appropriate choice of targeted antibiotic therapy based on the results of microbiological tests. This is particularly important in the era of increasing resistance of microorganisms and frequent isolation of multi-drug resistant strains. A burn, especially extensive, is a unique environment which, together with ill-considered or ineffective therapy, determines the acquisition of antibiotic resistance in microorganisms. The consequence of physiological defense of the body against injury leads to a situation where in the center of the burn wound antimicrobials may not reach MIC/MBC, which drastically reduces the chances of therapeutic success.

Słowa kluczowe: drobnoustroje, oporność, patomechanizm, rana oparzeniowa, zakażenie
Keywords: microorganisms, drug resistance, pathomechanism, burn injury, infection

1. Wstęp

Zgodnie z definicją Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO), oparzenie to uraz skóry i sąsiadujących tkanek wywołany przez promieniowanie lub ciepło, ale także chemikalia, łuk elektryczny, promieniowanie jonizujące lub tarcie. W tym kontekście do oparzenia zalicza się również uszkodzenie dróg oddechowych, spowodowane przez wdychanie dymu, par lub powietrza o wysokiej temperaturze [167]. Oparzenie to zespół zmian martwiczych i zapalnych w obrębie tkanek i powłok ciała, które to zmiany są powodowane przez działanie przede wszystkim energii cieplnej w dawce przekraczającej możliwości kompensacyjne organizmu. Różne czynniki wywołujące

oparzenie przyczyniają się do odmiennego obrazu urazu skóry i tkanek przyległych [69]. Łuk elektryczny powodować będzie z większym prawdopodobieństwem urazy tkanek położonych głęboko; skala oparzenia będzie korelować z opornością danych tkanek oraz parametrami prądu (napięciem i natężeniem). Oparzenie kwasami prowadzi do koagulacji tkanki przy jednoczesnym zachowaniu jej struktury; zasady będą powodować martwicę rozplýwną. Zróznicowane mogą być również następstwa urazów termicznych, zależne od czynnika parzącego – działanie pary wodnej i wody o wysokiej temperaturze skutkuje początkowo oparzeniem powierzchniowym, działanie wrzących olejów lub bezpośrednio płomienia spowoduje niemalże natychmiastowe głębokie oparzenie. Zaliczane do urazów

* Autor korespondencyjny: dr Kamila Korzekwa, Zakład Mikrobiologii, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski, ul. Przybyszewskiego 63, 51-151, Wrocław; kamila.korzekwa@uwr.edu.pl

termicznych odmrożenia powodują bezpośrednio zniszczenie tkanek poprzez masywną lizę komórek w związku z krystalizacją wody w cytoplazmie oraz pośrednio poprzez niedokrwienie i reperfuzję, co prowadzi do penetracji odmrożenia w głąb tkanek [69].

Komórki w organizmie człowieka są w stanie wytrzymać temperaturę 42°C – powyżej której rozpoczyna się proces destabilizacji błony komórkowej i denaturacji termicznej białek. Głębokość i rodzaj oparzenia są zdeterminowane przede wszystkim przez czas i temperaturę działającego bodźca. Historyczne już badania Moritza i Henriques'a [103] dowodzą, że każdy bodziec termiczny powyżej 44°C działający przez odpowiedni czas, będzie prowadził do oparzenia skóry. Do wywołania oparzenia II–III stopnia przy wspomnianej wyżej temperaturze wymagane było aż 420 minut, jednak taki sam uraz powodował kontakt z ciałem o temperaturze 54°C działający przez 35 sekund i tylko 2 sekundy przy temperaturze 65°C [103, 152].

Oparzenie można potraktować także z termodynamicznego punktu widzenia. Tkanki bowiem, wysyczone wodą, będą posiadać właściwość magazynowania pewnej ilości energii cieplnej, a także oddawania jej dalej, celem wyrównania energii w układzie. Rozpatrując zatem oparzenie można wyróżnić w nim dwie zasadnicze fazy: nagrzewania – etap przekazywania energii cieplnej do tkanek w chwili działania czynnika parzącego oraz chłodzenia – kiedy przestaje działać element parzący, a tkanki będą oddawać stopniowo energię. W drugiej fazie, ciepło nie tylko jest wypromieniowywane do otoczenia przez powierzchnię skóry, ale także przekazywane w głąb tkanek, których temperatura jest niższa. Przegrzanie głębiej położonych tkanek spowodowane przeniesieniem energii cieplnej z wyższych warstw będzie warunkować konwersję oparzenia, czyli samoistne jego pogłębianie się, pomimo iż przestał działać czynnik parzący. Wymiana ciepła w powłokach będzie zachodzić, dopóki temperatura skóry i pobliskich tkanek nie spadnie poniżej 42°C. Szacuje się, że czas powstania indukowanej termicznie martwicy będzie oscylował w granicy 10 do 15 minut. W tym czasie schładzanie powierzchni oparzenia będzie efektywnie odbierać ciepło ze skóry i przeciwdziałać konwersji oparzenia i powstaniu martwicy w głębszych warstwach skóry. Po tym czasie, chłodzenie nie będzie skutkowało zatrzymaniem procesu pogłębiania się urazu, będzie jednak poprawiać komfort pacjenta poprzez działanie przeciwbólowe [24, 152].

Oparzenie klasyfikuje się głównie przez dwa parametry – głębokość oraz powierzchnię. Do określania powierzchni oparzenia (total body surface area, TBSA) u dorosłych stosuje się najczęściej regułę ręki, według której powierzchnia dłoni to 1% powierzchni ciała lub regułę dziewiątek Wallace'a, gdzie powierzchnie: głowy i pojedynczej kończyny górnej wynoszą po 9%,

powierzchnie: pojedynczej kończyny dolnej, przedniej i tylnej powierzchni tułowia wynoszą po 18%, a powierzchnia krocza stanowi 1%. Do oceny TBSA użyteczne w praktyce są także tablice Lunda i Browdera. Głębokość oparzenia określa się wczterostopniowej skali według Artza i Reissa, która w 2001 roku została zastąpiona klasyfikacją opisową, opracowaną przez Shakespeare'a i przedstawioną w tabeli I [37, 63, 113, 115, 156].

2. Patomechanizm rany oparzeniowej

Patomechanizm rany oparzeniowej oraz jej gojenie można podzielić na 5 zasadniczych etapów. Punktem zero jest moment powstania urazu. W jego następstwie kolejną fazą jest hemostaza, która rozpoczyna się niemal natychmiast po zadziałaniu bodźca. Po około 24 godzinach pojawia się faza zapalna, która może trwać od kilku dni do wielu miesięcy, w zależności od powierzchni i głębokości oparzenia. Faza proliferacji rozpoczyna budowanie ziarniny i proces naprawy tkanek, angażujący keratynocyty i fibroblasty. W ostatniej fazie – przebudowania (remodeling) – następuje odtworzenie macierzy zewnątrzkomórkowej oraz odbudowanie struktury tkanek, bądź – w przypadku rozległych urazów – powstanie blizn przerostowych. Holistycznie proces naprawy tkanek zależy od wielu czynników – odpowiedzi immunologicznej, zdolności danego organizmu do gojenia, odżywienia, wieku, itd. [30, 37, 69, 139, 156].

2.1. Powstawanie rany oparzeniowej

Według koncepcji Jacksona, w oparzeniu po zadziałaniu czynnika parzącego, można wyróżnić trzy strefy, różniące się stopniem uszkodzenia tkanek [40, 63, 156]. W obszarze działania najsilniejszego bodźca znajduje się strefa koagulacji, która charakteryzuje się całkowitą denaturacją i zniszczeniem tkanek. Strefa zastoju obejmuje najbliższe tkanki otaczające strefę koagulacji. Jest to obszar umiarkowanie uszkodzony, o obniżonej perfuzji i silnie zapalny. W zależności od głębokości oparzenia oraz postępowania leczniczego strefa ta może ulec wygojeniu, stanowiąc podstawę do wytworzenia w obrębie rany zdrowej ziarniny, bądź przejść w martwicę. Z klinicznego punktu widzenia istotne jest, by rewaskularyzację obszaru zastoju uzyskać możliwie szybko, w przeciągu kilku dni; w przeciwnym razie nieuniknione jest obumarcie tkanki [145, 165]. W piśmiennictwie opisywane są informacje o podatności strefy zastoju na stres oksydacyjny związany z reperfuzją, tj. pojawienie się zespołu poreperfuzyjnego. Wspomniana wcześniej martwica tkanki postępuje z powodu masowej indukcji apoptozy w komórkach, co prowadzi do

Tabela I
Charakterystyka morfologiczna rany oparzeniowej z uwzględnieniem jej głębokości

Klasyfikacja		Głębokość urazu	Morfologia rany	Zachowanie czucia w obrębie rany	Krażenie kapilarne	Gojenie
Artza-Reissa	Shakespeare'a					
Stopień I	Powierzchnowe	Naskórek	Zaczerwienienie, przesuszona powierzchnia	Zachowane	Zachowane, skóra blednie pod naciskiem	Całkowite
Stopień IIa	Powierzchnowe pośredniej grubości	Naskórek i część skóry właściwej	Zaczerwienienie, pęcherze, skóra wilgotna od treści surowiczej pęcherzy	Zachowane	Zachowane, skóra blednie pod naciskiem	Całkowite; z wzrastaniem głębokości urazu większa
Stopień IIb	Głębokie średniej grubości	Naskórek i skóra właściwa	Zaczerwienienie, pęcherze, powierzchnia wilgotna od treści surowiczej pęcherzy; przy rozleglejszych urazach powierzchnia woskowata, owrzodziała, w kolorze biało-żółtym	Zachowane	Nie zachowane, skóra nie blednie pod naciskiem	możliwość pojawienia się blizn
Stopień III	Pełnej grubości	Naskórek wraz ze skórą właściwą i tkanką podskórną	Powierzchnia woskowata, owrzodziała, w kolorze biało-żółtym, często zwęglona	Zniesienie czucia dotyku i bólu	Nie zachowane, skóra nie blednie pod naciskiem	Niecałkowite, z dużym udziałem blizn przerostowych, wymaga interwencji chirurgicznych
Stopień IV	Pełnej grubości, penetrujące głębiej położone tkanki	Naskórek wraz ze skórą właściwą, tkanką podskórną i głębiej położonymi tkankami, do kości włącznie	Jak w oparzeniach pełnej grubości	Całkowite zniesienie dotyku i bólu czucia	Nie zachowane, skóra nie blednie pod naciskiem	Brak gojenia

Na podstawie: [37, 69, 113, 115, 156].

zaostrenia się stanu zapalnego i samoistnego pogłębiania rany oparzeniowej. Strefa zastoju szczególnie uwidocznioma jest w głębokich oparzeniach skóry [80, 146]. Zewnętrznie od strefy zastoju wyróżnić można strefę przekrwienia, która charakteryzuje się rozszczylnieniem naczyń krwionośnych oraz reakcją zapalną, jednak bez widocznych uszkodzeń strukturalnych [37, 69, 138, 156].

2.2. Hemostaza

Po zadziaaniu bodźca parzącego i rozproszeniu energii w powłokach, w miejscu urazu tworzy się skrzep fibrynowy, który stanowi pierwotną macierz do osadzania się fibroblastów, keratynocytów i komórek macierzystych. Powstanie skrzepu uwarunkowane jest poprzez agregację i aktywację płytek krwi oraz uwalnianie czynników wzrostu: naskórkowego czynnika wzrostu (epidermal growth factor, EGF), płytkopochodnego czynnika wzrostu (platelet-derived growth factor, PDGF) oraz transformującego czynnika wzrostu beta (transforming growth factor beta, TGF-beta) [70]. Równolegle zaczyna funkcjonować nieswoista odpowiedź komórkowa z udziałem neutrofilów i makrofagów,

które migrują do miejsca urazu i produkują cytokiny prozapalne. Proces ten oraz czynniki uwalniane ze zniszczonych tkanek warunkują indukcję stanu zapalnego. Obrzęk spowodowany stanem zapalnym umożliwia efektywną penetrację przestrzeni śródmiąższowej przez komórki układu odpornościowego, których zadaniem jest oczyszczenie rany z martwiczych resztek oraz ciał obcych [37, 69, 109, 115, 132, 139]. W kolejnym etapie lokalne fibroblasty i keratynocyty proliferują, by zastąpić pierwotne fibrynowe „rusztowanie” macierzą łącznotkankową – ziarniną. Rana oparzeniowa na tym etapie będzie zawierać w swej strukturze komórki układu odpornościowego, trombocyty, erytrocyty, fibroblasty i keratynocyty. Ich aktywność będzie modulowana neuroendokrynnie i przez wspomniane wyżej mediatory zapalenia. Najważniejsze molekularne modulatory rozwoju i gojenia rany oparzeniowej to: TGF-beta, który aktywuje fibroblasty do proliferacji, jednak jego przewlekłe działanie w ranie prowadzi do przykurczu tkanek i deformacyjnego gojenia, PDGF – niezbędny w angiogenezie oraz czynnik wzrostu śródbłonna naczyńiowego (vascular endothelial growth factor, VEGF) będący również stymulatorem angiogenezy; i wspomagający migrację monocytów i makrofagów

[134, 143]. Kluczowe do prawidłowego wygojenia są: unaczynienie miejsca odbudowywanego (angiogeneza) oraz nabłonkowanie (epitelializacja) [61, 132].

