

Title	III度熱傷創の感染発症に対する経静脈投与抗菌薬の有効性と薬剤移行機序に関する実験的検討
Sub Title	
Author	田熊, 清継(Takuma, Kiyotsugu)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2009
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.85, No.2 (2009. 4) ,p.197- 209
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	原著
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20090400-0197

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

原 著

Ⅲ度熱傷創の感染発症に対する経静脈投与抗菌薬の有効性と 薬剤移行機序に関する実験的検討

東北大学大学院医学系研究科 外科病態学講座救急医学分野

た く ま き よ つぐ
田 熊 清 継

ABSTRACT

Experimental study on the mechanism of penetration of systemically administered antibiotics into burn eschar, and their antiseptic effect Kiyotsugu Takuma¹⁾

1) Department of Emergency Medicine and Critical care Medicine, School of Medicine, Tohoku University

Systemically administered antibiotics are assumed to be ineffective in controlling infection in eschar (full-thickness burn wounds) because of their avascularity. This series of studies was undertaken to determine the prophylactic effect of systemic antibiotics on the development of full-thickness burn wound sepsis, and the mechanisms of drug penetration into eschar. Their effect was evaluated by investigating the following : 1) penetration into the eschar, 2) prevention of infection of eschar contaminated by bacteria, 3) the differences of antiseptic effect in drug administration of post-burn days, 4) differences between drug concentration in eschar and surrounding normal skin, 5) drug penetration from the normal subcutaneous tissue into eschar, 6) influence of occlusive dressings on wound penetration by the antibiotics. Four different antibiotics, cefoperazone, ceftazidime, cefclidine, and cefluprenam, and two different species of bacteria, *S. aureus* and *P. aeruginosa* were used in an animal burn model. The following results were obtained. 1) There was good penetration of the eschar by the systemic antibiotics, and the antibiotics prevented infection of contaminated eschar. 2) Early administration resulted in better penetration than later administration. 3) Systemic antibiotics penetrated eschar better when the wound was uncontaminated. 4) The systemic antibiotics is carried from vessels to eschar by the convection and condensed on the surface by evaporation.

Key Words : burn wound, infection, systemic antibiotics, pharmacokinetics

広範囲熱傷患者の死亡原因として、受傷後早期のショック、腎不全、ならびに呼吸不全は減少し、最近では熱傷創感染症などから引き起こされる敗血症と感染症に合併する臓器不全が主要死亡原因となった^{1, 2)}。したがって、死亡率改善のためには感染のコントロールが重要な課題となっている³⁾。

広範囲熱傷患者の治療経過中には種々の感染症が高率に発生し、治癒までの長い経過中に発症するすべての感染症を予防することは困難であるが、受傷後早期に創感染を起こすと重症化しやすく、その後の手術など侵襲を

伴う治療を困難にすることから、無菌的創管理や抗菌薬投与により早期の創感染を防止することが治療の原則となっている。しかし、患者の来院時に既に創が汚染されていることもあり、また全身に及ぶ熱傷創の無菌的管理を完璧に行うことは困難なことが多い。したがって、創感染防止のために創部にはスルファジアジン銀含有クリームなどの抗菌性局所療法剤が用いられ、さらに創感染の場となるⅢ度熱傷の壊死組織（以下「焼痂組織」という。）の早期切除と植皮術が行われている^{4, 5)}。

一方、細菌により汚染された創面から焼痂組織の深部

に侵入した細菌増殖を、創面に塗布する抗菌性局所療法剤だけで抑制するには限界があるため、経静脈投与による抗菌薬投与の効果が期待されてきた。しかしながら、経静脈的に投与された抗菌薬が創感染症を防止できるか否かについては、未だに結論が得られていない^{6,7)}。Baxter や Moncrief などの熱傷分野で指導的立場にあった医師たちは、経静脈的に投与された抗菌薬には効果がないと主張しており、この主張が一般に信じられてきた^{8,9)}。皮膚全層が熱により傷害され壊死組織となった焼痂組織では、血管が破壊されているため血流がなく、経静脈的に投与された抗菌薬が血流から焼痂組織に移行しないと推測が彼らの主張の根拠となっている¹⁰⁾。しかし、実際に焼痂組織への薬剤移行性を測定したデータは示されていない。

著者は、緑膿菌による汚染を受けたⅢ度熱傷創に対して経静脈的に投与した抗菌薬が創感染防止効果を有し、薬剤が焼痂組織に移行することを動物実験で示した¹¹⁾。この報告以降、同様の知見が散見されるようになった¹²⁻¹⁴⁾。

経静脈的に投与された抗菌薬の創感染抑制における有効性をさらに明確にして臨床応用の科学的根拠を得るには、薬剤移行性に関して、受傷後の薬剤投与時期や創汚染による影響、さらには血流のない焼痂組織への薬剤移行の機序を解明する必要がある。

本研究の目的は、経静脈的に投与された抗菌薬の焼痂組織への移行性とその機序を解明することである。さらに、経静脈的投与と抗菌薬の創感染防止効果の有無を明らかにすることである。

対象と方法

1. ラットのⅢ度熱傷モデルの作製

Wistar 系雄性ラット（8週齢，体重 260-310 g）を用いた。ラットは個別にゲージに入れ、飼育用 MF 食（オリエンタル酵母工業㈱）と水を *ad libitum* に与えた。

ペントバルビタール（35 mg/kg）を腹腔内投与して麻酔した後、電動バリカンと脱毛クリームを用いて背部を脱毛した。Ⅲ度熱傷の作製には沸騰した熱湯を用いた。作製すべき熱傷創の形状の穴をあけた耐熱プラスチックプレートを沸騰した熱湯面上に置き、その上から麻酔したラット背部を熱湯に 10 秒間接触させた。熱湯の温度は 95～100℃であった。本法（以下、「熱湯法」という。）により皮膚全層にわたるⅢ度熱傷が作製されることは、既に示されている^{11, 15)}。熱傷創部は滅菌ガーゼで被覆した上から弾性絆創膏を用いて閉鎖し固定した。非

熱傷ラットは、ペントバルビタール麻酔と脱毛ならびに脱毛部の閉鎖・固定をしたが、熱湯に接触させないラットとした。

2. 検討対象抗菌薬と薬剤濃度の測定

下記実験 1 の薬剤移行性の検討には、cefoperazone (CPZ), ceftazidime (CAZ), cefluprenam (CFLP) の 3 種のセフェム系薬を用いた¹⁶⁾。実験 2, 3, 6 には CFLP を用いた。実験 4, 5 には cefclidine (CFCL) を用いた¹¹⁾。

