

615.777:616-001.41-022.1-092.9

LOKÁLNÍ ANTISEPTIKUM V INFEKČNÍM MODELU RÁNY

Npor. MUDr. Michal PLODR, RNDr. Marie VACKOVÁ, CSc., doc. Ing. Marie HARTMANOVÁ, CSc., ¹RNDr. Milan DITTRICH, CSc.
Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně, Hradec Králové
(rektor: plk. doc. MUDr. Svatopluk Býma, CSc.)
¹Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové
(děkan: prof. RNDr. Eva Kvasničková, CSc.)

Úvod

Je všeobecně známo, že častým etiologickým agens primárně infikovaných ran je *Staphylococcus aureus*. Proto jsou stále hledány nové metody a postupy, jak účinně zabránit těmto nežádoucím stafylokokovým infekcím nebo je alespoň efektivně léčit.

Při ošetření ran byla navržena řada postupů, včetně antibiotické profylaxe. V případě otevřeného poranění měkkých tkání může dojít vlivem fyzikálně-chemických pochodů v místě poranění k sníženému prokrvení a posléze i k nekróze tkáně. Přispívají k tomu hematoma v ráně, znečištěná cizí tělesa nebo použití škrtidla ke stavění krvácení. V důsledku toho dochází ke snížené penetraci celkově podaného antibiotika do místa určení.

Na druhou stranu lokálně podávaná antibiotika s sebou nesou vyšší riziko vzniku rezistence a alergických reakcí v místě podání. Proto jsou hledána a ověřována některá lokálně aplikovatelná antiseptika sestavovaná buď samostatně, nebo v kombinacích.

Stále však zůstává nevyřešena otázka prodloužení uvolňování účinných látek z lokálně podaného přípravku. Proto byl na Farmaceutické fakultě UK v Hradci Králové vyvinut a námi v experimentu ověřen zcela nový lokální přípravek, který obsahuje dezinficienci chlorhexidin a cetrimid v komplexu s biodegradabilním nosičem, z kterého jsou aktivní látky s antimikrobiálními vlastnostmi uvolňovány po dobu několika dnů.

Metodika

Lokální přípravek jsme zkoušeli na 15 experimentálních zvířatech. Postupně jsme hledali metodiku sledování rány a ve spolupráci s dr. Dittrichem z Farmaceutické fakulty v Hradci Králové jsme ověřovali optimální složení preparátu.

V první etapě experimentu jsme se zabývali složením doplňujících komponent, z kterých by bylo možné uvolnění aktivních látek bez ovlivnění jejich antimikrobiálních vlastností. V konečné fázi experimentu se podařilo stanovit definitivní metodiku sledování rány i složení přípravku aplikovaného ve formě prášku, které bylo z časových i finančních důvodů ověřeno pouze na 12 ranách.

Charakteristika infekčního agens

Lokální přípravek jsme testovali na sbírkovém kmenu *Staphylococcus aureus* Brno E 1383, který byl izolován z hnisavého onemocnění kůže prasat. K vyvolání hnisavé reakce jsme do jednotlivých ran injikovali 0,5 ml 6hodinové suspenze o denzitě zárodků 10^4 a 10^9 CFU/ml (Colony Forming Units). Testovaný kmen je uložen v lyofilizovaném stavu v Národní referenční laboratoři pro stafylokoky v Praze a na katedře vojenské epidemiologie Vojenské lékařské akademie JEP v Hradci Králové k dalšímu použití.

Vytvoření infekčního modelu rány

K experimentu jsme použili prasata typu Landras v hmotnostním rozmezí 35–45 kilogramů. Po uvedení do anestezie intramuskulární aplikací anestetika jsme oholili hřbet zvířete a připravili operační pole dezinfekcí 3% roztokem jódové tinktury. Poté jsme provedli na každé straně hřbetu 4 incize zasahující k fascii paravertebrální svaloviny. Po aplikaci infekčního agens a následně léčivého přípravku jsme rány ponechali spontánnímu hojení bez sutury a kryli je sterilním čtvercem a rouškou.

Aplikace léčivého přípravku a další sledování rány

V konečné etapě experimentu jsme testovali vzorky označené A a B, které se od sebe lišily jednou z doplňujících komponent:

vzorek A: cetrimid
chlorhexidin
kyselina acetylsalicylová

vzorek B: cetrimid
chlorhexidin
pyruvát sodný

Každý ze vzorků byl zkoušen na 6 modelech infekční rány.

Aplikaci lokálního přípravku jsme prováděli vysypáním z tobolek do rány po 6 hodinách od vytvoření infekce a provádění výtěrů z rány bylo uskutečněno po 48 hodinách do 6. dne od aplikace přípravku. Dvě rány, každá s rozdílnou denzitou infekčního agens, byly ponechány jako kontrolní.