2.3. Odpowiedź zapalna

W pierwszej fazie, zwanej fazą odpływu (ebb phase) następuje supresja reakcji metabolicznej, co objawia się przez obkurczenie naczyń krwionośnych, redukcję perfuzji tkanek i rzutu serca oraz – w konsekwencji – hipowolemię [3, 59, 71]. Stopniowo w organizmie dochodzi do przewagi procesów katabolicznych nad anabolicznymi, co nazywane jest fazą przyływu (flow phase). Charakteryzuje się ona zwiększeniem zapotrzebowania energetycznego, podwyższeniem temperatury ciała, silną indukcją odpowiedzi immunologicznej oraz wzrostem tempa pracy narządów centralnych (nerki, wątroba, serce, płuca) poprzez sekrecję różnych hormonów stresu: aldosteronu, wazopresyny, amin katecholowych i glukagonu [37, 59, 71, 139]. Pojawienie się ich w organizmie prowadzi także do zmian w gospodarce cytokinowej, a w rezultacie spowoduje modulację odpowiedzi immunologicznej. Uwolniona noradrenalina hamuje działanie limfocytów Th-1, przy braku oddziaływania na populację limfocytów Th-2 [76, 137]. Podwyższone stężenie glikokortykosteroidów we krwi prowadzi do zmniejszenia sekrecji IFN-gamma i IL-2, przy jednoczesnym braku inhibicji cytokin działających antagonistycznie do IFN-gamma (i ogólnie czynników prozapalnych), a więc IL-4 i IL-10 [146]. Spadek stężenia cytokin prozapalnych (IL-2 i IL-1) spowoduje aktywację limfocytów T supresorowych i zmniejszenie aktywności komórek NK (natural killer). Modulacja odpowiedzi immunologicznej skutkuje szeregiem zmian w subpopulacjach limfocytów T. Okres hipermetaboliczny jest znamienny u pacjentów rozlegle oparzonych, u których utrzymywać się może z malejącym natężeniem do 36. miesięcy po wystąpieniu urazu [24, 70, 71].

2.4. Przebudowa rany i gojenie

Gojenie *de facto* każdej rany ma na celu zamknięcie naturalnej bariery skórnej w sposób najbardziej zbliżony do naturalnego, a więc zapewniający maksymalne możliwe: ukrwienie, elastyczność i funkcjonalność [66]. Gojenie rany oparzeniowej zależy od jej głębokości oraz od odpowiedzi immunologicznej w jej obrębie [37, 63, 69, 73, 104, 131]. Naskórek, który stanowi zewnętrzną warstwę skóry, jako pochodzący z ektodermalnego listka zarodkowego, jest zdolny do regeneracji i proliferacji. Jeżeli więc oparzenie obejmuje tylko warstwę naskórka (stopień I), wówczas rana goi się całkowicie, nawet jeżeli oparzenie dotyczy znacznego obszaru [6, 20, 132]. Inny przebieg obserwuje się

w przypadku oparzeń głębokich, gdzie uszkodzeniu ulegają warstwa skóry właściwej i tkanka podskórna. W takiej sytuacji rana goi się powoli, od brzegów; zaś tempo gojenia będzie zależać od migracji keratynocytów z obszarów zdrowej tkanki oraz odkładania się w macierzy zewnątrzkomórkowej kolagenu i elastyny [69, 73, 132]. Najcięższe oparzenia (III i IV stopnia) wymagają interwencji chirurgicznej i pozostawiają trwałą bliznę przerostową [37, 63, 69, 132]. Oparzenia obejmujące skórę niepełnej grubości będą goić się z wytworzeniem ziarniny; ważna jest jednak synteza włókien kolagenowych przez odbudowującą się tkankę. Nieregularne utkanie sieci włókien kolagenowych warunkuje powstawanie blizny przerostowej, która w znaczący sposób ogranicza funkcjonalność skóry i aparatu ruchu w jej okolicy. Regularne, równoległe do prawidłowego ułożenie włókien ułatwia gojenie się rany, z powstaniem blizny nieprzerostowej. Oparzenia II stopnia z uszkodzeniem błony podstawnej i najwyższej położonej warstwy skóry właściwej ulegają wygojeniu bez ziarniny, za to z wytworzeniem blizny nieprzerostowej. Oparzenia lekkie (np. słoneczne) goją się bez śladu, z całkowitą regeneracją naskórka. Istotny w mechanizmie gojenia jest proces obkurczania się rany, który zachodzi naturalnie. Samoistne odgraniczenie strupa martwiczego w obrębie rany oparzeniowej (demarkacja) powoduje rozpoczęcie tworzenia ziarniny, przez co powierzchnia rany oparzeniowej zmniejsza się do 10% w ciągu 6. tygodni od urazu. Ma to związek z obecnymi w ziarninie miofibroblastami, które charakteryzują się kurczliwością, podobną do mięśni gładkich. Obkurczenie się rany wraz z ziarniną będzie prowadzić do lokalnych przykurczy skóry i okolicznych tkanek miękkich po wygojeniu, co jest zjawiskiem niepożądanym [37, 72, 132].

2.5. Wstrząs oparzeniowy

Jak wspomniano we wstępie, powstawanie rany oparzeniowej następuje etapami, co jest konsekwencją stopniowej progresji energii cieplnej w głąb tkanek ciała. Jednak sekwencja patomechanizmu oparzeń jest bezpośrednio powiązana z wielkością oparzenia. Urazy termiczne, które przekraczają 30% TBSA w konsekwencji uwolnienia z tkanek dużych ilości mediatorów zapalnych oraz wolnych rodników, doprowadzają do uogólnionej reakcji organizmu, zwanej wstrząsem oparzeniowym [31, 34, 37, 69, 80, 115].

Wszystkie komórki oddychające tlenowo wyrażają określone metaboliczne zapotrzebowanie na tlen. Ogólna definicja wstrząsu opiera się na niedostatecznej podaży tlenu do tkanek, co prowadzi do niewydolności narządów. Rozwój niewydolności wielonarządowej (multiple organ dysfunction syndrome, MODS) zachodzi, gdy niewydolne stają się co najmniej dwa narządy lub układy. Zazwyczaj MODS jest efektem

wstrząsu septycznego lub niewydolności krążenia. Rozległe oparzenia, powodując wstrząs w związku z masywnym uszkodzeniem tkanek oraz silnym pobudzeniem układu odpornościowego i endokrynnego, również warunkują powstanie niewydolności wielonarządowej [34, 127]. Mechanizm wstrząsu w przebiegu oparzenia uwarunkowany jest przede wszystkim przez rozległe uszkodzenie tkanki, co prowadzi do masywnego wycieku płynu z naczyń włosowatych. Zniszczenie tkanki determinuje gwałtowną sekrecję mediatorów prozapalnych do krwioobiegu: prostaglandyn, leukotrienów i prostacyklin, kinin i cytokin – burzę cytokinową, która dodatkowo powoduje rozszczelnienie śródbłonna [34, 69, 146]. Wypływanie osocza do przestrzeni śródmiąższowej skutkuje znacznym ubytkiem płynu w łożysku naczyniowym (hipowolemia). Ogólnoustrojowy pierwotny efekt wstrząsu oparzeniowego opiera się na zaburzeniach czynności układu sercowo-naczyniowego (upośledzenia makro- i mikrokrążenia) oraz powstawania masywnych obrzęków, związanych z utraceniem fizjologicznej równowagi między ciśnieniem onkotycznym a hydrostatycznym krwi [4, 31, 34, 41, 47, 164].

3. Aspekt immunologiczny oparzeń

Wśród przyczyn wstrząsu oparzeniowego zasadniczą rolę spełnia układ odpornościowy [51, 52, 69, 137]. Ze względu na swoistość, reakcja odpornościowa dzieli się na nieswoistą (wrodzoną) i swoistą (nabytą). Odpowiedź nieswoista stanowi „centrum szybkiego reagowania” i pojawia się w zasadzie natychmiast po urazie. Głównym jej celem jest rozpoznanie potencjalnych czynników patogennych, które mogłyby wnikać przez naruszone powłoki ciała. Kluczową rolę w rozpoznawaniu antygenów patogenów i odróżnianiu ich od antygenów autogenicznych pełnią receptory rozpoznające patogeny (pattern recognition receptors, PRR). Wyróżnić wśród nich można receptory toll-podobne (toll-like receptors, TLR) i receptory podobne do NOD (NOD-like receptors, NLR), które rozpoznają specyficzne wzorce antygenowe (pathogen associated molecular patterns, PAMP). Do komórek wykorzystujących receptory TLR zalicza się komórki nabłonka, śródbłonna, a także adipocyty i komórki układu odpornościowego (makrofagi, monocyty, limfocyty B, mastocyty, komórki dendrytyczne i neutrofile) [95, 149]. Ponadto neutrofile, makrofagi i monocyty wykazują zdolność rozpoznawania także endogennych wzorców molekularnych (danger/damage associated molecular patterns, DAMP) zwanych alarminami, które uwalniane są z komórek zniszczonych urazem [26, 69]. Wskutek działania PAMP na wspomniane wcześniej receptory, dochodzi do rozwoju kaskad metabolicznych skutku-

jących aktywacją kompleksu białkowego NF- κ B [26, 46]. Występuje on w większości komórek zwierzęcych i ludzkich, pełniąc rolę czynnika transkrypcyjnego, modulującego odpowiedź organizmu na stan zapalny, przede wszystkim poprzez uruchomienie sekrecji mediatorów prozapalnych – TNF-alfa oraz IL-1, IL-6 i IL-8 [46]. Wydzielanie dużej ilości cytokin prozapalnych prowadzi w krótkim czasie do ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej.

Znaczącą fazą w odpowiedzi immunologicznej na oparzenie jest odpowiedź prozapalna. Pośredniczą w niej zarówno elementy układu odpornościowego, jak i zniszczone urazem komórki w obrębie skóry. Wiele różnych komórek (przede wszystkim leukocytów) w odpowiedzi na stres produkuje dwa główne czynniki prozapalne – TNF-alfa i IL-1. Ich obecność w miejscu poddanym urazowi i w organizmie powoduje pojawienie się objawów zapalenia: gorączki, obrzęku i zaczerwienienia. Z biochemicznego punktu widzenia jest to wynik zwiększenia produkcji białek ostrej fazy i reaktywnych form tlenu [137, 146, 150]. Odpowiedzią prozapalną kieruje także wiele innych cytokin, wśród których znaczącą rolę odgrywa IL-6. Wraz z TNF-alfa i IL-1, IL-6 pobudza limfocyty T poprzez indukcję wydzielania białek ostrej fazy [119, 168]. Kolejnym istotnym czynnikiem prozapalnym jest IFN-gamma, który produkowany jest przez limfocyty Th-1 i komórki NK w następstwie urazu. IFN-gamma pobudza działanie fagocytarne i wydzielnicze makrofagów, a także stymuluje różnicowanie limfocytów T CD4⁺ w limfocyty Th-1, uniemożliwiając jednocześnie różnicowanie do subpopulacji Th-2 [34, 129].

Po początkowym okresie silnej indukcji prozapalnej, w organizmie dotkniętym urazem termicznym stwierdza się działanie przeciwzapalne układu immunologicznego, wynikające z antagonizmu działania komponentów komórkowych i białkowych w różnych fazach odpowiedzi odpornościowej. Wraz z upływającym czasem od powstania urazu termicznego, w organizmie liczba makrofagów i monocytów zmniejsza się. W takiej sytuacji notuje się indukcję wydzielania prostaglandyny E₂ (PGE₂) przez makrofagi, która wraz ze spadkiem stężenia IL-12 warunkuje różnicowanie w obrębie populacji limfocytów T: limfocyty Th przekształcają się w Th-2, które mają działanie redukujące stan zapalny poprzez produkcję cytokin przeciwzapalnych (IL-4 i IL-10) [43, 47, 119].

Zmiany w odpowiedzi immunologicznej w przebiegu oparzenia dotyczą również odpowiedzi komórkowej. Aktywność podstawowych komórek układu odpornościowego – neutrofile – jest modulowana także przez oparzenie. Ich zdolność chemotaktyczna oraz możliwość fagocytozy i zabijania wewnątrzkomórkowego patogenów jest upośledzona w związku z gwałtownym uwalnianiem defensyn i czynników zapalnych

tuż po urazie i brakiem zdolności do odtworzenia ich później w wystarczającej ilości [49, 130].

Makrofagi po urazie termicznym wykazują zwiększoną produkcję PGE_2 , co zmniejsza odpowiedź komórkową limfocytów B i T. Dodatkowo obniża się ich zdolność do prezentowania antygeny przez kompleks MHC II. Prowadzi to w krótkim czasie do zaburzenia swoistej odpowiedzi immunologicznej opierającej się na specyficznych przeciwciałach, które mogą zostać wytworzone dzięki kaskadzie reakcji, w której MHC II odgrywa ważną rolę [134, 150].

Oparzenie wpływa na drogi aktywacji dopełniacza – głównie na drogę alternatywną. Stężenie białek dopełniacza obniża się tuż po oparzeniu, aby następnie osiągnąć stężenie powyżej normy [42]. Z biochemicznego punktu widzenia, uraz termiczny bezpośrednio wpływa na zwiększenie ilości C5a i C3a w osoczu, co prowadzi do aktywacji leukocytów i indukcji stanu zapalnego [13, 61]. Zwiększona produkcja kompleksu atakującego błonę (membrane attack complex, MAC) w następstwie pobudzenia kaskad dopełniacza może, jeśli w krwiobiegu znajduje się dużo drobnoustrojów zwłaszcza Gram-ujemnych, doprowadzić do masywnej lizy komórek bakteryjnych i potężnej toksemii, zwanej zespołem Jarischa-Herxheimera [12].