血中薬剤濃度の測定には、採取血液を遠心分離（3000 rpm, 15 分）して血清を分離、組織内薬剤濃度測定には、生検あるいは切除した皮膚全層あるいは焼痂組織（*Panniculus carnosus* を含まず）から浸出液を拭き取り秤量、共に濃度測定時まで -20℃で凍結保存した検体を用いた。組織検体は解凍後に 1/15 mol (pH 7.0) リン酸緩衝液を加え、Kinematica® polytron homogenizer を用いてホモジネートし、4℃で 24 時間静置後に上清を分離した。解凍後の血清と組織ホモジネートからの上清について、薬剤濃度を薄層ディスク法によるバイオアッセイにて測定し¹⁷⁾、血液 1 ml あるいは組織 1 g あたりの濃度として算出した。検定菌は、CPZ には *Micrococcus luteus* (ATCC9341), CAZ には *Proteus mirabilis* (ATCC21100), CFLP には *Escherichia coli* (ATCC27166), CFCL には *E. coli* (E01174) を用いた。

3. 汚染創の作製

熱湯法により熱傷創を作製した直後の熱傷創面に *Staphyrococcus aureus* (E310221) 10² cfu/cm² と *Pseudomonas aeruginosa* (NCTC10490) 10⁴ cfu/cm² とを塗布し創部を閉鎖・固定した。

4. 実験 1：薬剤移行性の検討

9 匹のラットを用い、熱湯法により 1 × 1 cm のⅢ度熱傷創を 1 匹あたり 7 部位作製した (n = 9, 63 部位)。熱傷作製 1 時間後に抗菌薬 CPZ, CAZ, あるいは CFLP を、それぞれ 3 匹のラットに尾静脈から 1 回投与した。各薬剤の投与量は 50 mg/kg とした。対照は非熱傷ラット（合計 9 匹）とし、同様に 3 種の薬剤をそれぞれ 3 匹のラットに投与した。

薬剤投与後 30 分, 1, 2, 4, 8 時間に、ジェチルエーテル吸入麻酔下にて、血液と焼痂組織あるいは非熱傷皮膚を採取して、薬剤濃度を測定した。

5. 実験 2：汚染創における感染防止効果と薬剤移行性の検討

10 匹のラットを用い、熱湯法により 1×1 cm のⅢ度熱傷創を 1 匹あたり 2 部位（背部左右に 1 部位ずつ）作製し、上記方法で汚染創とした（ $n=10$, 20 部位）。ラットを 2 群に分け、5 匹のラット（ $n=5$, 10 部位）は治療群として、受傷 1 時間後から CFLP を 1 回 50 mg/kg, 1 日 2 回, 5 日間尾静脈から投与した。同様に熱傷と汚染創を作製したが薬剤を投与しない 5 匹のラット（ $n=5$, 10 部位）を非治療対照群とした。

- 1) 創の肉眼的観察：最後の薬剤投与の 24 時間後に創を開放し、創部の肉眼所見を観察した。
- 2) 病理組織所見の観察：ジエチルエーテル吸入麻酔下に、2 部位の創組織を切除して、一方の創組織をホルマリン固定、パラフィン包埋切片をヘマトキシリン・エオシン染色し、病理組織学的所見を観察した。
- 3) 創生菌数：上記方法で採取した他方の創組織に、滅菌生食水 1 ml を加え、Pyrex® glass homogenizer でホモジネート後、5 段階 10 倍希釈を行い、BTB 培地および NAC 培地に塗布し、 37°C 、24 時間培養後、コロニー数を測定し、採取組織重量当たりの生菌数（cfu/g）を測定した。

6. 実験 3：熱傷後の薬剤投与時期と創汚染とが薬剤の組織移行性に与える影響の検討

8 匹のラットを用い、熱湯法により 1×1 cm のⅢ度熱傷創を 1 匹あたり 6 部位作製し、上記方法により汚染創とした。（ $n=8$, 48 部位）。ラットを 3 群に分け、熱傷作製の 1 時間後（ $n=3$ ）、1 日後（ $n=3$ ）、ならびに 5 日後（ $n=2$ ）に、CFLP を 1 回 50 mg/kg, 尾静脈から投与した。CFLP 投与の 1, 2, 4, 6, 8, 24 時間後にジエチルエーテル麻酔下で焼痂組織を採取し、焼痂組織内の CFLP 濃度を測定した。また、対照として 6 匹の熱傷非汚染ラット（ $n=6$, 36 部位）について、同様に CFLP 投与後の焼痂組織内の CFLP 濃度を測定した。

7. 実験 4：薬剤移行機序の検討：周囲皮膚からの移行の検討

4 匹のラットを用い、熱湯法により 35 cm^2 （ 5×7 cm）のⅢ度熱傷創を 1 部位作成し、1 時間後に CFCL を尾静脈から投与した。CFCL の投与 1 時間後（ $n=2$ ）ならびに 4 時間後（ $n=2$ ）に、ジエチルエーテル吸入麻酔下で血液を採取し、焼痂組織を切除した。血清中薬

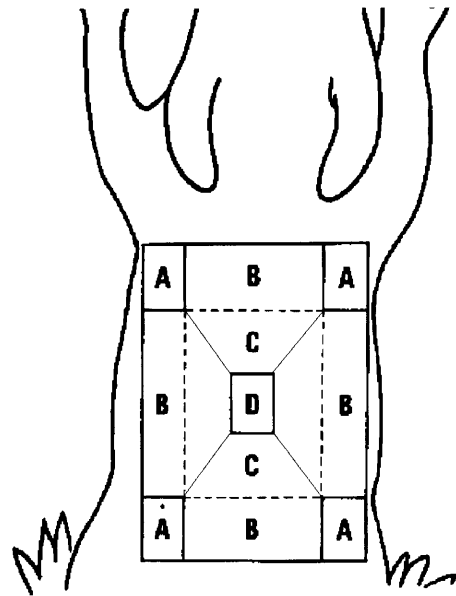


図 1 実験 4：周囲皮膚からの薬剤移行性の検討
経静脈的投与抗菌薬の焼痂組織への良好な移行は、周囲の正常皮膚からの移行ではないことを確認するため、作成した 5×7 cm のⅢ度熱傷創（4 匹、4 部位）を各 A～D の 4 区画に分けて焼痂組織内の薬剤濃度を測定した。対照は非熱傷ラットにおける同一サイズの正常皮膚組織（1 匹、1 部位）とした。

剤濃度を測定し、焼痂組織は、図 1 に示したように周囲の健常皮膚との境界ならびに距離により 4 分画に分けて、それぞれの分画中の薬剤濃度を測定した。各分画は、健常組織と接する境界が 2 辺ある A 区画、境界が 1 辺ある B 区画、境界がない C 区画、健常組織との境界がなく C 区画より健常組織との距離が離れている創中心部の D 区画とした。