Výsledky

Rány jsme hodnotili na základě:

- a) makroskopické hodnocení
- b) mikrobiologického vyšetření

ad a) Rány ošetřené léčivem vykazovaly tendenci ke spontánnímu hojení. Okraje ran byly sblíženy, nebyly naválité a na spodině jsme ojediněle nacházeli depozita léčiva. Na rozdíl od kontrolních ran jsme nepozorovali vytvoření krusty, která fungovala jako poklička, pod níž pokračoval hnisavý proces.

ad b) Výtěry byly vyočkovány na krevní agar a Endovu půdu k posouzení sekundární kontaminace.

Jako vyhovující mikrobiologický nález jsme hodnotili sterilní ránu nebo kontaminaci maximálně do 10 kolonií stafylokoků.

Pozitivní nález: počet kolonií stafylokoka nad 10

Celkový počet vyhovujících ran (každý ze vzorků zkoušen na 6 modelech rány):

Vzorek A:

Po 2 dnech	6 (100 %)
4 dnech	6 (100 %)
6 dnech	5 (83,3 %)

Vzorek B:

Po 2 dnech	5 (83,3 %)
4 dnech	3 (50 %)
6 dnech	3 (50 %)

Diskuse

Z uvedeného je patrné, že byl vytvořen účinný lokální preparát, který je schopen v infekčním modelu rány prolongovaně uvolňovat účinné látky do okolí.

Interval podání léčiva 6 hodin po vyvolání infektu v ráně je dostatečný, protože kombinovaný polní a teritoriální systém zdravotnického zabezpečení raněných v poli předpokládá první lékařskou pomoc do 2 hodin po poranění. Při delším intervalu docházelo k tak masivní kontaminaci rány zárodky stafylokoků, že není v reálných podmínkách možná. Tento fakt jsme si v experimentu ověřili.

Na prolongovaném účinku preparátu se podílí schopnost měnit práškovou formu po aplikaci do rány na formu gelovou. Je to dáno působením tkáňového moku a také přídavnými komponenty, které se při tělesné teplotě mění na gel. Gelová forma zaručuje rovnoměrné rozptýlení účinných látek v ráně, lépe adhezuje k okrajům, a tak se minimalizuje riziko odplavení léčiva.

Závěr

V konečné fázi se podařilo vytvořit a v experimentu na zvířeti ověřit lokální přípravek, který je schopen v experimentálním modelu infekční rány měkkých tkání při jednorázovém podání udržet sterilní prostředí v místě určení minimálně po dobu 5 dnů. Neprokázali jsme rozdílné výsledky u ran infikovaných denzitou nižší než 10^4 CFU/ml a denzitou vyšší než 10^9 CFU/ml. Vyšší antimikrobiální schopnost jsme potvrdili u vzorku A, který v nosném komplexu obsahoval kyselinu acetylsalicylovou. K přesnějšímu statistickému zhodnocení bude ještě potřeba provést experiment na větším souboru ran.

Souhrn

Autoři hodnotí své první zkušenosti s novým lokálním přípravkem, který byl zkoušen v experimentálním modelu infekční rány. Mimořádnost přípravku s antimikrobiálními vlastnostmi, který je kombinací dvou známých antiseptik, je dána prolongovaným uvolňováním účinných látek do okolí. Autoři rovněž podrobně popisují metodiku práce, zejména časové sledování rány, kterou je možno použít při experimentech podobného druhu.

Literatura

1. VYKOUŘIL, L.: Válečná chirurgie. 1. vyd. Hradec Králové. VLA JEP, 1992. 191 s.
2. HUMLÍČEK, V.: Kombinovaný polní a teritoriální systém zdravotnického zabezpečení. Voj. zdrav. Listy, 1997, vol. 66, č. s. 73-75.
3. LANGFORD, JH. - ARTEMI, P.: Topical antimicrobial prophylaxis in minor wounds. Ann. Pharmacother., 1997, vol. 31, no. 5, p. 559-563.
4. GALLAND, RB.: Reduction of surgical wound infection rates in contaminated wounds treated with antiseptics combined with systemic antibiotics: An experimental study. Surgery, 1982, vol. 91, p. 329-332.
5. POLK, HC.: Antibiotic activity in Surgical incision. JAMA, 1980, 244, p. 1354-1355.
6. CLASSEN, DC.: The timing of prophylactic administration of antibiotics and the risk of surgical wound infection. Engl. J. Med., 1992, 326, p. 281-286.
7. HALASZ, NA.: Wound infection and topical antibiotics - The surgeon's dilemma. Arch. Surg., 1977, 112, p. 1240-1244.
8. KAISER, AB.: Antimicrobial prophylaxis in surgery. Engl. J. Med., 1986, 315, p. 1129-1138.
9. BERGAMINI, MT.: Combined topical and systemic antibiotic prophylaxis in experimental wound infection. Am. J. Surg., 1984, 147, p. 753-756.
10. MELLOR, SG.: Efficacy of delayed administration of benzylpenicillin in the control of infection in penetrating soft tissue injuries in war. J. Trauma, 1996, 40, p. 128-134.

Klíčová slova: Lokální antiseptikum; Hojení rány; Infekční komplikace; Staphylococcus aureus.