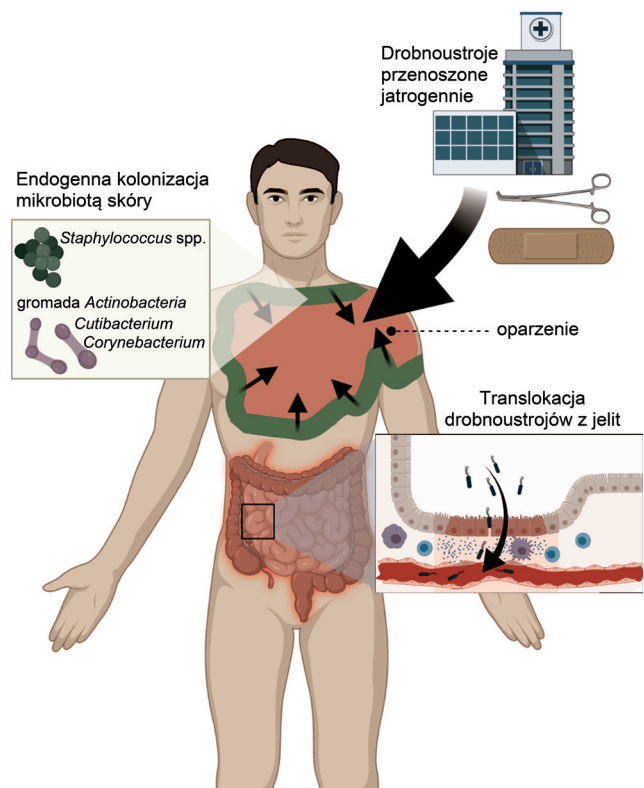
4. Mikrobiota rany oparzeniowej

Skóra jest zewnętrzną barierą chroniącą organizm w warunkach fizjologicznych przed urazami, skaleczeniem i zakażeniem; warunkuje także zachowanie odpowiedniej gospodarki wodno-elektrolitowej oraz pośredniczy w termoregulacji. Mikrobiota skóry jest wyspecjalizowanym ekosystemem, w którego skład wchodzi głównie bakterie (*Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* i *Proteobacteria*) [16, 96].

Na uwagę zasługuje fakt, iż mikrobiota każdego człowieka różni się i zależy od wieku, płci, promieniowania UV, miejsca zamieszkania, wykonywanego zawodu, stosowanej diety, zażywanych leków, rodzaju stosowanych kosmetyków. Liczność i różnorodność mikrobioty fizjologicznej skóry są regulowane przez cykliczne złuszczenie się warstwy rogowej naskórka, a także przez wydzielanie na powierzchnię skóry łoju działającego przeciwbakteryjnie i przeciwgrzybiczo. Lekko kwaśny odczyn skóry zapobiega nadmiernemu namnażaniu drobnoustrojów na jej powierzchni [171]. Naturalnie występująca mikrobiota skóry składa się z mikrobioty przejściowej oraz stałej. Mikrobiota przejściowa rezyduje na powierzchni tylko czasowo, a w jej skład wchodzi drobnoustroje z najbliższego otoczenia człowieka [131]. Najkorzystniejsze warunki do rozwoju bakterii w obrębie skóry są tam, gdzie jest względnie wysoka temperatura i wilgotność, a więc

w pachwinach, w okolicy zewnętrznych narządów układu moczowego i płciowego oraz w okolicy twarzy; zaś w najgłębszych jej warstwach umiejscawiają się bez-tlenowce [131].

W momencie działania czynnika parzącego mikrobiota skóry w okolicy urazu ulega eradykacji. Z tego powodu skóra natychmiast po oparzeniu jest jałowa. Jednak po 48 godzinach dochodzi do kolonizacji rany przez drobnoustroje endogenne, pochodzące z nieuszkodzonych obszarów skóry [69]. Ponadto źródłem zakażenia endogennego jest przewód pokarmowy, który w wyniku działania cytokin prozapalnych zwiększa zdolność bakterii do przemieszczania się przez nabłonek [69, 74]. Utrata funkcji ochronnej nabłonka jelitowego zachodzi w wyniku nadprodukcji w następstwie oparzenia tlenku azotu [107], hamującego działania układu współczulnego na perystaltykę jelit oraz zwiększonej ekspozycji na endotoksyny bakteryjne. W rezultacie dochodzi do translokacji drobnoustrojów ze światła jelita do krwiobiegu, co zaostrza stan zapalny i może prowadzić do wstrząsu septycznego. Gram-ujemne pałeczki z przewodu pokarmowego pojawiają się w ranie oparzeniowej średnio od 3. doby po urazie. W środowisku szpitalnym kontakt z patogenami może zachodzić poprzez urządzenia monitorujące i podtrzymujące parametry życiowe oraz personel – z tego powodu obecne w ranie są także drobnoustroje przeniesione jatrogennie (ryc. 1) [74, 102, 103, 124].



Ryc. 1. Drogi zakażenia rany oparzeniowej
Rycina stworzona przy pomocy programu BioRender.
Na podstawie [60, 64].

Najczęściej izolowane z zakażonych ran oparzeniowych są bakterie z gatunków: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, pałeczki Gram-ujemne z grupy KESC (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*), *Proteus* spp., oraz drożdżaki *Candida* spp. [11, 37, 41, 114, 115, 159, 160, 161]. W ostatnich latach, dzięki doskonaleniu metod diagnostyki mikrobiologicznej oraz współpracy mikrobiologów i klinicystów poszerzyła się lista drobnoustrojów izolowanych z zakażeń ran oparzeniowych. Dla przykładu, metodami klasycznymi możliwe jest wyizolowanie z próbki średnio dwóch gatunków drobnoustrojów; stosując metody sekwencjonowania 16S liczba gatunków wykrytych drobnoustrojów zwiększa się średnio do 15 [144]. Jednak metody sekwencjonowania 16S nie są powszechnie stosowane w diagnostyce mikrobiologicznej. Co istotne, bardzo często są to szczepy wieloantybiotykooporne [2, 97, 161]. Coraz częściej w medycznych laboratoriach prowadzących diagnostykę mikrobiologiczną zastosowanie ma metoda spektrometrii MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization, desorpcja/ionizacja laserem wspomagana matrycą, MALDI; Time of Flight, pomiar czasu przelotu jonów, TOF; Mass Spectrometry, spektrometria masowa, MS), która pozwala na identyfikację w ciągu kilku do 15 minut szerokiego zakresu gatunków zarówno bakterii, jak i grzybów.

5. Zakażenie rany oparzeniowej

Obecność drobnoustrojów w ranie, nawet potencjalnie patogennych, nie jest równoznaczna z jej zakażeniem [7, 53, 75, 93, 111, 113, 115, 144]. Proces zakażenia rany rozpoczyna się zanieczyszczeniem tkanek po uszkodzeniu bariery obronnej skóry. Jednak sama kolonizacja nie powoduje odpowiedzi zapalnej *de novo* w ranie oparzeniowej.

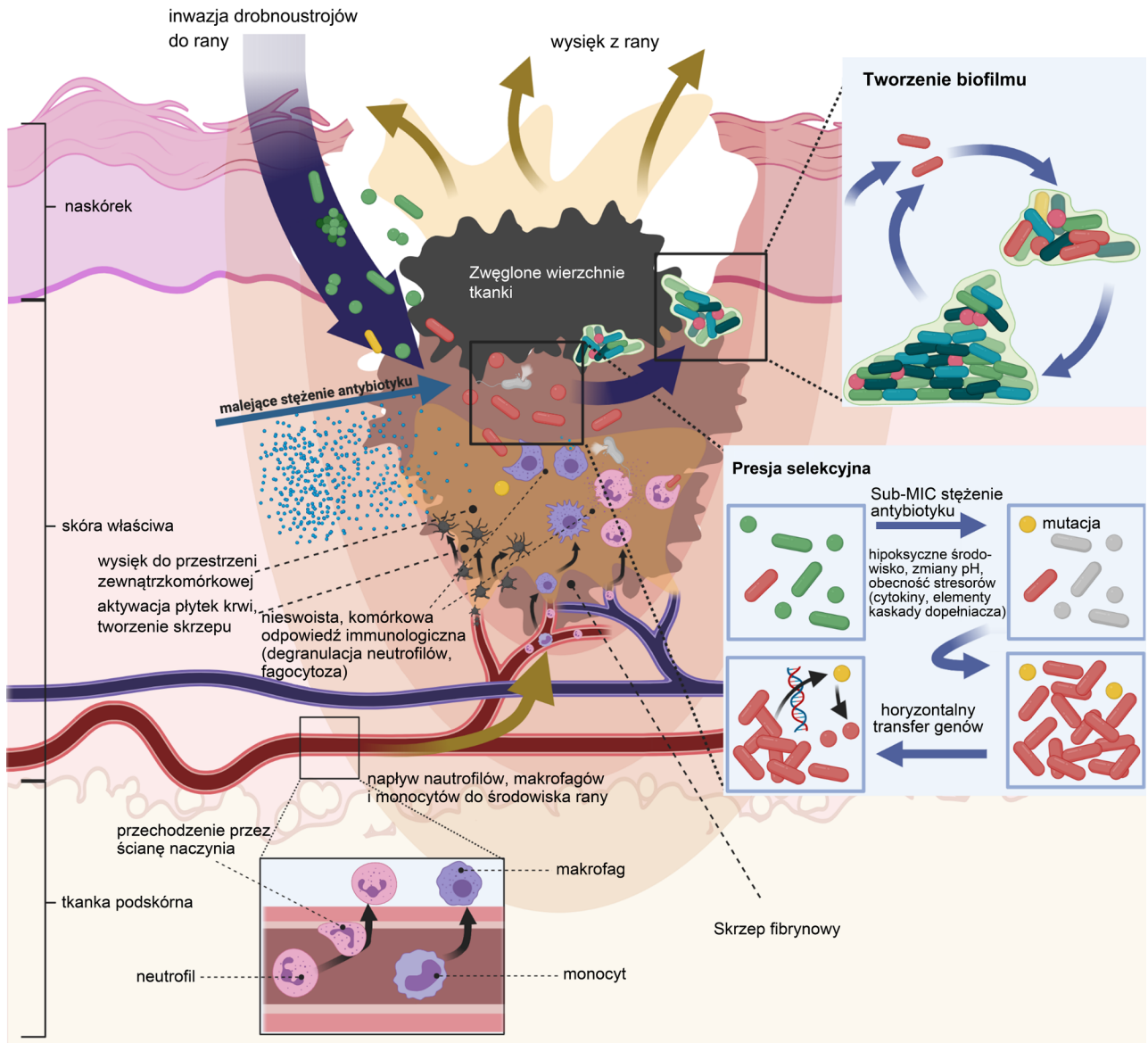
Formy planktoniczne drobnoustrojów swoiście adherują do powierzchni żywych i martwych tkanek w obrębie urazu. Związane jest to z odsłonięciem w zniszczonych tkankach białek macierzy zewnątrzkomórkowej i fibryny, będących receptorami dla bakterijnych adhezyn [69]. Postępująca kolonizacja rany prowadzi do wnikania drobnoustrojów w głąb tkanki przyrannej i indukcji odpowiedzi prozapalnej, co prowadzi do rozwoju zakażenia miejscowego, które może rozwijać się ogólnoustrojowo [54, 144] (ryc. 2). Obecność drobnoustrojów na powierzchni i w łożysku przewlekłej rany, jaką jest oparzenie, prowadzi do tworzenia biofilmu który znacząco utrudnia proces gojenia i leczenie [53, 55]

Wytyczne IWII (International Wound Infection Institute) określają następujące etapy zakażenia rany:

kontaminacja, kolonizacja, zakażenie miejscowe, rozprzestrzenianie się oraz ogólnoustrojowe [54]. Wspomnieć należy o opisywanym w piśmiennictwie pojęciu krytycznej kolonizacji [9, 87] – obecnie już nie uwzględnianej. Pojęcie to charakteryzuje stan, w którym rana nie wykazuje typowych cech zakażenia, a goi się w sposób utrudniony, co wynika z obecności krytycznej liczby drobnoustrojów w łożysku rany. Przechodzenie rany przez wspomniane wcześniej etapy zakażenia jest płynne i zależy od wielu czynników, w tym od wieku i płci chorego, wydolności jego układu odpornościowego oraz wielkości i lokalizacji rany. Trudne w związku z tym jest ustalenie obiektywnej definicji krytycznej kolonizacji. Przy braku jasnych przesłanek w piśmiennictwie, eksperci IWII zdecydowali nie wyróżniać w wytycznych pojęcia krytycznej kolonizacji [54].

W 2011 roku do oceny ryzyka zakażenia ran opracowana została skala W.A.R. (wound at risk). Według najnowszych rekomendacji Polskiego Towarzystwa Leczenia Ran z 2020 roku obejmuje ona szereg czynników ryzyka i predyspozycji, którym przypisana jest określona wartość parametryczna w wysokości jednego, dwóch lub trzech punktów. Jeżeli w ocenie określonej rany suma czynników jest większa bądź równa 3, ranę taką określa się jako zagrożoną zakażeniem. Stan rany określony skalą W.A.R. umożliwi dobranie preparatów przeciwbakteryjnych i opatrunków a także odpowiedniego algorytmu postępowania [7, 111, 144].

Wśród czynników ryzyka skali W.A.R., oparzenie powyżej 15% TBSA ma przypisaną wartość 3 punktów. Pozostałe czynniki towarzyszące oparzeniom – rozmiar rany przekraczający 10 cm² i głębokości powyżej 1,5 cm a także przedłużenie hospitalizacji powyżej trzech tygodni sklasyfikowane są w kategorii 1 punktu W.A.R. Oznacza to w praktyce, iż każda rana oparzeniowa wymagająca leczenia zamkniętego jest raną zagrożoną zakażeniem. W celu rozpoznania zakażenia rany oparzeniowej, należy wziąć pod uwagę także aspekt kliniczny i histopatologiczny. Ważna jest nie tylko obecność drobnoustrojów w ranie oparzeniowej, ale także ich lokalizacja oraz wywoływanie odpowiedzi immunologicznej. W tym kontekście zasadne jest histopatologiczne badanie tkanki zmienionej chorobowo, ponieważ pozwala ono rozpoznać drobnoustroje bytujące w żywej, nieuszkodzonej tkance, która bezpośrednio sąsiaduje z martwicą. Określa się również elementy charakterystyczne dla stanu zapalnego wywołanego zakażeniem – nacieki limfocytarne, poszerzenie naczyń, miejscowe martwice zakrzepowe i drobne wynaczynienia. Z tego powodu badanie histopatologiczne wycinka tkanki jest „złotym standardem” [7, 64, 111, 123, 126, 144]. Materiał do badań mikrobiologicznych należy pozyskiwać w postaci zeszkobin po mechanicznej abrazji (łyżeczkowaniu) dna rany. Tkanki



Ryc. 2. Mikrośrodowisko oparzenia w fazie zapalnej

Rycina stworzona przy pomocy programu BioRender. Na podstawie [28, 55].

pobrane w ten sposób umożliwiają ocenę mikrobioty rany pod względem jakościowym i ilościowym [67, 155]. Punktem odcięcia różnicującym kontaminację od zakażenia jest liczba bakterii powyżej 10^5 komórek w 1 g tkanki [7, 54, 111, 144].