8. 実験 5：薬剤移行機序の検討：熱傷創底からの移行の検討

3 匹のラットを用い、熱湯法により 1×1 cm のⅢ度熱傷創を 1 匹あたり 7 部位作製した（ $n=3$, 21 部位）。熱傷作製 1 時間後に CFCL50 mg/kg を 1 回尾静脈から投与し、薬剤投与の 15 分、1 時間、4 時間、6 時間後にジエチルエーテル吸入麻酔下で経時的に採血と焼痂組織を採取した。また、3 匹の非熱傷ラットにおいても同じ方法で血中および皮膚組織内の薬剤濃度を測定した。さらに、薬剤投与の 1 時間後と 4 時間後に採取した焼痂組織について、デルマトームを用いて厚さ 0.1 mm の 3 層（表層、中層、深層）に分け、各層の焼痂組織内薬剤濃度を測定した（ $n=3$ ）。

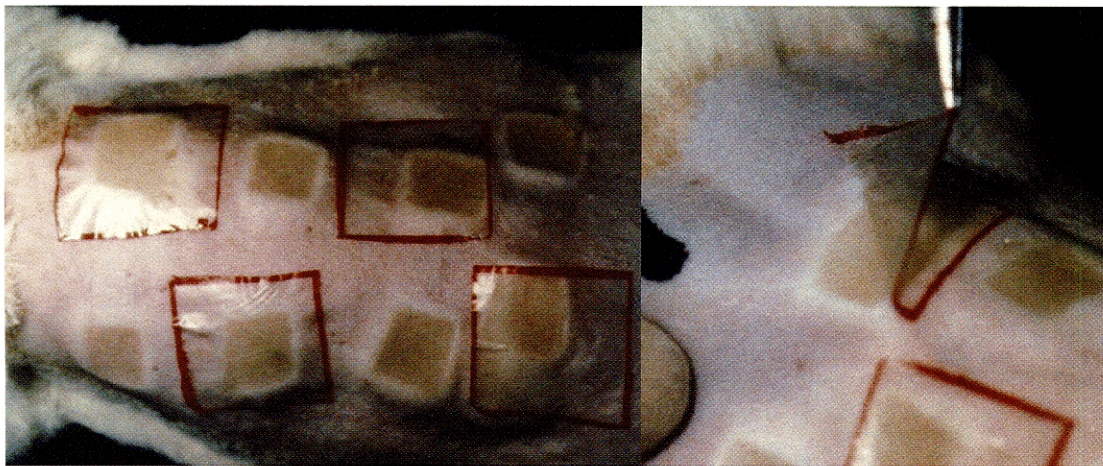


図2 実験6：移行機序の検討：被覆材の影響

3匹のラット背部に、ペントバルビタール麻酔下、 1×1 cmのⅢ度熱傷創を各8部位作成した。直後に各4部位をポリウレタン製の閉鎖性被覆材で覆い、残りの各4部位はガーゼで覆った。熱傷1時間後に cefluprenam を経静脈投与し、焼痂組織内濃度の相違を検討した。

9. 実験6：組織移行機序の検討：被覆材の影響

3匹のラットを用い、熱湯法により 1×1 cmのⅢ度熱傷創を8部位作成し、熱傷直後に4部位をポリウレタン製の閉鎖性被覆材 (Opsite® wound : Smith & Nephew(株)) で覆い、残りの4部位はガーゼで覆った(図2)。熱傷作製1時間後に CFLP50 mg/kg を尾静脈から投与し、CFLP 投与の1, 2, 4, 8時間後に焼痂組織を採取し、実験5と同様の方法で3層にスライスした各層の薬剤濃度を測定した。

10. 統計処理

結果の値は平均値±標準誤差で表示した。実験1の薬剤移行性の検討、実験3の熱傷後の薬剤投与時期と創汚染とが薬剤の組織移行性に与える影響の検討、実験5の薬剤移行機序の検討(熱傷創底からの移行の検討)、実験6の移行機序の検討(被覆材の影響)では、repeated measure ANOVA で検定した。また、実験2の汚染創における感染抑制効果の検討では Mann-Whitney's U test で検定した。実験4の薬剤移行機序の検討では、one-factor ANOVA で検定した。なお、統計解析ソフトは Statcel 2 を用いた。

結 果

1. 実験1：薬剤移行性の検討

3種の薬剤の血清中濃度と焼痂組織内あるいは正常皮膚組織内濃度と薬剤投与後時間との関係を図3に示した。

CPZ の濃度 (mean±SEM ; 以下同) は、熱傷ラッ

トでは、30分後で血清中 $59.3 \pm 6.4 \mu\text{g/mL}$ 、焼痂組織内 $22.4 \pm 5.5 \mu\text{g/g}$ であった。その後血清中濃度は低下したが、焼痂組織内濃度はやや上昇し、投与後2時間値で $32.7 \pm 14.6 \mu\text{g/g}$ と血清中濃度の $13.8 \pm 4.6 \mu\text{g/mL}$ よりも高値を示した。投与後8時間の値においても焼痂組織内濃度 $15.3 \pm 3.3 \mu\text{g/g}$ と血清中濃度より高値を示した(図3a)。一方、非熱傷ラットにおける薬剤濃度は、投与後30分値で血清中濃度 $39.1 \pm 6.3 \mu\text{g/mL}$ 、皮膚組織内濃度 $24.9 \pm 0.9 \mu\text{g/g}$ であったが、血清中濃度は熱傷ラットより低く推移し、投与後1時間値では血清中濃度 $11.7 \pm 1.7 \mu\text{g/g}$ 、皮膚組織内濃度 $9.3 \pm 1.9 \mu\text{g/g}$ と低値を示した。

CAZ の濃度も CPZ の濃度とほぼ同様の推移を示した。すなわち、熱傷ラットでは、30分後で血清中濃度 $63.8 \pm 5.3 \mu\text{g/mL}$ 、焼痂組織内濃度 $36.1 \pm 2.0 \mu\text{g/g}$ を示し、その後血清中濃度は低下したが、焼痂組織内濃度の低下は緩やかで、投与後2時間値の焼痂組織内濃度は $24.5 \pm 0.3 \mu\text{g/g}$ で、投与後2時間値の血清中濃度 $15.0 \pm 2.7 \mu\text{g/mL}$ を越えて高値を示した。一方、非熱傷ラットにおける CAZ の濃度は、投与後30分値で血清中濃度は $66.3 \pm 6.0 \mu\text{g/mL}$ と高い値を示したが、皮膚組織内濃度は $27.3 \pm 1.3 \mu\text{g/g}$ で投与後30分値の焼痂組織内濃度と比較し低値であり、投与後2時間の皮膚組織内濃度は $2.9 \pm 0.2 \mu\text{g/g}$ でも低値を示した(図3b)。

