

Test *In Vitro* efektywności anty-biofilmowej opatrunków

Jawal Said, Michael Walker, David Parsons, Paul Stapleton, Anthony E. Beezer, Simon Gaisford.
Opublikowane w *International Journal of Pharmaceutics* 2014; 474:177-1811

Kluczowe informacje:

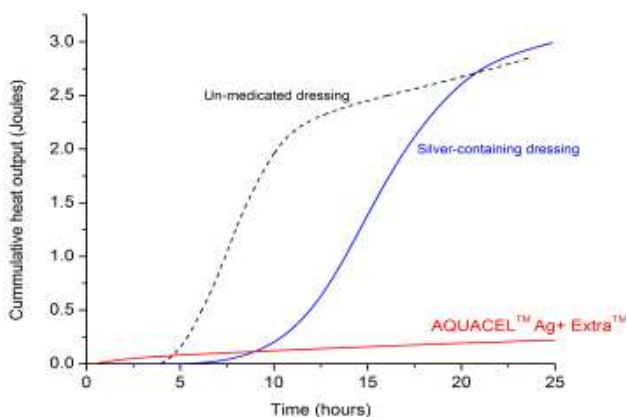
- Badanie *in vitro* wykazało, że dodatek substancji mającej zniszczyć strukturę biofilmu, do opatrunku zawierającego składniki antybakteryjne, może zwalczać biofilm, co stanowiło strategiczne założenie dla opatrunku AQUACEL™ Ag+ Extra™
- Opatrunek zawierający samo srebro może być mniej efektywny w zwalczaniu biofilmu, ponieważ formowanie biofilmu powoduje istotny wzrost stopnia odporności na działanie substancji antybakteryjnych.
- W porównaniu do opatrunku AQUACEL Ag Extra, AQUACEL Ag+ Extra (AAG+E) zawiera dwie nowe substancje wzmacniające skuteczność dostarczania i działania jonów srebra: kwas etylo-diaminooctowy [EDTA] i chlorek benzetonioowy [BC].
- W badaniu *in vitro* na modelu biofilmu *Staphylococcus Aureus* (*S. aureus*) porównującym efektywność działania opatrunku AAG+E w stosunku do 3 opatrunków: nie zawierającego dodatkowych substancji czynnych, zawierającego srebro i nasączonego roztworem azotanu srebra (AgNO_3), biofilm został wyeliminowany jedynie przy użyciu AAG+E. W pozostałych przypadkach biofilm pozostał widoczny.
- Wpływ EDTA przypisuje się jego właściwościom, jako chelatorowi metalu, o podwójnym działaniu – niszczy integralność macierzy biofilmu i ułatwia dostarczanie srebra do komórek bakterii; podczas gdy BC zmniejsza napięcie powierzchniowe, wpływa na strukturę biofilmu i interakcje między komórkami, wspierając w ten sposób aktywność srebra dostarczanego z EDTA.
- Doświadczenia kontrolne wykazały, że ani EDTA ani BC same, nie miały działania bakteriobójczego, co wskazuje, że to działanie synergiczne EDTA i BC zakłócające działanie biofilmu, odpowiedzialne jest za skuteczność AAG + E.

Metody:

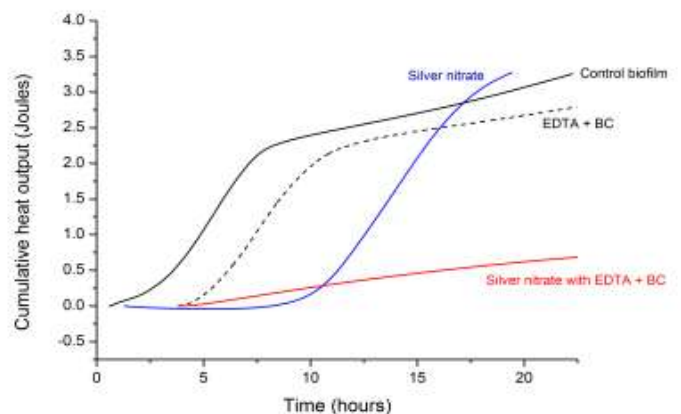
- Model biofilmu opracowano w mikrokalorymetrze izotermalnym. Mikroorganizm stanowiący wyzwanie - *S. aureus*, hodowano przez 16 godzin w bulionie odżywczym, zbierano, przemywano i ponownie zawieszano. Przygotowano ampuły zawierające agar, bulion tryptozowo – sojowy oraz *S. Aureus*, do uzyskania zawiesiny 1×10^6 cfu / ml, a następnie umieszczano je w kalorymetrze. Gdy to było konieczne były także dodawane: opatrunek, EDTA, BC lub AgNO_3 .
- Opatrunki użyte do testów porównawczych z AAG+E to: bez dodatkowych substancji czynnych - AQUACEL (AH); ze srebrem - AQUACEL™ Ag lub AQUACEL™ Ag Extra™ (AAGH).
- Zliczanie komórek wykonywano po każdym eksperymencie kalorymetrycznym. Dane uzyskano za pomocą Digitam 4.1, a analizowano z zastosowaniem Origin 8.1

Wyniki:

Wykres 1. Krzywe wzrostu biofilmu samego i pod opatrunkami AH, AAGH i AAG+E³



Wykres 2. . Krzywe wzrostu biofilmu samego i pod opatrunkami AgNO_3 , EDTA+BC, i AgNO_3 +EDTA+BC³



- **Wykres 1** pokazuje, że opatrunek bez dodatkowych substancji nie zapobiega rozwojowi biofilmu, a opatrunek ze srebrem jedynie opóźnia rozwój biofilmu. Redukcja wzrostu biofilmu jest widoczna przy zastosowaniu opatrunku AAg+E: średnia ilość komórek po ekspozycji to 2×10^4 cfu/mL, opatrunek może więc być uważany za bakteriobójczy, ponieważ spowodował zmniejszenie liczby żywych komórek o 3 log w porównaniu do próby kontrolnej.
- **Wykres 2** pokazuje, że składniki AAg+E stosowane oddzielnie, początkowo opóźniają rozwój biofilmu, ale potem wzrost jego jest identyczny jak w próbie kontrolnej; jednak jeśli zastosujemy je w połączeniu, powodują one ograniczenie wzrostu biofilmu. Potwierdza to hipotezę, że to kombinacja EDTA, BC i aktywnego srebra, działających w synergii, jest konieczna dla osiągnięcia skuteczności.

Referencje:

Jawal Said, Michael Walker, David Parsons, Paul Stapleton, Anthony E. Beezer, Simon Gaisford.
An *in vitro* test of the efficiency of an anti-biofilm wound dressing. International Journal of
Pharmaceutics 2014; 474:177-1811