Biofilm obecnie jest definiowany jako złożona, wielokomórkowa społeczność drobnoustrojów otoczona warstwą wytwarzanych przez nie substancji organicznych i nieorganicznych, wykazujących adhezję do powierzchni biologicznych i abiotycznych [25]. Jako wielokomórkowy „organizm” drobnoustroje wysyłają sygnały dla regulowania ekspresji genowej i różnicowania komórek [125]. Biofilm stanowi istotny czynnik utrudniający proces leczenia, gojenia się rany oraz istotnie zwiększający odsetek powikłań i wzrost śmiertelności pacjentów [23, 58, 84, 159, 160].

Drobnoustroje, które wchodzi w skład biofilmu, różnią się fenotypowo od komórek żyjących w formie planktonicznej. Gęstość komórek w danej niszy ekologicznej oraz ich kontakt z powierzchnią substratu stanowią specyficzne warunki występujące w środowisku biofilmu i mogą brać bezpośredni udział w indukcji fenotypu unikalnego dla biofilmu [160]. Komórki wchodzące w skład biofilmu charakteryzują się z reguły opornością na działanie środków powierzchniowo czynnych, preparatów dezynfekcyjnych oraz antybiotyków [8, 36, 91, 100, 125, 128, 133, 160]. Wykazano, że komórki te mogą być 1000 razy bardziej odporne na antybiotyki niż komórki planktoniczne [33, 45]. Istnieje wiele hipotez tłumaczących obniżoną wrażliwość bakterii w biofilmie na leki przeciwdrobnoustrojowe [100, 122]. Uważa się, że EPS (egzopolisacharyd) stanowi

fizyko-chemiczną barierę, co wpływa na dyfuzję leku, jak w przypadku aminoglikozydów [8, 122, 147]. Antybiotyki te źle penetrują do wnętrza biofilmu, ponieważ dodatkowo naładowana zjonizowana cząsteczka ulega związaniu z polianionowym polimerem [151]. Zarówno metabolizm, jak i wzrost drobnoustrojów w biofilmie, są w znacznym stopniu spowolnione [83, 100, 122, 125]. Najprawdopodobniej związane jest to z ograniczoną dostępnością substancji odżywczych i tlenu [100]. Wiele leków przeciwdrobnoustrojowych, np. beta-laktamy, działa na komórki, które są aktywne metabolicznie, dlatego przejście w fazę stacjonarną może być związane ze znacznym zmniejszeniem podatności na te substancje [100]. Komórki *P. aeruginosa* w biofilmie wykazują wrażliwość na fluorochinolony, ponieważ ich działanie nie ogranicza się jedynie do drobnoustrojów aktywnych metabolicznie [100, 147]. Uważa się, że aż 40% składu białek ściany komórkowej bakterii w biofilmie jest zmienionych w porównaniu do formy planktonicznej. Dzięki temu zwiększa się prawdopodobieństwo efektywnego wyrzutu ksenobiotyku z komórki oraz wzrostu oporności receptorowej związanej z modyfikacją białek ściany komórkowej [122]. Oporność na substancje przeciwdrobnoustrojowe tłumaczy się także szybką redukcją czynników przeciwbakteryjnych na zewnętrznych warstwach biofilmu, zanim ulegną one dyfuzji. Tak się dzieje w przypadku reaktywnych utleniaczy takich jak: podchloryn czy nadtlenek wodoru [100]. Biofilm stanowi doskonałą niszę dla transferu genów oporności na antybiotyki [125]. W jednej z hipotez przypuszcza się, że drobnoustroje żyjące w biofilmie są specyficznym, wysoce chronionym fenotypem, który stanowi odrębną fizjologicznie postać życiową drobnoustrojów, podobnie jak, np. przetrwalniki i zarodniki.

Zmniejszona podatność bakterii w biofilmie na antybiotyki może być związana z obecnością subpopulacji komórek przetrwałych (persisters cells). Komórki te nie giną w wyniku działania związków o charakterze bakteriobójczym [39, 44, 50, 68, 90]. Natomiast są one wrażliwe na związki o działaniu bakteriostatycznym, jednak po ustąpieniu ich działania zaczynają się ponownie namnażać. Bakterie przetrwałe nie są mutantami, dlatego że w populacji odtworzonej przez ich namnażanie odsetek komórek zdolnych do przetrwania nie ulega zmianie i jest taki sam, jaki był w populacji pierwotnej. Pojawienie się w populacji bakteryjnej komórek przetrwałych jest losowe, jednak w określonych warunkach fenotyp ten jest indukowalny [39, 44, 90]. Komórki przetrwałe charakteryzują się zwiększoną ekspresją czynników chroniących przed stresem środowiskowym – system naprawy indukowalnej (save our souls, SOS), system toksyny-antytoksyny (toxin-antitoxin system, TA) a także pomp wyrzutu (efflux pump) [44, 68, 90, 115].

Wykazano, że system quorum-sensing ma istotną rolę w patogenezie zakażenia rany oparzeniowej oraz horyzontalnej transmisji pałeczek ropy błękitnej w obrębie oparzonej skóry [29, 148]. Transmisja wertykalna drobnoustrojów z rany oznacza rozsiew ich przez tkankę łączną i limfoidalną pod raną oparzeniową [53]. Czynniki sygnałowe wytwarzane przez drobnoustroje przenikają swobodnie przez usieciowaną strukturę EPS i penetrują w głąb tkanek, modyfikując różne szlaki metaboliczne bakterii w obrębie biofilmu oraz odpowiedź immunologiczną gospodarza [49, 136, 148].

W ranie oparzeniowej, zwłaszcza w pierwszych dniach od powstania urazu, notuje się wysokie stężenia czynników wzrostu, białek macierzy zewnątrzkomórkowej oraz fibryny [69], które są receptorami dla bakteryjnych adhezyn, przede wszystkim gronkowcowych. Szczepy *S. aureus* izolowane z ran oparzeniowych charakteryzują się bogatą ekspresją MSCRAMM (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules), zdolnością do wytwarzania hemolizyn (alfa, beta, gamma i delta), leukocydyny Panton-Valentine'a (PVL) i koagulaz (wolnej i związanej), toksyny – eksfoliatyny oraz toksyny wstrząsu toksycznego TSST-1 (toxic shock syndrome toxin) o właściwościach superantygeny, które umożliwiają im adhezję do komórek gospodarza, niszczenie struktur tkankowych i unikanie odpowiedzi układu odpornościowego [66, 80, 88]. Problemem staje się także coraz częściej stwierdzana oporność *S. aureus* na antybiotyki; przede wszystkim na metycylinę, krzyżowa oporność na makrolidy, lincozamidy i streptograminy oraz notowana niewrażliwość na antybiotyki ostatniego rzutu: oksazolidynony i glikopeptydy. Wszystko to powoduje, że zakażenia (z sepsą włącznie), których etiologią jest *S. aureus* są trudne w leczeniu [56, 66, 105].

W pierwszym etapie adhezji w środowisku rany gronkowiec wytwarzają liczne MSCRAMM, wśród których najważniejsze są: białka wiążące fibronektynę FnA i FnB, białko Eno wiążące lamininę, proteiny Cna wiążące kolagen oraz białka EbpS wykazujące powinowactwo do elastyny, białko Fib wiążące fibrynogen oraz proteina Bap związana z biofilmem [66]. Ich ekspresja jest nasiloną w pierwszym etapie wytwarzania biofilmu. Po wstępnym etapie przyłączenia się komórek *S. aureus* do powierzchni podłoża rozpoczyna się faza dojrzewania. Na tym etapie następuje agregacja komórek z udziałem białek adhezyjnych oraz polisacharydowych egzopolimerów, tj. polisacharydowej adhezyny międzykomórkowej (PIA), która wraz z innymi polimerami, takimi jak kwasy tejchojowe i białka, tworzy główną, pozakomórkową macierz biofilmu gronkowcowego, zwaną także śluzem [10, 160]. W międzykomórkowej agregacji ziarenkowców oraz rozwoju biofilmu biorą także udział białka wiążące fibronektynę FnBPA oraz FnBPB [86].

Zwiększone stężenie reaktywnych form tlenu w środowisku rany oparzeniowej i surowicy pacjenta oparzonego związany jest z działaniem oksydazy ksantynowej oraz miejscowym zniszczeniem tkanek. Produkcja wolnych rodników jest proporcjonalna do ciężkości urazu [135]. Stąd, drobnoustroje kolonizujące ranę oparzeniową wykształcają mechanizmy obronne przeciwko stresowi oksydacyjnemu.

Jak wskazują badania prowadzone na modelu mysim przez Shupeng Yin i wsp. [170], *S. aureus* wystawiony na działanie surowicy organizmu poddanemu oparzeniu wykazuje większą zdolność do wytwarzania biofilmu [170]. Surowica taka indukuje także zdolność *S. aureus* do adhezji do ludzkiego fibrynogenu i fibronektyny. W wyniku badań genetycznych szczepów inkubowanych z surowicą wykazano wysoką ekspresję genów *sodA*, *katA* i *sodM*, związanych z syntezą katalazy gronkowcowej, genu *ahpC* warunkującego syntezę hydroksyperoksydaz a także genów *icaA* oraz *sarA* związanych z wytwarzaniem biofilmu. Wykazano także spadek ekspresji genów odpowiadających za modulację gronkowcowego systemu agr (accessory gene regulator). Wyniki te sugerują silną odpowiedź *S. aureus* na stres oksydacyjny [170].

Kluczowe znaczenie w patomechanizmie zakażenia rany oparzeniowej ma synergizm *S. aureus* i *P. aeruginosa*. U pacjentów chorych na mukowiscydozę, fakt prekolonizacji dolnych dróg oddechowych przez *S. aureus* stanowi istotny czynnik ryzyka późniejszą kolonizacją *P. aeruginosa* i gorszego rokowania w terapii [1, 92, 112]. Istota synergizmu *S. aureus* i *P. aeruginosa* u pacjentów z mukowiscydozą jest dobrze poznana, jednak na chwilę obecna słabo scharakteryzowana w piśmiennictwie. Alves i wsp. [1] podjęli próbę opisanego synergistycznego oddziaływania gronkowca złocistego i pałeczki ropy błękitnej w środowisku rany przewlekłej. Wykazano, że *S. aureus* jako drobnoustrój pionierski wspomaga adhezję *P. aeruginosa* do keratynocytów i tworzenie biofilmu; jednak w przypadku wzrostu gronkowca w dojrzałym biofilmie *P. aeruginosa*, obserwowane jest działanie inhibicyjne gronkowca na wzrost pałeczek [1, 118]. Koegzystencja *P. aeruginosa* ze *S. aureus* w łożysku rany prowadzi do zwiększenia ekspresji gronkowcowych genów *hla* i *pvl*, kodujących α -hemolizynę i leukocydyę Panton-Valentine'a oraz zwiększenie wytwarzania stafilokszantyny [1]. W łożysku rany oba gatunki bakterii nie konkurują o adhezję do białek osocza. Wydzielanie cytokin prozapalnych przez keratynocyty w środowisku synergistycznie działających obu gatunków bakterii jest upośledzone w porównaniu do oddziaływania *P. aeruginosa* w monokulturze na keratynocyty. W rezultacie działanie takie sprzyja utrudnionemu gojeniu się rany i zwiększa prawdopodobieństwo wystąpienia przewlekłego zakażenia [1]. Inne badania wykazują, że biofilm utworzony przez *S. aureus* i *P. aeruginosa* prowadzi do

upośledzenia gojenia rany w takim samym stopniu, jak biofilm jednogatunkowy [117].

P. aeruginosa należy do patogenów inwazyjnych, mających czynniki wirulencji związane z komórką bakteryjną oraz wytwarzających białka o działaniu toksycznym i litycznym – (tab. II). Pierwszy etap zakażenia to adhezja, w której znaczącą rolę odgrywają adhezyny umiejscowione na powierzchni komórki drobnoustroju kolonizującego, oddziałujące swoiście z ligandami na powierzchni komórek lub macierzy pozakomórkowej gospodarza [25, 32, 100, 122]. Etapy adhezji można podzielić na adhezję odwracalną i nieodwracalną. W przypadku adhezji odwracalnej (nieswoistej) komórki bakterii są związane z powierzchnią przede wszystkim za pośrednictwem oddziaływań fizycznych, tj.: sił Van der Waalsa, oddziaływania grawitacyjnego, ruchów Browna, a także elektrostatycznych napięć powierzchniowych [8, 100, 125, 160]. Natomiast w adhezji nieodwracalnej (swoistej), kiedy komórki bakteryjne trudniej usunąć z powierzchni, wytwarzają one zewnątrzkomórkowe EPS i białka tworzące macierz silnie związaną z substratem [25]. Zasadnicze znaczenie w fazie adhezji nieodwracalnej mają oddziaływania nieswoiste: wiązania hydrofobowe, wodorowe i jonowe oraz oddziaływania swoiste: adhezyny, które łączą się z ligandem ekspozowanym na powierzchni komórek eukariotycznych [8, 125, 160]. Pałeczki *P. aeruginosa* mogą wiązać się z cząsteczkami mucyny, lamininy, kolagenu typu I i II oraz cząsteczkami proteoglikanów substancji pozakomórkowej tkanek gospodarza. Możliwe jest także utworzenie połączenia między komórką bakteryjną a docelowym ligandem poprzez wykorzystanie białek osocza gospodarza [160]. Kolejnym etapem następującym po adhezji jest kolonizacja, namnażanie się komórek bakteryjnych, tworzenie mikrokolonii, rozpraszanie się po powierzchni i powstawanie biofilmu. Proces ten następuje po osiągnięciu przez bakterie nieodwracalnego kontaktu z powierzchnią. Na tym etapie duże znaczenie odgrywają fimbrie typu IV (TFP) [9, 15, 160].