CFLP についても、血清中濃度および焼痂組織内濃度ともに他の薬剤の濃度とほぼ同様の傾向を示し、焼痂組織内濃度は1時間値を最高値 $42.8 \pm 5.2 \mu\text{g/g}$ とし、その後、高い組織内濃度は長時間持続し、投与後4時間値

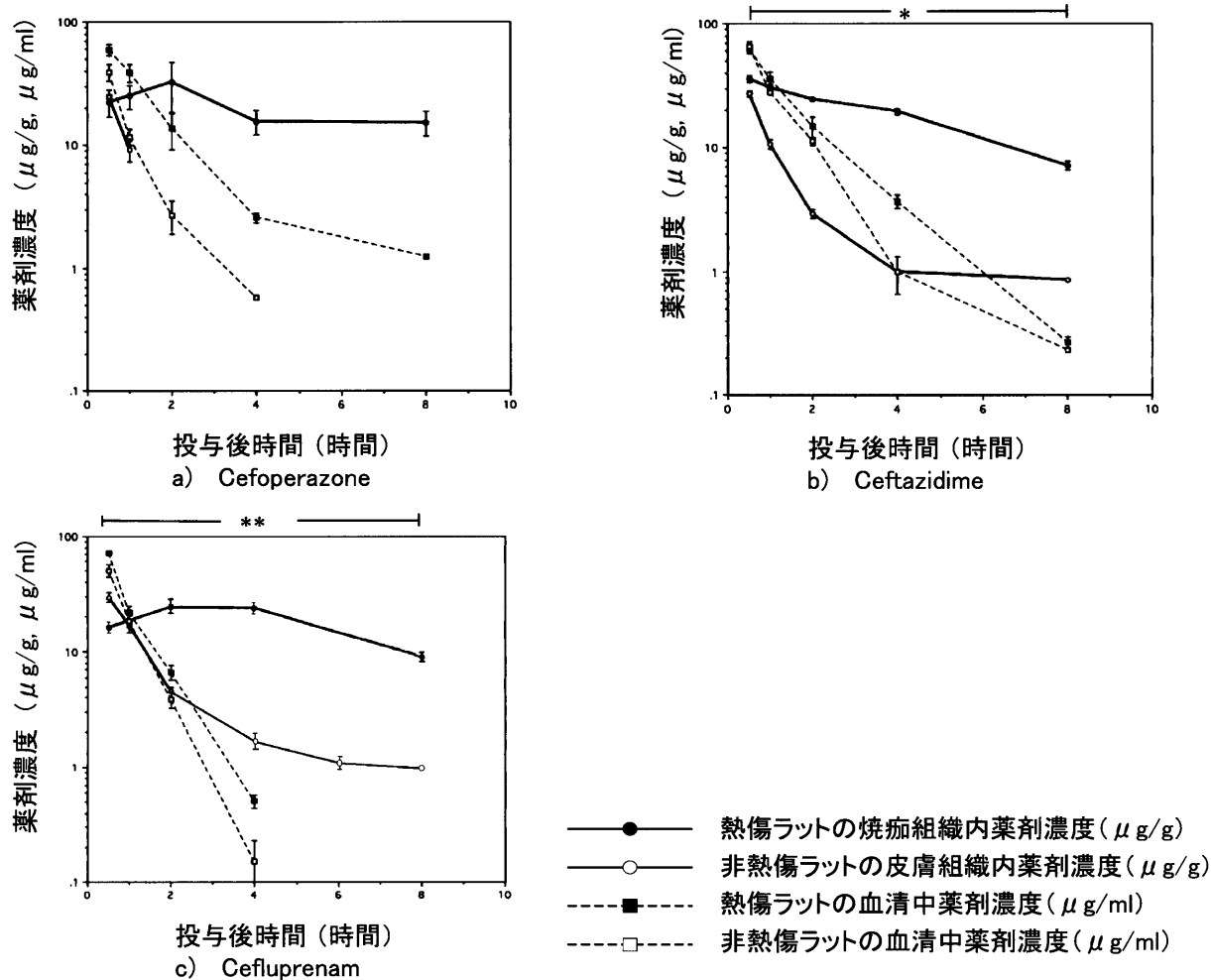


図3 実験1：経静脈的投与抗菌薬の焼痂組織 への移行性の検討結果

各薬剤、3匹のラットに抗菌薬 50 mg/kg を投与、一匹あたり 5 部位の焼痂組織内濃度を経時的に測定した。薬剤濃度は平均値±標準誤差で示す。CAZ と CFLP の焼痂組織内濃度は非熱傷ラットの皮膚組織内濃度と比較し有意に高値を示した (repeated measure ANOVA: CAZ $P=0.007^*$, CFLP $P=0.034^*$)。

においても $25.6 \pm 5.4 \mu\text{g/g}$ を示した (図 3c)。

焼痂組織内濃度は、CPZ, CAZ, CFLP の 3 剤すべてにおいて、薬剤投与 2 時間値以降も長時間高く維持する傾向を示し、非熱傷ラットの皮膚組織内濃度と比較し、より高値で CAZ と CFLP において有意差を示した (repeated measure ANOVA: CAZ $P=0.007$, CFLP $P=0.034$)。

2. 実験 2：汚染創における感染抑制効果の検討

1) 肉眼所見：非治療対照群では、5 匹 10 創の創部位すべてにおいて、創部の膿と周囲の発赤ならびに褐色斑状の組織融解を認めたが (図 4a)、治療群では、炎症所見はより軽微で組織融解を認めなかった (図 4b)。

2) 病理組織所見：非治療対照群では、5 匹 10 創部

位の組織すべてにおいて、皮下組織層を中心に焼痂組織内に高度の好中球浸潤が認められ、創感染の所見を示した (図 5a)。治療群では、5 匹 10 創部位の組織の真皮層に相当する焼痂組織内に好中球浸潤をわずかに認めた。

3) 創生菌数：非治療対照群では、5 匹 10 創部位中、1 創部位 (*S. aureus* $10^{3.96}$ cfu/g) を除き、9 創部位から 10^5 cfu/g 以上の *S. aureus* が検出され、10 創部位すべてから *P. aeruginosa* 10^7 cfu/g 以上が検出された (表 1)。治療群では、5 匹 10 創部位中、1 部位 (*P. aeruginosa* $10^{3.9}$ cfu/g) を除き、9 部位で *S. aureus* および *P. aeruginosa* の検出はなかった。また、両群から他種の細菌は検出されなかった。細菌数 10^5 cfu/g 以上の検出を感染と考えると、治療群では有意に感染を抑制できた (Mann-Whitney's