W przetrwaniu drobnoustrojów w środowisku rany oparzeniowej istotne jest oddziaływanie patogenów z płynem wysiękowym rany. Gonzalez i wsp. [48] badali wpływ płynu wysiękowego pobranego z oparzeń na wzrost i ekspresję czynników wirulencji szczepu *P. aeruginosa* PAO1. Inkubacja badanego szczepu w płynie wysiękowym prowadziła do pobudzenia sekrecji piocyjaniny, piowerdyny oraz elastazy, co zostało dodatkowo potwierdzone poprzez monitorowanie stopnia ekspresji genów przy użyciu metody qPCR. W odniesieniu do kontrolnej hodowli w LB (Luria Broth), szczep PAO1 inkubowany w płynie wysiękowym charakteryzował się zwiększoną ekspresją genów: *phzA1*, *phzS* oraz *phzM*, związanych z biosyntezą piocyjaniny oraz *pvdS* i *pvdL*, warunkujących syntezę piowerdyny. Wykazano także zwiększenie ekspresji genu *rhlA*, warunkującego syn-

Tabela II
Najważniejsze czynniki wirulencji *Pseudomonas aeruginosa*

Struktury i składniki komórkowe	Fimbrie typu IV (TFP – type four pili)	<ul style="list-style-type: none"> • Powodują ruch komórek zwany drgającym (twitching), ułatwiając adhezję do komórek gospodarza lub powierzchni abiotycznych: • Biorą udział w tworzeniu mikrokolonii biofilmu: • Ułatwiają przyleganie do galaktozowych, mannozowych i sialowych receptorów na komórkach nabłonkowych układu oddechowego
	Adhezyny niefimbrialne	Biorą udział we wstępnej kolonizacji błony śluzowej
	Rzęski	Odpowiedzialne za ruch, mogą brać udział w adhezji do komórek nabłonkowych
	Otoczka alginianowa	<ul style="list-style-type: none"> • Wykazuje szczególne powinowactwo do komórek nabłonkowych płuc • Ułatwia unikanie odpowiedzi immunologicznej
	LPS	<ul style="list-style-type: none"> • Endotoksyna, oddziałuje z wieloma receptorami (m.in. TLR4/MD2) zakażonego organizmu, aktywując system odpornościowy • Powoduje stan zapalny, wstrząs septyczny
Hemolizyny	Fosfolipaza C	<ul style="list-style-type: none"> • Ciepłochwiejna hemolizyna • Uszkadza fosfolipidy (glicerofosforany) występujące w błonie komórkowej pneumocytów • Rozkłada lecytynę
Biosurfaktanty	Ramnolipid	<ul style="list-style-type: none"> • Nieenzymatyczny glikolipid rozpuszczający fosfolipidy, co ułatwia hydrolizę • Bierze udział w hamowaniu aktywności leukocytów penetrujących utworzony biofilm
Enzymy proteolityczne	Elastaza LasA i LasB Alkaliczna proteaza Kolagenaza Żelatynaza Fibrylizyna	Hydrolizują składniki macierzy zewnątrzkomórkowej (m.in. elastynę, kolagen)
Toksyny	Egzotoksyna A (exoT)	Warunkuje hamowanie biosyntezy białka w zakażonej komórce i w konsekwencji prowadzi do jej lizy
	Egzozym S (exoS)	<ul style="list-style-type: none"> • Substancja białkowa wydzielana zewnątrzkomórkowo, pełniąca podobną funkcję jak egzotoksyna A: • Wykazuje zdolność łączenia się do glikolipidów
	Enterotoksyna	Odpowiada za zatrucia pokarmowe
	Leukocydyna	Uwalniana po lizie komórki, działa cytotoksycznie na ludzkie leukocyty
Piocyanina		Wykazuje działanie prozapalne i cytotoksyczne; katalizuje przechodzenie tlenu w reaktywne jony nadtlenkowe
Siderofory		Pobierają żelazo z hemoporfirynowych związków kompleksowych

Na podstawie [5, 17, 77 – 79, 81, 113, 138, 163, 164, 169].

też ramnolipidu. W poszukiwaniu przyczyn wspomnianej zmienności fenotypowej badano pobrany płyn wysiękowy [48]. Badanie wykazało obniżone stężenie białka i jonów żelaza w porównaniu do wartości referencyjnych osocza, stężenie elektrolitów w granicach normy oraz podwyższone stężenia mleczanów oraz pirogronianu. W celu pozyskania żelaza, które jest niezbędne w procesach metabolicznych i podziału komórek bakteryjnych [19], *P. aeruginosa* wytwarza barwniki o właściwościach sideroforów oraz elastazę, które przyczyniają się do zniszczenia komórek w sąsiedztwie bakterii i uwolnienia do środowiska pożądanych jonów. Jak wynika z badań na nicieniach *Caenorhabditis elegans*, zaburzenie homeostazy w gospodarce żelaza poprzez działanie enzymów i sideroforów *P. aeruginosa* może prowadzić do gwałtownej hipoksji u gospodarza [82]. Podwyższone stężenie mleczanów i pirogronianu generuje nie tylko stres osmotyczny, ale może świad-

czyć także o rozwijającej się hipoksji, która stanowi stresor dla drobnoustrojów [48, 50].

Szczepy *P. aeruginosa*, szczególnie szpitalne, charakteryzuje wieloraka oporność na antybiotyki i środki dezynfekcyjne [36, 155, 157, 166]. Pałeczki te wykazują naturalną oporność na wiele antybiotyków, niektóre beta-laktamy (penicyliny, cefalosporyny I i II generacji), makrolidy tetracykliny, trimetoprim-sulfametoksazol [36, 60, 155]. Przyczyną tego jest zwiększona ekspresja genów kodujących pompy wyrzutu typu MDR (multi-drug resistance), modyfikacje miejsc wiązania antybiotyków oraz blokada systemów kanałów, przez które cząsteczki antybiotyków dostają się do wnętrza komórki [65].

W tabeli III przedstawiono czynniki wirulencji wybranych drobnoustrojów izolowanych z ran oparzeniowych, innych niż najczęściej izolowane, tj. *S. aureus* i *P. aeruginosa*.

Tabela III

Najważniejsze czynniki wirulencji wybranych patogenów innych niż *Pseudomonas aeruginosa* izolowanych z ran oparzeniowych

Drobnoustroj	Charakterystyka	Najważniejsze czynniki wirulencji	Piśmiennictwo
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Patogen oportunistyczny. Może występować na skórze. Wywołuje zapalenie płuc, zakażenia krwi, zakażenia dróg moczowych, zakażenia ran pooperacyjnych, przewlekłych i oparzeń. Szczepy <i>A. baumannii</i> cechują się wieloantybiotykoopornością lub opornością na wszystkie antybiotyki dostępne w medycynie.	Otoczka <ul style="list-style-type: none"> • LPS • Pili typu IV • Adhezyny fimbrialne • Białka błony zewnętrznej • Glukozamina poli-β-(1-6)-<i>N</i>-acetylowa • Systemy pozyskiwania mikroelementów (siderofory, transportery) • Systemy wydzielania białek • Pęcherzyki błonowe • Enzymy zewnątrzkomórkowe (fosfolipazy, lecytynazy, lipazy, proteazy) • Niska wrażliwość na wysychanie i stres oksydacyjny 	[57, 89]
<i>Escherichia coli</i>	Składnik mikrobioty przewodu pokarmowego, patogen oportunistyczny. Najczęstsza etiologia zakażeń dróg moczowych, biegunek bakteryjnych, sepsy. Drugi najczęściej izolowany patogen u noworodków z zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych	Mikrootoczka <ul style="list-style-type: none"> • LPS • Adhezyny fimbrialne i niefimbrialne • Białka błony zewnętrznej • Hemolizyny • Egzotoksyny • Enterotoksyny • Toksyna typu <i>Shiga</i> 	[21, 27, 85, 158]
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Składnik mikrobioty przewodu pokarmowego oraz skóry. Patogen oportunistyczny; wywołujący najczęściej zapalenie płuc, zakażenia dróg moczowych, zakażenia ran przewlekłych i oparzeń. Wieloantybiotykooporne szczepy są jednym z głównych patogenów wywołujących zakażenia szpitalne.	Otoczka <ul style="list-style-type: none"> • LPS • Adhezyny fimbrialne • Białka błony zewnętrznej 	[27, 35, 121, 154]
<i>Proteus spp.</i>	Wywołuje zakażenia dróg moczowych oraz ran przewlekłych i oparzeń.	LPS <ul style="list-style-type: none"> • Adhezyny fimbrialne i niefimbrialne • Hemolizyna, proteazy, ureaza • Zdolność do ruchu 	[27, 36, 98]
<i>Candida spp.</i>	Patogen oportunistyczny, składnik mikrobioty przewodu pokarmowego. Ryzyko kandydozy wzrasta w przypadku immunosupresji (AIDS, przyjmowanie steroidów), rozległych urazów, chorób metabolicznych (przede wszystkim cukrzycy) i zaburzeń w składzie mikrobioty organizmu gospodarza	Adhezja do nabłonka, białek macierzy zewnątrzkomórkowej i innych drobnoustrojów <ul style="list-style-type: none"> • Proteazy • Pleomorfizm 	[18, 94, 108]

6. Przyczyny nieskuteczności antybiotykoterapii zakażenia rany oparzeniowej

W leczeniu zakażonej rany oparzeniowej istotne jest, by podawany antybiotyk osiągnął stężenie terapeutyczne w tkance/narządzie, wykazywał skuteczność przeciwko drobnoustrojom wywołującym zakażenie oraz działał odpowiednio długo, by leczenie było skuteczne [153]. Aktywność antybiotyków w organizmie jest określona poprzez parametry farmakokinetyczno-farmakodynamiczne [PK/PD].

Patomechanizm rany oparzeniowej oraz metaboliczne konsekwencje leczenia wpływają w wielu aspektach na wskaźniki PK/PD podawanych antybiotyków, co przekłada się na zmniejszenie skuteczności leczenia

przeciwdrobnoustrojowego i większe prawdopodobieństwo powikłań. Choroba oparzeniowa w przebiegu rozległych urazów dotyka praktycznie wszystkich układów w organizmie ludzkim [3, 59, 69, 162]. Najważniejsze w aspekcie PK/PD są zmiany hemodynamiczne oraz metaboliczne – wypływ treści surowiczej z rany, rozszczelnienie śródbłonka, masywne obrzęki związane z wydostawaniem się zwiększonej objętości wody do przestrzeni śródmiąższowej, hipoalbuminemia, zwiększenie rzutu serca oraz klirensu nerkowego [3, 59, 62, 69, 141, 162]. W pierwszych etapach odpowiedzi zapalnej wszystkie wspomniane wyżej zmiany metaboliczne prowadzić mogą do zwiększonego wydalania niektórych grup antybiotyków z organizmu, zwłaszcza przez nerki. W kolejnych etapach postępujący stan zapalny i roz-

wijający się MODS prowadzi do upośledzenia funkcji narządów, co oznacza zmniejszenie klirensu nerkowego niektórych antybiotyków, wydłużenie czasu działania i gromadzenia w organizmie [120, 141, 162].

Jednym z kluczowych parametrów farmakokinetycznych oceny skuteczności działania antybiotyków jest ich objętość dystrybucji (Vd). Jest to hipotetyczna objętość płynów ustrojowych, w której lek po równomiernej dystrybucji osiągnie takie samo stężenie jak we krwi [153, 162]. Antybiotyki lipofilne, takie jak: makrolidy, linkozamidy, tetracykliny, fluorochinolony, charakteryzują się dużą objętością dystrybucji, co oznacza dobrą penetrację w obrębie tkanek [110]. Antybiotyki hydrofilne, do których zalicza się beta-laktamy, aminoglikozydy oraz związki peptydowe działają z kolei lepiej w łożysku naczyniowym i słabiej penetrują do przestrzeni śródmiąższowej, co związane jest z mniejszą objętością dystrybucji [116, 140, 162]. Masywny stan zapalny w obrębie oparzenia, prowadzący do rozległego wynaczynienia płynów do przestrzeni śródmiąższowej oraz procedury postępowania z chorym, warunkujące podaż dużej ilości płynów dożylnie, generują znaczne zmiany w farmakokinetyce antybiotyków hydrofilnych, zwiększając ich objętość dystrybucji, co przy niezmodyfikowanej dawce prowadzi do spadku ich stężenia we krwi. Przedkłada się to na większe prawdopodobieństwo zaistnienia sytuacji, w której we krwi osiągnane będzie stężenie antybiotyku poniżej wartości minimalnego stężenia hamującego (minimum inhibitory concentration, MIC), co zmniejsza szanse powodzenia terapeutycznego i może prowadzić do narastania antybiotykooporności drobnoustrojów. Sytuacja taka może zajść podczas podawania niektórych antybiotyków beta-laktamowych, do których należą karbapenemy uważane za antybiotyki ostatniego rzutu. Opisywane są wartości Vd piperacyliny, ceftazydymu, meropenemu, imipenemu u pacjentów z ranami oparzeniowymi, w porównaniu do osób zdrowych [141]. Wzrost objętości dystrybucji skorelowany ze spadkiem stężenia maksymalnego w osoczu określono w przypadku daptomycyny i amikacyny [101, 162].

Większość leków w układzie krwionośnym wiąże się z białkami osocza. Do najważniejszych białek wiążących leki zalicza się alfa-1-kwaśną glikoproteinę, alfa, beta i gamma-globuliny, albuminy i lipoproteiny [142], przy czym w kontekście antybiotykoterapii szczególnie istotne są albuminy, wiążące leki o odczynie kwaśnym, np. ceftriakson, teikoplanina czy daptomycyna [101, 162] oraz alfa-1-kwaśna glikoproteina, która wiąże leki o odczynie zasadowym [141, 142, 162]. W przebiegu choroby oparzeniowej notuje się hipoalbuminemię, która wynika z sumarycznej utraty białek osoczowych poprzez intensywny wyciek z rany, zwiększony katabolizm oraz zmniejszenie ich syntezy w wątrobie [38, 99, 141, 162]. Hipoalbuminemia jest charakterystyczna

w ostrej fazie zapalenia i nasiloną jest u chorych rozległe oparzonych [99, 162]. W związku ze spadkiem stężenia albumin, antybiotyki które mają do nich powinowactwo, przechodzą z fazy związanej do wolnej, co oznacza zwiększenie stężenia wolnej postaci leku. Dodatkowo, wzrost stężenia bilirubiny będzie skutkować dodatkowym wypieraniem przez bilirubinę antybiotyków związanych z albuminami. Takie działanie prowadzi do wzrostu objętości dystrybucji dla tych leków [99, 141]. Dla antybiotyków wydalanych przez nerki warunkuje to szybszą ich eliminację z krwi, szczególnie w pierwszej fazie zapalenia, co związane jest ze zwiększonym klirensiem nerkowym [141]. Zwiększające się stężenie alfa-1-kwaśnej glikoproteiny w osoczu wiąże więcej cząsteczek antybiotyków wykazujących do niej powinowactwo, co przełoży się na spadek wartości wolnej frakcji leku [141, 162].

Eliminacja antybiotyków w organizmie może zachodzić dwójako – drogą nerkową i pozanerkową. Czynność nerek w przebiegu oparzeń jest zmienna, stwierdza się jednak zwiększony klirens nerkowy (augmented renal clearance, ARC) oraz ostre uszkodzenie nerek (acute kidney injury, AKI) w przebiegu MODS. ARC jest zjawiskiem stosunkowo niedawno opisanym i dotyczy pacjentów krytycznie chorych w przebiegu, m.in., mukowiscydozy, sepsy, urazów mózgu, gorączki neutropenicznej, urazów wielonarządowych, czy krwawienia podpajęczynówkowego. Zmierzony klirens kreatyniny jest znacząco większy niż fizjologiczny, obliczony wzorem Cockcrofta-Gaulta, może osiągać wartości 325 ml/min/1,73 m² i dotyczy 30–100% populacji pacjentów w stanie krytycznym [22, 141, 162]. ARC znacząco wpływa na farmakokinetykę antybiotyków hydrofilnych – ich zwiększone wydalanie może prowadzić do osiągnięcia subinhibicyjnych stężeń w osoczu, co prowadzi do generowania antybiotykooporności i niepowodzenia terapeutycznego [14, 162]. Z kolei AKI, w związku z degradacją aparatu filtracyjnego nerki, prowadzi do obniżenia klirensu nerkowego. Ogranicza to możliwość usuwania antybiotyków tą drogą, co prowadzi do ich gromadzenia w organizmie [106]. Z tego powodu AKI jest bezwzględnym wskazaniem do ciągłej terapii nerkozastępczej (continuous renal replacement therapy, CCRT) [162].

Pozanerkowe usuwanie antybiotyków obejmuje natomiast metabolizm wątrobowy i usuwanie z żółcią, dezaktywację przez enzymy w organizmie, a także ciągłe wypływanie leku wraz z sączącą się z rany treścią [162].

Wspomniane wcześniej efekty metaboliczne i hemodynamiczne u pacjentów oparzonych drastycznie zwiększają szansę na utrzymywanie się subinhibicyjnego stężenia podawanych antybiotyków we krwi, które wywierają na obecny w ranach mikrobiom presję selekcyjną. Oznacza to wyselekcjonowanie mutantów wykazujących ekspresję genów oporności na antybiotyki

a także charakteryzujących się zwiększoną ekspresją genów kodujących wybrane czynniki wirulencji czy szlaki metaboliczne [28]. Ponadto zróżnicowanie fenotypowe drobnoustrojów pod względem antybiotykooporności związane jest także z odpowiedzią drobnoustrojów na stres środowiskowy inny niż presja selekcyjna – hipoksja, zmiany pH oraz niedobór składników pokarmowych [50].

7. Podsumowanie

Oparzenie to uszkodzenie skóry i innych tkanek spowodowane przez działanie wysokiej temperatury, prądu elektrycznego, promieniowania jonizującego i chemikaliów. Najczęściej spotyka się oparzenia termiczne. Leczenie zależy od stopnia oparzenia oraz jego powierzchni. W związku ze zniszczeniem ciągłości skóry, rana oparzeniowa powoduje nieustanny wypływ treści surowiczej, co prowadzi do odwodnienia i wstrząsu hipowolemicznego. Wszystko to sprzyja intensywnej kolonizacji rany oparzeniowej przez drobnoustroje. Najczęściej izolowane są: *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. pyogenes*, *E. coli*. Bakterie z rany dostają się do krwi pacjenta; w konsekwencji, prócz wstrząsu oparzeniowego, wykształca się także wstrząs septyczny. Czynniki to oparzenia trudnymi w leczeniu, obciążonymi dużym odsetkiem powikłań i śmiertelnością. Mikrobiom rany oparzeniowej jest dynamiczny i zróżnicowany. Drobnoustroje w ranie oparzeniowej aktywnie migrują a ich lokalizacja zmienia się w czasie. Konsekwencją migracji drobnoustrojów są zmiany w procencie powierzchni rany skolonizowanej przez określone gatunki bakterii. Początkowo w ranie oparzeniowej obecne są bakterie gram-dodatnie. Wraz z postępem czasu i leczenia, mikrobiom ulega zmianie – rana kolonizowana jest wtórnie przez bakterie gram-ujemne. W ranie oparzeniowej, z postępem czasu i leczenia, może dochodzić u kolonizujących ją drobnoustrojów do indukcji oporności na antybiotyki i chemioterapeutyki.

Piśmiennictwo

- Alves P.M., Al-Badi E., Withycombe C., Jones P.M., Purdy K.J., Maddocks S.E.: Interaction between *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* is beneficial for colonisation and pathogenicity in a mixed biofilm. *Pathog. Dis.* DOI: 10.1093/femspd/fty003 (2018)
- Armour A.D., Swanson T. i wsp.: The impact of nosocomially-acquired resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection in a burn unit. *J. Trauma*. **63**, 164–171 (2007)
- Arnold J., Little R.A.: Stres i odpowiedź metaboliczna na uraz u chorych w stanie krytycznym. *Prz. Now. Anest.* **3**, 161–170 (1993)
- Aulick L.H., Wilmore D.W., Mason A.D., Pruitt B.A.: Influence of the burn wound on peripheral circulation in thermally injured patients. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* **233**, 520–526 (1977)
- Baj J., Markiewicz Z. i wsp.: *Biologia molekularna bakterii*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2006, s. 114–115; 120–121; 126–130; 519; 555–556; 592–597
- Bannister B.A., Begg N.T., Gillespie S.H.: *Choroby zakaźne*. Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, Wrocław 1998, s. 161–194
- Bartoszewicz M.: Biofilm jako patomechanizm zakażeń odcewnikowych – metody prewencji. Sympozjum „Biofilm tworzony przez drobnoustroje w patogenezie zakażeń”, Polanica (2007)
- Bartoszewicz M., Junka A., Smutnicka D., Przondo-Mordarska A.: Mikrobiologiczny aspekt skali oceny rany zagrożonej ryzykiem infekcji WAR. *Forum Zakażeń*, **2**, 85–88 (2011)
- Bartoszewicz M., Paweł M. i wsp.: Zasady postępowania miejscowego i ogólnego w ranach/owrzodzeniach przewlekłych objętych procesem infekcji. *Forum Zakażeń*. **10**, 1–30 (2019)
- Beatson S.A., Whitchurch C.B., Sargent J.L., Levesque R.C., Mattick J.S.: Differential Regulation of Twitching Motility and Elastase Production by Vfr In *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* **184**, 305–361 (2002)
- Becker W.K., Cioffi W.G., Jr., McManus A.T., Kim S.H., McManus W.F., Mason A.D., Pruitt B.A., Jr.: Fungal burn wound infection. A 10-year experience. *Arch. Surg.* **126**, 44–48 (1991)
- Belum G.R., Belum V.R., Arudra S.K.C., Reddy B.S.N.: The Jarisch-Herxheimer reaction: Revisited. *Trav. Med. Infect. Dis.* **11**, 231–237 (2013)
- Bengtson A., Heideman M.: Anaphylatoxin formation in plasma and burn bullae fluid in the thermally injured patient. *Burns*, **13**, 185–189 (1987)
- Bergen P.J., Bulitta J.B., Kirkpatrick C.M.J., Rogers K.E., McGregor M.J., Wallis S.C., Paterson D.L., Lipman J., Roberts J.A., Landersdorfer C.B.: Effect of different renal function on antibacterial effects of piperacillin against *Pseudomonas aeruginosa* evaluated via the hollow-fibre infection model and mechanism-based modelling. *J. Antimicrob. Chemother.* **71**, 2509–2520 (2016)
- Branda S.S., Vik A., Friedman L., Kolter R.: Biofilms: the matrix revisited. *Trends Microbiol.* **13**, 20–25 (2005)
- Byrd A., Belkaid Y., Segre J.: The human skin microbiome. *Nat. Rev. Microbiol.* **16**, 143–155 (2018)
- Caiazza N.C., Merritt J.H., Brothers K.M., O’Toole G.A.: Inverse Regulation of Biofilm Formation and Swarming Motility by *Pseudomonas aeruginosa* PA14. *J. Bacteriol.* **189**, 3603–3612 (2007)
- Cavalheiro M., Teixeira M.C.: *Candida* biofilms: Threats, Challenges, and Promising Strategies. *Front. Med. (Lausanne)* **5**, 28 (2018)
- Caza M., Kronstad J.W.: Shared and distinct mechanisms of iron acquisition by bacterial and fungal pathogens of humans. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* DOI: 10.3389/fcimb.2013.00080 (2013)
- Chen M., Przyborowski M., Berthiaume F.: Stem Cells for Skin Tissue Engineering and Wound Healing. *Crit. Rev. Biomed. Eng.* **37**, 399–421 (2010)
- Cisowska A.: Polisacharydowa otoczka K1 pałeczek *Escherichia coli* i jej znaczenie w chorobotwórczości tych drobnoustrojów. *Postep. Mikrobiol.* **42**, 3–23 (2003)
- Cook A.M., Hatton-Kolpek J.: Augmented Renal Clearance. *Pharmacotherapy*, **39**, 346–354 (2019)
- Costerton J.W., Lewandowski Z., Caldwell D.E., Korber D.R., Lappin-Scott H.M.: Microbial Biofilms. *Annu. Rev. Microbiol.* **49**, 711–745 (1995)
- Cuttle L., Kempf M., Kravchuk O., Phillips G.E., Mill J., Wang X.Q., Kimble R.M.: The optimal temperature of first aid treatment for partial thickness burn injuries. *Wound Repair Regen.* **16**, 626–634 (2008)
- Czaczyk K.: Czynniki warunkujące adhezję drobnoustrojów do powierzchni abiotycznych. *Postep. Mikrobiol.* **43**, 267–283 (2004)