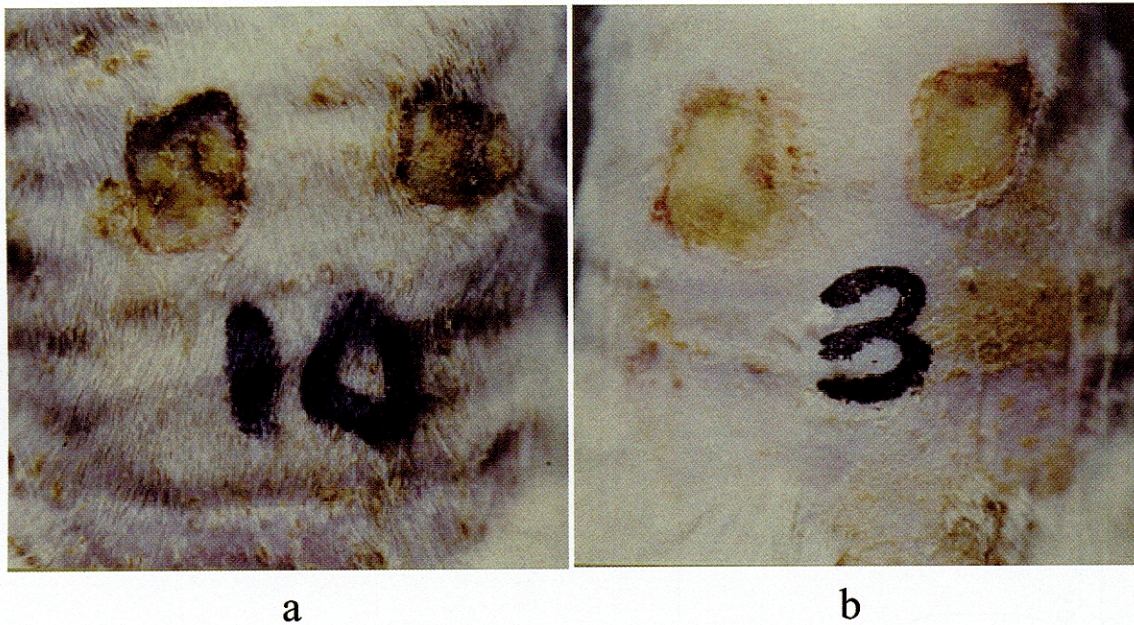


図4 実験2：汚染創における感染防止効果と薬剤移行性検討結果：受傷5日後のラット背部肉眼所見
a 非治療対照群では、5匹の創部位全てにおいて、創部の膿と周囲の発赤と褐色斑状の組織融解を認めた。
b 治療群では、炎症所見はより軽微で組織融解を認めなかった。

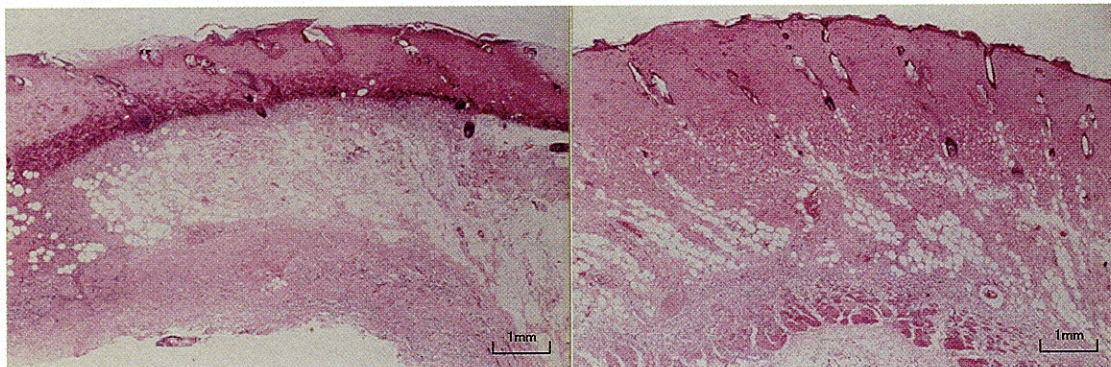


図5 実験2：汚染創における薬剤移行性と感染抑制効果の検討結果：熱傷作成5日後のラット背部創部の顕微鏡所見（HE染色）
a 非治療対照群では、5匹の創組織において、皮下組織層を中心に焼痂組織内に高度の好中球浸潤が認められ、創感染の所見を示した。
b 治療群では、5匹の創組織において真皮層に相当する壊死組織内に好中球浸潤をわずかに認めた。

U test : $P < 0.01$).

3. 実験3：熱傷後の薬剤投与時期と創汚染とが薬剤の組織移行性に与える影響の検討（表2）

汚染創における受傷後1時間投与群では、CFLPの焼痂組織内濃度の最高値は投与後2時間値で $24.3 \pm 3.2 \mu\text{g/g}$ を示し、その後も焼痂組織内濃度は維持する傾向を示し、投与後8時間値でも $9.0 \pm 0.9 \mu\text{g/g}$ 、投与後24時間値で $3.2 \pm 2.0 \mu\text{g/g}$ を示した。汚染創における受傷後1日投与群では、CFLPの焼痂組織内濃度の最高値は

投与後2時間値で $13.3 \pm 1.0 \mu\text{g/g}$ を示し、汚染創における受傷後1時間投与群と比較し最高値は低下し、投与後6時間値では $6.0 \pm 0.2 \mu\text{g/g}$ であった。対照とした非汚染創における受傷後1日投与群の焼痂組織内濃度の最高値は2時間値の $30.2 \pm 3.1 \mu\text{g/g}$ であるので、汚染創における受傷後1日投与群の焼痂組織内濃度は非汚染創の1/2以下まで低下していたことになる。また、汚染創における受傷後5日投与群では、CFLPの焼痂組織内濃度の最高値は投与後1時間値で $21.7 \pm 1.9 \mu\text{g/g}$ の高値を示したが、2時間値の $16.9 \pm 0.5 \mu\text{g/g}$ 、以降は低下し、

表1 実験2：汚染創における感染防止効果と薬剤移行性の検討：創生菌数

	ラット No.	焼痂組織内生菌数 (log 10 cfu/g)			
		<i>S. aureus</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
		右創	左創	右創	左創
非治療対照群 (5匹, 各2部位)	6	7.74	7.41	8.85	8.62
	7	5.53	6.18	8.46	8.92
	8	5.71	8.48	8.23	7.73
	9	6.52	7.36	8.78	8.53
	10	3.96	7.93	7.45	8.30
治療群 ^{a)} (5匹, 各2部位)	1	- ^{b)}	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
	4	-	-	-	3.90
	5	-	-	-	-

a) 創面に *S. aureus* 10²cfu/cm² および *P. aeruginosa* 10⁴cfu/cm² を塗布し、1時間後から cefluprenam (50 mg/kg) を経静脈的に5日間投与した。

b) 細菌数 10²cfu/g 以下を「-」とした。

細菌数 10³cfu/g 以上の検出を感染と仮定：Mann-Whitney's U test：P<0.01

投与後4時間値と6時間値においても、それぞれ 6.7±0.3 μg/g, 4.5±0.1 μg/g と低値を示し、同時期の非汚染創と比較しても焼痂組織内濃度は低下傾向を示した。汚染創では受傷からの投与時期が1時間後、1日後、5日後と遅くなるほど、投与初期、焼痂組織の薬剤濃度は有意に低下した (repeated measure ANOVA：P=0.006)。