26. D'Arpa P, Leung K.P.: Toll-Like Receptor Signaling in Burn Wound Healing and Scarring. *Adv. Skin Wound Care*. **6**, 330–343 (2017)
27. Dauda M.M.: Enterobacteria in drinking water: a public health hazard. *R.I.F.* **1**, 224–230 (2010)
28. Davies J, Spiegelman G.B., Yim G.: The world of subinhibitory antibiotic concentrations. *Curr. Opin. Microbiol.* **9**, 445–453 (2006)
29. Delden C.V., Iglewski B.H.: Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Emerg. Infect. Dis.* **4**, 551–560 (1998)
30. Demidova, Rice T.N., Hamblin M.R., Herman I.M.: Acute and Impaired Wound Healing. *Adv. Skin Wound Care*. **25**, 304–314 (2012)
31. Demling R.H.: Fluid Replacement in Burned Patients. *Surg. Clin. North Am.* **67**, 15–30 (1987)
32. Donlan R.M.: Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *E.I.D.* **8**, 881–888 (2002)
33. Drenkard E.: Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Microbes. Infect.* **5**, 1213–1219 (2003)
34. Drozd Ł., Madry R., Strużna J.: Burn shock, diagnostics, monitoring and fluid therapy of severe burns-new look. *Wiad. Lek.* **64**, 288–293 (2011)
35. Dunne W.M.: Bacterial adhesion: Seen Any Good Biofilms Lately? *Clin. Microbiol. Rev.* **15**, 155–166 (2002)
36. Dzierżanowska D.: Zakażenia szpitalne. α-Medica press, Bielsko-Biała, 2008, s. 48–51.
37. Evers L.H., Bhavsar D., Mailänder P.: The biology of burn injury. *Exp. Dermatol.* **19**, 777–783 (2010)
38. Finfer S., Bellomo R., McEvoy S., Lo S.K., Myburgh J., Neal B., Norton R.: Effect of baseline serum albumin concentration on outcome of resuscitation with albumin or saline in patients in intensive care units: analysis of data from the saline versus albumin fluid evaluation (SAFE) study. *BMJ*, **333**, 1044 (2006)
39. Fisher R.A., Gollan B., Helaine S.: Persistent bacterial infections and persister cells. *Nat. Rev. Microbiol.* **15**, 453–464 (2017)
40. Forage A.V.: The diagnosis of the depth of thermal burns in children. *Ann. R. Coll. Surg. Engl.* **35**, 341–361 (1964)
41. Frame J.D., Kangesu L., Malik W.M.: Changing Flora in Burn and Trauma Units: Experience in the United Kingdom. *JBCR*. **13**, 281–286 (1992)
42. Gallinaro R., Cheadle W.G., Applegate K., Polk H.C.: The role of the complement system in trauma and infection. *Surg. Gynaecol. Obstet.* **174**, 435–440 (1992)
43. Gamelli R.L., He L.K., Liu H.: Marrow granulocyte-macrophage progenitor cell response to burn injury as modified by endotoxin and indomethacin. *J. Trauma. Acute. Care. Surg.* **37**, 339–346 (1994)
44. Gefen O., Balaban N.Q.: The importance of being persistent: heterogeneity of bacterial populations under antibiotic stress. *FEMS Microbiol. Rev.* **33**, 704–717 (2009)
45. Gillis R.J., White K.G., Choi K.H., Wagner V.E., Schweizer H.P., Iglewski B.H.: Molecular Basis of Azithromycin-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *Antimicrob. Agents Ch.* **49**, 3858–3867 (2005)
46. Gilmore T.D.: Introduction to NF-κB: players, pathways, perspectives. *Oncogene*, **25**, 6680–6684 (2006)
47. Göebel A., Kavanagh E., Lyons A., Saporoschetz I.B., Soberg C., Lederer J.A., Mannick J.A., Rodrick M.L.: Injury Induces Deficient Interleukin-12 Production, But Interleukin-12 Therapy After Injury Restores Resistance to Infection. *Ann. Surg.* **231**, 253–261 (2000)
48. Gonzalez M.R., Fleuchot B., Lauciello L., Jafari P., Applegate L.A., Raffoul W., Que Y.A., Perron K.: Effect of Human Burn Wound Exudate on *Pseudomonas aeruginosa* Virulence. *mSphere*, **1**, 2 (2016)
49. Gospodarek E., Zalas P.: Ingerencja człowieka w komunikowanie się drobnoustrojów. *Postep. Mikrobiol.* **47**, 365–370 (2008)
50. Grant S.S., Hung D.T.: Persistent bacterial infections, antibiotic tolerance, and the oxidative stress response. *Virulence*, **4**, 273–283 (2013)
51. Grazul-Bilska A.T., Johnson M.L., Bilski J.J., Redmer D.A., Reynolds L.P., Abdullah A., Abdullah K.M.: Wound healing: The role of growth factors. *Drugs Today*, **39**, 787 (2003)
52. Griswold J.A.: White blood cell response to burn injury. *Semin. Nephrol.* **13**, 409–415 (1993)
53. Grzybowski J.: Zakażenie rany oparzeniowej – kolonizacja, inwazja, patogenez. *Biologia rany oparzeniowej*, α-Medica press, Bielsko-Biała 2001, s. 98–101
54. Haesler E., Ousey K.: Evolution of the wound infection continuum. *Wounds International*, **9**, 6–10 (2018)
55. Hammond A.A., Miller K.G., Kruczek C.J., Dertien J., Colmer-Hamood J.A., Griswold J.A., Horswill A.R., Hamood A.N.: An in vitro biofilm model to examine the effect of antibiotic ointments on biofilms produced by burn wound bacterial isolates. *Burns*, **37**, 312–321 (2011)
56. Haraga I., Nomura S., Fukamachi S., Ohjimi H., Hanaki H., Hiramatsu K., Nagayama A.: Emergence of vancomycin resistance during therapy against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a burn patient-importance of low-level resistance to vancomycin. *Int. J. Infect. Dis.* **6**, 302–308 (2002)
57. Harding C.M., Hennon S.W., Feldman M.F.: Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nat. Rev. Microbiol.* **16**, 91–102 (2018)
58. Harrison-Balestra C., Cazzaniga A.L., Davis S.C., Mertz P.M.: A Wound Isolated *Pseudomonas aeruginosa* Grows a Biofilm In Vitro Within 10 Hours and Is Visualized by Light Microscopy. *Dermatol. Surg.* **29**, 631–635 (2003)
59. Hasiak J.: Stres okołoperacyjny – operacja. Część II – Geneza. *Prz. Urol.* **73**, 9–15 (2012)
60. Hsueh P.R., Teng L.J., Yang P.C., Chen Y.C., Ho S.W., Luh K.T.: Persistence of a Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Clone in an Intensive Care Burn Unit. *J. Clin. Microbiol.* **36**, 1347–1351 (1998)
61. Hugli T.E.: Complement and cellular triggering reactions. Introductory remarks. *Federation proceedings*, **43**, 2540–2542 (1984)
62. Investigators S.S., Finfer S., Bellomo R., McEvoy S., Lo S.K., Myburgh J., Neal B., Norton R.: Effect of baseline serum albumin concentration on outcome of resuscitation with albumin or saline in patients in intensive care units: analysis of data from the saline versus albumin fluid evaluation (SAFE) study. *BMJ*. **333**, 1044 (2006)
63. Jackson D.M.: The diagnosis of the depth of burning. *Br. J. Surg.* **40**, 588–596 (1953)
64. James G.A., Swogger E., Wolcott R., Pulcini E.d., Secor P., Sestrich J., Costerton J.W., Stewart P.S.: Biofilms in chronic wounds. *Wound Repair Regen.* **16**, 37–44 (2008)
65. Jarmuła A., Obląk E., Wawrzycka D., Gutowicz J.: Oporność wielolekowa związana z aktywnym usuwaniem leków z komórek drobnoustrojów. *Postep. Hig. Med. Dosw.* **65**, 216–227 (2011)
66. Jarraud S., Mougel C., Thioulouse J., Lina G., Meugnier H., Forey F., Nesme X., Etienne J., Vandenesch F.: Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. *Infect. Immun.* **70**, 631–41 (2002)
67. Jawień A., Bartoszewicz M., Przondo-Mordarska A. i wsp.: Wytyczne postępowania miejscowego i ogólnego w ranach objętych procesem infekcji. *Leczenie Ran*, **9**, 59–75 (2012)
68. Jayaraman R.: Bacterial persistence: some new insights into an old phenomenon. *J. Biosci.* **33**, 795–805 (2008)

69. Jeschke M.G., Baar M.E.v., Choudhry M.A., Chung K.K., Gibran N.S., Logsetty S.: Burn injury. *Nat. Rev. Dis. Primers*. **6**, 11 (2020)
70. Jeschke M.G., Gauglitz G.G., Kulp G.A., Finnerty C.C., Williams F.N., Kraft R., Suman O.E., Mlcak R.P., Herndon D.N.: Long-Term Persistence of the Pathophysiologic Response to Severe Burn Injury. *Plos One*, **6**, e21245 (2011)
71. Jeschke M.G., Gauglitz G.G., Song J., Kulp G.A., Finnerty C.C., Cox R.A., Barral J.M., Herndon D.N., Boehning D.: Calcium and ER stress mediate hepatic apoptosis after burn injury. *J. Cell. Mol. Med.* **13**, 1857–1865 (2009)
72. Jethon J.: Chirurgiczne leczenie rany oparzeniowej – współczesne postępowanie. *Post. Nauk Med.* **2**, 3 (2005)
73. Johnson T.R., Gómez B.I., McIntyre M.K., Dubick M.A., Christy R.J., Nicholson S.E., Burmeister D.M.: The Cutaneous Microbiome and Wounds: New Molecular Targets to Promote Wound Healing. *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 2699 (2018)
74. Jones W.G., Minel J.P., Barber A.E., Rayburn J.L., Fahey T.J., Shires G.T., Shires G.T.: bacterial translocation and intestinal atrophy after thermal injury and burn wound sepsis. *Ann. Surg.* **211**, 399–405 (1990)
75. Jr B.A.P., McManus A.T., Kim S.H., Goodwin C.W.: Burn Wound Infections: Current Status. *World J. Surg.* **22**, 135–145 (1998)
76. Kato Y., Nagai A., Saito M., Ito T., Koga M., Tsuboi R.: Food dependent exercise induced anaphylaxis with a high level of plasma noradrenaline. *J. Dermatol.* **34**, 110–113 (2007)
77. Kayser F.H., Bienz K.A., Eckert J., Zinkernagel R.M.: Mikrobiologia lekarska. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2007. s. 255–280
78. Kędzia W.B. i wsp.: 1982. Pałeczki *Pseudomonas* właściwości, zakażenia, profilaktyka. PZWL, Warszawa, 1982, s. 11–153
79. Kędzia W.: Diagnostyka mikrobiologiczna w medycynie, Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa, 1990, s. 91–93; 129–132; 182; 183
80. Kennedy P., Brammah S., Wills E.: Burns, biofilm and a new appraisal of burn wound sepsis. *Burns*, **36**, 49–56 (2010)
81. Kiratisin P., Tucker K.D., Passador L.: LasR a Transcriptional Activator of *Pseudomonas aeruginosa* Virulence Genes, Functions as a Multimer. *J. Bacteriol.* **184**, 4912–4919 (2002)
82. Kirienko N.V., Kirienko D.R., Larkins-Ford J., Wählby C., Ruvkun G., Ausubel F.M.: *Pseudomonas aeruginosa* disrupts *Caenorhabditis elegans* iron homeostasis, causing a hypoxic response and death. *Cell Host Microb.* **13**, 406–416 (2013)
83. Kirov S., Webb J., O'May C., Reid D., Woo J., Rice S., Kjelleberg S.: Biofilm differentiation and dispersal in mucoid *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. *Microbiology*, **153**, 3264–3274 (2007)
84. Klausen M., Heydorn A., Ragas P., Lambertsen L., Aaes Jørgensen A., Molin S., Tolker Nielsen T.: Biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* wild type, flagella and type IV pili mutants. *Mol. Microbiol.* **48**, 1511–1524 (2003)
85. Klein J., Marcy S.: Bacterial sepsis and meningitis (w) Infectious diseases of the fetus and newborn infant, red. Remington J. Klein, Saunders, 2001, s. 943–998
86. Kowalska-Krochmal B.: Mukowiscydoza – problem terapeutyczny i diagnostyczny. Sympozjum „Biofilm tworzony przez drobnoustroje w patogenezie zakażeń” Polanica (2007)
87. Kramer A., Dissemmond J., Kim S., Willy C., Mayer D., Papke R., Tuchmann F., Assadian O.: Consensus on Wound Antisepsis: Update 2018. *Skin Pharmacol. Physiol.* **31**, 28–58 (2018)
88. Kulhankova K., King J., Salgado-Pabón W.: *Staphylococcal* toxic shock syndrome: superantigen-mediated enhancement of endotoxin shock and adaptive immune suppression. *Immunol. Res.* **59**, 182–187 (2014)
89. Lee C.R., Lee J.H., Park M., Park K.S., Bae I.K., Kim Y.B., Cha C.J., Jeong B.C., Lee S.H.: Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. *Front. Cell. Infect. Mi.* DOI:10.3389/fcimb.2017.00055 (2017)
90. Lewis K.: Persister Cells. *Microbiology*, **64**, 357–372 (2010)
91. Lim C.S.Y., Rosli R., Seow H.F., Chong P.P.: *Candida* and invasive candidiasis: back to basics. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **31**, 21–31 (2012)
92. Limoli D.H., Whitfield G.B., Kitao T. i wsp.: *Pseudomonas aeruginosa* alginate overproduction promotes coexistence with *Staphylococcus aureus* in a model of cystic fibrosis respiratory infection. *mBio*. **8**, 186–17 (2017)
93. Luterma A., Dacso C.C., Curreri P.W.: Infections in burn patients. *Antimicrob. Agents Ch.* **81**, 45–52 (1986)
94. Macura A.B.: Przyleganie – jedna z determinant patogenności grzybów *Candida*. *Mikol. Lek.* **1**, 73–79 (1994)
95. Majewska M., Szczepanik M.: The role of Toll-like receptors (TLR) in innate and adaptive immune responses and their function in immune response regulation. *Postępy Hig. Med. Dośw.* **60**, 52–63 (2006)
96. Malinowska M., Tokarz-Deptuła B., Deptuła W.: Mikrobiom człowieka. *Postep. Mikrobiol.* **56**, 33–42 (2017)
97. Markiewicz Z., Kwiatkowski Z. A.: Bakterie, antybiotyki, lekooporność. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2006, s. 121, 131
98. Matusiak D.M.: Zakażenia układu moczowego z udziałem *Proteus mirabilis* – rola biofilmu i inkrustacji cewnika urologicznego. *Post. Mikrobiol.* **53**, 173–181 (2014)
99. Melinyshyn A., Callum J., Jeschke M.C., Cartotto R.: Albumin Supplementation for Hypoalbuminemia Following Burns. *JBCR. (Oxford Academic)*. **34**, 8–17 (2013)
100. Meszaros J.: Czy biofilmy stanowią zagrożenie dla człowieka? *Ter. Lek.* **30**, 20–25 (2002)
101. Mohr J.F., Ostrosky-Zeichner L., Wainright D.J., Parks D.H., Hollenbeck T.C., Ericsson C.D.: Pharmacokinetic Evaluation of Single-Dose Intravenous Daptomycin in Patients with Thermal Burn Injury. *Antimicrob. Agents Chemother.* **52**, 1891–1893 (2008)
102. Mooney D.P., Gamelli R.L.: Sepsis following thermal injury. *Compr. Ther.* **15**, 22–29 (1989)
103. Moritz A.R., Henriques F.C.: Studies of Thermal Injury: II. The Relative Importance of Time and Surface Temperature in the Causation of Cutaneous Burns. *Am. J. Pathol.* **23**, 695–720 (1947)
104. Muthu K., He L.K., Melstrom K., Szilagyi A., Gamelli R.L., Shankar R.: Perturbed Bone Marrow Monocyte Development Following Burn Injury and Sepsis Promote Hyporesponsive Monocytes. *JBCR.* **29**, 12–21 (2008)
105. Mutnick A.H., Enne V., Jones R.N.: Linezolid Resistance since 2001: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Ann. Pharmacother.* **37**, 769–774 (2003)
106. Myśliwiec M., Drabczyk R.: Medycyna Praktyczna: Ostre uszkodzenie nerek (10.08.2020): <https://www.mp.pl/interna/chapter/B16.II.14.1> (11.10.2020)
107. Nadler E.P., Upperman J.S., Dickinson E.C., Ford H.R.: Nitric Oxide and Intestinal Barrier Failure. *Semin. Pediatr. Surg.* **8**, 148–154 (1999)
108. Naglik J., Albrecht A., Bader O., Hube B.: *Candida albicans* proteinases and host/pathogen interactions. *Cellular Microbiology*, **6**, 915–926 (2004)
109. Nielson C.B., Duethman N.C., Howard J.M., Moncure M., Wood J.G.: Burns. *J. Burn Care Res.* **38**, 469–481 (2017)
110. Nix D.E., Goodwin S.D., Peloquin C.A., Rotella D.L., Schentag J.J.: Antibiotic tissue penetration and its relevance: impact of tissue penetration on infection response. *Antimicrob. Agents Ch.* **35**, 1953–1959 (1991)
111. Norbury W., Herndon D.N., Tanksley J., Jeschke M.G., Finnerty C.C.: Infection in Burns. *Surg. Infect.* **17**, 250–255 (2016)