4. 実験4：薬剤移行機序の検討：周囲皮膚からの移行の検討

図1のA-D区画のいずれの熱傷部位の焼痂組織内濃度は、投与1時間値では16.9 μg/g (C区画) から19.7±3.3 μg/g (D区画) 以内にあり、区画間で差を認めなかった (表3)。中心に位置するD区画の焼痂組織内濃度は、周囲と比較し、特に低くはなく、4時間値においても、区画間に優位の濃度差はなかった (投与1時間値：one-factor ANOVA：P=0.34, 投与4時間値：one-factor ANOVA：P=1.00)。

表2 実験3：熱傷後の薬剤投与時期と創汚染が、経静脈投与抗菌薬の組織移行性に与える影響の検討

1) 創汚染のないラットにおける受傷後薬剤の投与時期による影響

非汚染創	Cefluprenam 投与後の各時間の薬剤濃度					
	1時間	2時間	4時間	6時間	8時間	24時間
血清 (μg/ml)						
受傷後1日投与群 (3匹, 各6部位)	34.5±2.5	10.7±0.2	1.4±0.1	0.1	NT	ND
受傷後5日投与群 (3匹, 各6部位)	35.1±2.8	9.37±1.2	1.9±0.1	0.3	NT	ND
焼痂組織 (μg/g)						
受傷後1日投与群 (3匹, 各6部位)	21.3±2.6	30.2±3.1	17.9±0.7	8.0±1.0	NT	ND
受傷後5日投与群 (3匹, 各6部位)	38.3±2.4	29.6±0.4	14.1±1.1	6.2±1.3	NT	ND

数値は平均値±標準誤差を示す。NT：Not Tested, ND：Not Detected

2) 創汚染のあるラットにおける受傷後薬剤の投与時期による影響

汚染創	Cefluprenam 投与後の各時間の薬剤濃度					
	1時間	2時間	4時間	6時間	8時間	24時間
血清 (μg/ml)						
受傷後1日投与群 (3匹, 各6部位)	13.1±1.6	3.7±0.1	0.6±0.2	0.1±0.1	NT	<0.1
受傷後5日投与群 (3匹, 各6部位)	11.9±3.2	4.2±0.1	0.8	0.2	NT	<0.1
焼痂組織 (μg/g)						
受傷後1時間投与群 (3匹, 各6部位)	18.6±3.5*	24.3±3.2*	23.7±2.2*	NT	9.0±0.9	3.2±2.0*
受傷後1日投与群 (3匹, 各6部位)	12.5±0.9*	13.3±1.0*	11.0±0.5*	6.0±0.2	NT	<0.1*
受傷後5日投与群 (3匹, 各6部位)	21.7±1.9*	16.9±0.5*	6.7±0.3*	4.5±0.1	NT	<0.1*

数値は平均値±標準誤差を示す。NT：Not Tested, ND：Not Detected

受傷からの投与時期が1時間後、1日後、5日後と遅くなるほど、投与初期、焼痂組織の薬剤濃度は低下：repeated measure ANOVA：P=0.006*

表3 実験4：周囲皮膚からの薬剤移行性の検討

採取測定時間	焼痂組織内濃度 ($\mu\text{g/g}$)				血清中濃度 ($\mu\text{g/ml}$)
	A 区画	B 区画	C 区画	D 区画	
1 時間値 (2 匹)	17.6 $\pm$ 1.1*/***	18.1 $\pm$ 1.4*/***	16.9*/***	19.7 $\pm$ 3.3*/***	23.6
4 時間値 (2 匹)	8.5 $\pm$ 3.4**	8.8 $\pm$ 3.8**	8.5 $\pm$ 2.9**	8.6 $\pm$ 3.3**	4.4 $\pm$ 4.7
対照群：非熱傷 1 時間値 (1 匹)	20.5***	19.5***	19.2***	20.7***	14.4

数値は平均値 $\pm$ 標準誤差を示す。

D 区画と周囲の焼痂内濃度 (投与 1 時間値：one-factor ANOVA： $P=0.34^*$ ，投与 4 時間値：one-factor ANOVA： $P=1.00^{**}$)，A-D 区画の焼痂内濃度と対照群の組織内薬剤濃度 (投与 1 時間値：two-sided Student's t test： $P=0.02^{***}$)。

表4 実験5：熱傷創底からの薬剤移行機序の検討：Cefclidin 経静脈投与後の熱傷ラットの焼痂組織内濃度と血清中濃度，および非熱傷ラットの皮膚組織内濃度と血清中濃度

薬剤投与後時間		15 分	1 時間	4 時間	6 時間
熱傷ラット	焼痂組織	49.9 $\pm$ 2.1	42.8 $\pm$ 5.3	25.6 $\pm$ 5.4	9.0 $\pm$ 2.0
	血 清	106.0 $\pm$ 26.4	45.4 $\pm$ 6.2	2.9 $\pm$ 0.7	0.9 $\pm$ 0.2
非熱傷ラット	正常皮膚	77.7 $\pm$ 13.0	27.9 $\pm$ 0.8	2.0 $\pm$ 0.3	1.6 $\pm$ 0.2
	血 清	133.0 $\pm$ 10.8	52.5 $\pm$ 4.6	1.3 $\pm$ 0.4	0.4 $\pm$ 0.1

数値は平均値 $\pm$ 標準誤差を示す (n=3)。単位は焼痂と皮膚内濃度は $\mu\text{g/g}$ ，血清中濃度は $\mu\text{g/mL}$

5. 実験5：薬剤移行機序の検討：熱傷創底からの移行の検討

CFCL 投与後の焼痂組織内濃度は 15 分値が 49.9 $\pm$ 2.1 $\mu\text{g/g}$ で，正常組織の 77.7 $\pm$ 12.0 $\mu\text{g/g}$ と比較して低値を示したが，1 時間値以降ではすべてで正常組織内より高値を示した (表4)。