112. Ohman D.E., Chakrabarty A.M.: Utilization of human respiratory secretions by mucoid *Pseudomonas aeruginosa* of cystic fibrosis origin. *Infect. Immun.* **37**, 662–669 (1982)
113. Oleksy-Wawrzyniak M., Junka A., Bartoszewicz M.: Zastosowanie antyseptyków w leczeniu zakażeń ran oparzeniowych. *Chirurgia Plastyczna i Oparzenia*, **5**, 53–58 (2017)
114. Omar A., Wright J.B., Schultz G., Burrell R., Nadworny P.: Microbial Biofilms and Chronic Wounds. *Microorganisms*, **5**, 9 (2017)
115. Paleczny J., Junka A., Bartoszewicz M.: Postępowanie przeciwbakteryjne (antyseptyka) u pacjentów oparzonych. *Chirurgia Plastyczna i Oparzenia*, **7**, 91–100 (2019)
116. Patel B.M., Paratz J., See N.C., Muller M.J., Rudd M., Paterson D., Briscoe S.E., Ungerer J., McWhinney B.C., Lipman J. et al: Therapeutic Drug Monitoring of Beta-Lactam Antibiotics in Burns Patients – A One-Year Prospective Study. *TDM*. **34**, 160–164 (2012)
117. Pastar I., Nusbaum A.G., Gil J. i wsp.: Interactions of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in polymicrobial wound infection. *Plos One*, **8**, e5684 (2013)
118. Pihl M., Arvidsson A., Skepo M. i wsp.: Biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* on peritoneal dialysis catheters and the effects of extracellular products from *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Path. Dis.* **67**, 192–198 (2013)
119. Pileri D., Palombo A.A., D'Amelio L., D'Arpa N., Amato G., Masellis A., Cataldo V., Mogavero R., Napoli B., Lombardo C. i wsp.: Concentrations of cytokines IL-6 and IL-10 in plasma of burn patients: their relationship to sepsis and outcome. *Ann. Burns Fire Disasters*. **21**, 182–185 (2008)
120. Pinder M., Bellomo R., Lipman J.: Pharmacological Principles of Antibiotic Prescription in the Critically Ill. *Anaesth. Intensive Care*. **30**, 134–144 (2001)
121. Podschun R., Ullmann U.: *Klebsiella spp.* as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods and Pathogenicity Factors. *Clin. Microbiol. Rev.* **11**, 589–603 (1998)
122. Prakash B., Veeragowda B.M., Krishnappa G.: Biofilms: A survival strategy of bacteria. *Curr. Sci.* **85**, 1299–1307 (2003)
123. Pruitt B.A., Foley F.D.: The use of biopsies in burn patient care. *Surgery*, **73**, 887–897 (1973)
124. Pruitt B.A., Jr., McManus A.T., Kim S.H., Goodwin C.W.: Burn wound infections: current status. *World J. Surg.* **22**, 135–145 (1998)
125. Przondo-Mordarska A.: Społeczności bakteryjne w organizmie ludzkim. Sympozjum „Biofilm tworzony przez drobnoustroje w patogenezie zakażeń” Polanica (2007)
126. Pudelewicz A., Lisiecka M.: Wymazy z rany oparzeniowej – analiza mikrobiologiczna. *Hir. Plast. Oparzenia*. **5**, 7–13 (2017)
127. Rae L., Fidler P., Gibran N.: The Physiologic Basis of Burn Shock and the Need for Aggressive Fluid Resuscitation. *Crit. Care Clin.* **32**, 491–505 (2016)
128. Ramage G., Coco B., Sherry L., Bagg J., Lappin D.F.: *In Vitro* Biofilm Induced Proteinase Activity and SAP8 Expression Correlates with *In Vivo* Denture Stomatitis Severity. *Mycopathologia*, **174**, 11–19 (2012)
129. Ramirez F., Fowell D.J., Puklavec M., Simmonds S., Mason D.: Glucocorticoids promote a TH2 cytokine response by CD4+ T cells in vitro. *J. Immunol.* **156**, 2406–2412 (1996)
130. Rich, R.R.: Clinical immunology principles and practices, Mosby, Baltimore, 2001, s. 44–141
131. Roth R.R., James W.D.: Microbiology of the skin: resident flora, ecology, infection. *JAAD*, **20**, 367–390 (1989)
132. Rowan M.P., Cancio L.C., Elster E.A., Burmeister D.M., Rose L.F., Natesan S., Chan R.K., Christy R.J., Chung K.K.: Burn wound healing and treatment: review and advancements. *Crit. Care Clin.* **19**, 243 (2015)
133. Różalska B., Walencja E.: Alternatywne do antybiotykoterapii sposoby eradykacji biofilmów. *Postep. Mikrobiol.* **47**, 371–378 (2008)
134. Rudensky A.Y., Preston-Hurlburt P., Hong S.C., Barlow A., Janeway C.A.: Sequence analysis of peptides bound to MHC class II molecules. *Nature*, **353**, 622–627 (1991)
135. Sahib A.S., Al-Jawad F.H., Alkaisy A.A.: Effect of antioxidants on the incidence of wound infection in burn patients. *Ann. Burns Fire Disasters*. **23**, 199–205 (2010)
136. Sakuragi Y., Kolter R.: Quorum-Sensing Regulation of the Biofilm Matrix Genes (*pel*) of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* **189**, 5383–5386 (2007)
137. Sanders V.M., Baker R.A., Ramer-Quinn D.S., Kasprovicz D.J., Fuchs B.A., Street N.E.: Differential expression of the beta2-adrenergic receptor by Th1 and Th2 clones: implications for cytokine production and B cell help. *J. Immunol.* **158**, 4200–4210 (1997)
138. Schlegel H. G.: Mikrobiologia ogólna. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2005, s. 136–137
139. Shupp J.W., Nasabzadeh T.J., Rosenthal D.S., Jordan M.H., Fidler P., Jeng J.C.: A review of the local pathophysiologic bases of burn wound progression. *J. Burn Care Res.* **31**, 849–873 (2010)
140. Smith B.S., Yogaratnam D., Levasseur-Franklin K.E., Forni A., Fong J.: Introduction to drug pharmacokinetics in the critically ill patient. *Chest*, **141**, 1327–1336 (2012)
141. Smuszkiewicz P., Szałek E., Tomczak H., Trojanowska I., Blaszyk M.: Pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations of antimicrobial therapy in sepsis. *Anest. Intens. Ter.* **39**, 136–143 (2007)
142. Sochacka J., Lipska I.: Rola α 1-kwaśnej glikoproteiny surowicy krwi ludzkiej w procesie wiązania leków. *Farm. Pol.* **70**, 55–62 (2014)
143. Sood R.F., Gibran N.S., Arnoldo B.D., Gamelli R.L., Hurdon D.N., Tompkins R.G.: Early leukocyte gene expression associated with age, burn size, and inhalation injury in severely burned adults. *J. Trauma Acute Care Surg.* **80**, 250–257 (2016)
144. Sopata M. 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*, **17**, 1–21 (2020)
145. Sorrentino E.A., Mayrovitz H.N.: Skin capillary reperfusion after regional ischemia. *Int. J. Microcirc Clin. Exp.* **10**, 105–115 (1991)
146. Sparkes B.G.: Immunological responses to thermal injury. *Burns*, **23**, 106–113 (1997)
147. Spoering A.L., Lewis K.: Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials. *J. Bacteriol.* **183**, 6746–6751 (2001)
148. Stańkowska D., Kaca W.: Systemy komunikacji międzykomórkowej bakterii gram-ujemnych i ich znaczenie w ekspresji cech fenotypowych. *Post. Mikrobiol.* **44**, 99–111 (2005)
149. Steinstraesser L., Oezdogan Y., Wang S.C., Steinau H.U.: Host defense peptides in burns. *Burns*, **30**, 619–627 (2004)
150. Stephan R.N., Ayala A., Harkema J.M., Dean R.E., Border J.R., Chaudry I.H.: Mechanism of immunosuppression following hemorrhage: Defective antigen presentation by macrophages. *J. Surg. Res.* **46**, 553–556 (1989)
151. Stewart P.S., Costerton J.W.: Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet*, **358**, 135–138 (2001)
152. Strużyńska J.: Wczesne leczenie oparzeń. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2006, s. 15–21
153. Szałek E., Tomczak H., Smuszkiewicz P., Kamińska A., Grześkowiak E., Skóra M.: Podstawowe wskaźniki PK/PD stosowane w antybiotykoterapii. *Anest. Ratow.* **3**, 88–93 (2006)

154. Szewczyk E.M.: Diagnostyka bakteriologiczna. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2005
155. Szewczyk M.T., Gospodarek E., Mościcka P., Jawień A., Cwajda-Białasik J., Cierzniakowska K., Hancke E.: Zakażenia ran przewlekłych – poważny problem medyczny. *Pielęgniarstwo Chirurgiczne i Angiologiczne*, 1–6 (2015)
156. Tiwari V.K.: Burn wound: How it differs from other wounds? *Indian J. Plast. Surg.* **45**, 364–373 (2012)
157. Todar K.: Online Textbook of Bacteriology. Opportunistic Infections Caused by *Pseudomonas aeruginosa*, 1–4: <http://www.textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html> (11.10.2020)
158. Topley N., Steadman R., Mackenzie R., Knowlden J.M., Williams J.D.: Type 1 fimbriated strains of *Escherichia coli* initiate renal parenchymal scarring. *Kidney Int.* **36**, 609–616 (1989)
159. Trafny E.A.: Susceptibility of adherent organisms from *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* strains isolated from burn wounds to antimicrobial agents. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **10**, 223–228 (1998)
160. Trafny E.A.: Powstawanie biofilmu *Pseudomonas aeruginosa* i jego znaczenie w patogenezie zakażeń przewlekłych. *Post. Mikrobiol.* **39**, 55–71 (2000)
161. Tredget E.E., Shankowsky H.A., Rennie R., Burrell R.E., Logsetty S.: *Pseudomonas* infections in the thermally injured patient. *Burns*, **30**, 3–26 (2004)
162. Udy A.A., Roberts J.A., Lipman J., Blot S.: The effects of major burn related pathophysiological changes on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drug use: An appraisal utilizing antibiotics. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **123**, 65–74 (2018)
163. Van Delden C., Iglewski B.H.: Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *EID.* **4**, 551–560 (1998)
164. Vaughn L., Beckel N.: Severe burn injury, burn shock, and smoke inhalation injury in small animals. Part 1: burn classification and pathophysiology. *J. Vet. Emerg. Crit. Care.* **22**, 179–186 (2012)
165. Vo L.T., Papworth G.D., Delaney P.M., Barkla D.H., King R.G.: A study of vascular response to thermal injury on hairless mice by fibre optic confocal imaging, laser doppler flowmetry and conventional histology. *Burns*, **24**, 319–324 (1998)
166. Wolska K., Kot B., Piechota M., Aneta F.: Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to antibiotics. *Postepy. Hig. Med. Dosw.* **67**, 1300–1311 (2013)
167. World Health Organization: Burns – fact sheet (06.03.2018): <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/burns> (11.10.2020)
168. Xing Z., Gauldie J., Cox G., Baumann H., Jordana M., Lei X.F., Achong M.K.: IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J. Clin. Investig.* **101**, 311–320 (1998)
169. Xu K.D., Stewart F.S., Xia F., Huang C.T., McFeters G.A.: Spatial Physiological Heterogeneity in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Is Determined by Oxygen Availability. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 4035–4039 (1998)
170. Yin S., Jiang B., Huang G. i wsp.: Burn serum increases *Staphylococcus aureus* biofilm formation via oxidative stress. *Front Microbiol.* **8**, (2017)
171. Zabel M.: Histologia – Podręcznik dla studentów medycyny i stomatologii; Elsevier Urban & Partner, Wrocław, 2013, s. 9, 173–188