3 層に分割した焼痂組織内濃度は，表層では 1 時間値は 33.0 $\pm$ 11.0 $\mu\text{g/g}$ ，4 時間値は 20.2 $\pm$ 0.4 $\mu\text{g/g}$ であり，深層の 1 時間値の 20.5 $\pm$ 1.2 $\mu\text{g/g}$ ，4 時間値の 11.4 $\pm$ 0.6 $\mu\text{g/g}$ と比較し，焼痂組織の深層よりも表層で高濃度を示した (repeated measure ANOVA： $P=0.027$) (表5)。

表5 実験5：熱傷創底からの薬剤移行性の検討：Cefclidin 経静脈投与後の焼痂組織 3 層内の薬剤濃度

薬剤投与後時間	1 時間	4 時間
表 層	33.0 $\pm$ 11.0	20.2 $\pm$ 0.4*
中 層	26.4 $\pm$ 8.0	17.6 $\pm$ 1.0*
深 層	20.5 $\pm$ 1.2	11.4 $\pm$ 0.6*

数値は平均値 $\pm$ 標準誤差を示す。単位は $\mu\text{g/g}$ 。3 匹のラットにつき薬剤投与後，1 時間と 4 時間で各 1 部位ずつ焼痂組織を採取し 3 層に分離後に測定した。表層は深層よりも高濃度を示した。(repeated measure ANOVA： $P=0.027^*$)

6. 実験6：移行機序の検討；被覆材の影響

ガーゼで覆った創の CFLP 投与後 2 時間の焼痂内濃度は，深層で 28.9 $\pm$ 1.8 $\mu\text{g/g}$ であり，表層の 15.0 $\pm$ 0.9 $\mu\text{g/g}$ と比較し高値を示したが，投与後 4 時間では逆転し，表層が 27.7 $\pm$ 4.7 $\mu\text{g/g}$ となり，深層の 20.3 $\pm$ 4.5 $\mu\text{g/g}$ よりも有意に高値を示した (repeated measure ANOVA： $P=0.002$) (図6)。

一方，閉鎖性被覆材で覆った創の CFLP 投与後 2 時間の焼痂内濃度は，深層で 25.3 $\pm$ 0.9 $\mu\text{g/g}$ であり，表層の 14.9 $\pm$ 3.5 $\mu\text{g/g}$ と比較し高値を示したが，ガーゼで被覆した場合とは異なり，4 時間値でも深層 24.8 $\pm$ 1.1 $\mu\text{g/g}$ ，表層 18.1 $\pm$ 2.8 $\mu\text{g/g}$ と，表層の濃度の上昇は僅かであった (repeated measure ANOVA： $P=0.087$) (図7)。

考 察

現在，重症熱傷における創感染の予防や治療は，スルファジアジン銀含有クリームなどの局所療法剤の使用と，早期に焼痂組織を切除し植皮することである^{18, 19)}。しかし，局所療法剤のみでは受傷直後に創面に付着していた細菌は急速に皮下組織へ侵入して増殖することが知られており²⁰⁾，創面に塗布した抗菌性局所療法剤が皮下まで到達して，細菌の増殖抑制効果を発揮するには限界があ

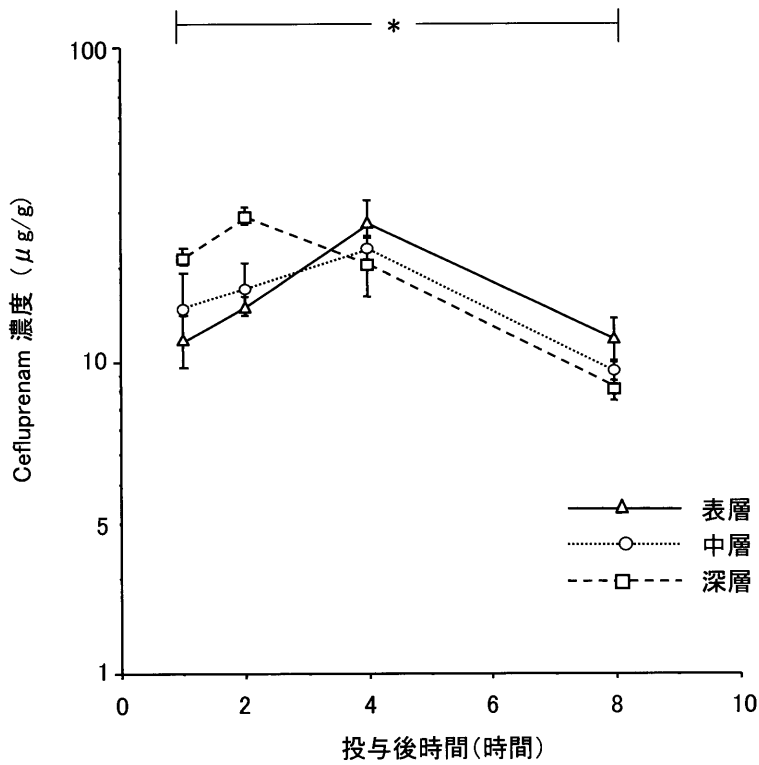


図6 実験6：ガーゼで覆った部位の焼痂組織内の cefluprenam 濃度

薬剤投与後2時間までは、深層の濃度が最高値 ($28.9 \pm 1.8 \mu\text{g/g}$: 2時間値) を示したが、投与後4時間からは逆転し、表層が最高値 ($27.7 \pm 4.7 \mu\text{g/g}$: 4時間値) を示した (薬剤濃度は平均値 $\pm$ 標準誤差, repeated measure ANOVA : $P=0.002^*$)

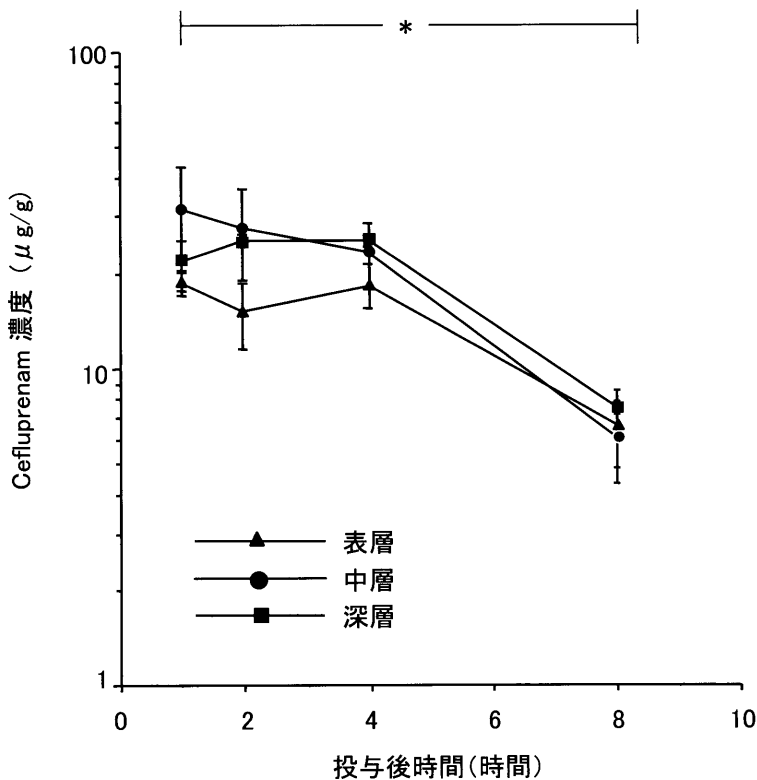


図7 実験6：閉鎖性被覆材で覆った部位の焼痂組織内の cefluprenam 濃度

薬剤投与後の焼痂内濃度の最高値は、 $31.2 \pm 11.4 \mu\text{g/g}$ (1時間値, 中層), $25.3 \pm 0.9 \mu\text{g/g}$ (2時間値, 深層) で、中層と深層が高値を示し、その後も最高値は $24.8 \pm 1.1 \mu\text{g/g}$ (4時間値, 深層) で、深層で僅かに高値を示したが、投与後4時間以降は創による差が明らかでなく、ガーゼで覆った焼痂組織内薬剤濃度とは異なる傾向を示した。 (薬剤濃度は平均値 $\pm$ 標準誤差, repeated measure ANOVA : $P=0.087^*$)

る²¹⁾。また、早期の壊死組織除去術と植皮では、既に感染が成立している創においては切除時、菌血症となり全身状態を悪化させる危険がある^{22, 23)}。

熱傷創感染に対する経静脈的投与抗菌薬の有効性や適応に関しては意見の一致がみられていない。感染菌に対し抗菌力を有する薬剤が血中から創内に十分移行し細菌増殖を抑制できれば、創感染の予防や治療ができるはずであるが²⁴⁾、焼痂組織に薬剤が十分に移行しなければ効果が得られないばかりか、不十分な薬剤濃度環境から耐性菌を増加させる可能性もある。

本研究では同様の条件を設定するため動物モデルを用い、経静脈投与抗菌薬のⅢ度熱傷組織への移行性、細菌感染抑制効果、受傷後時期ならびに創汚染の有無による薬剤移行性への影響、移行機序について検討した。

組織移行性の検討(実験1)で使用した各抗菌薬は、血清中濃度と同様に時間の経過と共に、非熱傷組織内(正常皮膚)濃度が、急速に低下したのに対して、焼痂組織内濃度は正常皮膚内濃度より高く、高濃度を長時間持続していた。特に、注目されるのは、投与後2時間以降では、焼痂組織内濃度が血清中濃度よりも高値を示したことである。

実験1で検討した複数の抗菌薬の焼痂組織への良好な移行を証明できたため、汚染焼痂組織において感染抑制効果を調べた(実験2)。良好な移行性を示した3種類のセフェム系抗菌薬のうちCFLPを用い、熱傷創感染の起原菌として臨床的に問題となっている*S. aureus*と*P. aeruginosa*の混合汚染によるⅢ度熱傷創での感染抑制効果を検討した^{25, 26)}。抗菌薬投与群では肉眼所見および組織所見共に感染は抑制されており、創生菌数の所見からもCFLPの経静脈投与には感染抑制効果があることが証明できた。

重症熱傷患者に対する経静脈的抗菌薬投与の適応は前述のごとく賛否が分かれているが、汚染された熱傷創を有する場合、既に創感染を起こし全身症状のある場合には抗菌薬投与が考慮されていることが多い。しかしながら、薬剤の焼痂組織への移行性や有効性は熱傷受傷後の投与時期や創汚染状況により異なる可能性がある。従来の検討ではこれらの点は考慮されていなかった。そのため、経静脈的抗菌薬の焼痂組織内への移行性への受傷後投与時期の影響と、創汚染の有無による影響を調べた(実験3)。その結果、受傷後投与時期が遅くなるほど、投与後1時間値は高いが焼痂組織内濃度は急速に低下し、薬剤は長時間組織内に留まらない。あるいは移行しにくいことが判明した。また、汚染創においては、非汚染創に比べて、組織内濃度は低く移行性が悪いことが明らか

となった。

本結果から、薬剤移行性は投与時期および細菌汚染により影響され、感染が成立していない受傷後早期では、薬剤の焼痂組織への移行性は良好であり感染抑制効果も期待できるが、これと比べて受傷後、長時間経過した汚染創では、移行性は低く創感染予防や治療を目的とした経静脈的抗菌薬投与の有効性は低いと考えられた。この結果を考慮すると、経静脈的投与抗菌薬の有効な投与方法は、汚染創を有する重症Ⅲ度熱傷患者に対して、受傷後数日以内の早期手術を前提とし、受傷直後から、焼痂組織への移行性に優れ汚染菌に対して抗菌力がある抗菌薬を選択し経静脈的に投与すれば、感染症発生の一時的な抑制は可能であると考えられ、創切除に際しては、術中の菌血症や術後感染の頻度を減らすことができるものと考えられた。

経静脈的投与抗菌薬の熱傷創への移行機序については、Ⅱ度熱傷創では熱傷受傷直後から起こる微小血管壁の透過性亢進により、滲出液とともに抗菌薬が組織間隙に移行するため血中濃度とほぼ比例して熱傷組織に移行することが知られている²⁷⁾。しかし生理的機能が破綻し循環が途絶したⅢ度熱傷の焼痂組織への薬剤の移行機序については十分に解明されていない。焼痂組織への経静脈的投与抗菌薬の移行については、焼痂組織下(熱傷創底)の充血層に血管から漏出した薬剤を含んだ滲出液が溜まり²⁸⁾、焼痂組織の毛嚢の孔や脂肪組織などの空胞状になった部位から、浸出液が毛細管現象により浸透し、さらに表面の蒸発により吸い上げられ薬剤が移行すると推測した報告もある²⁹⁾。しかし薬剤の移行経路を考えると、周囲の健常組織から焼痂組織へ移行している可能性もある。そこで本研究では、周囲の健常組織との境界の状況別に焼痂を区分して、焼痂内薬剤濃度を検討した。その結果、周囲の健常組織に多く境界を接するⅢ度熱傷と比較して、境界がなく、健常組織と離れている区画中心部の創における濃度との有意差がなかったことから(実験4)、周囲の健常組織からの薬剤が移行するのではないことが裏付けられた。従って経静脈的投与薬剤の焼痂組織への良好な移行は、焼痂組織下から創面に向かって移行している可能性が高いと考えられた。

仮に経静脈的投与抗菌薬の焼痂組織への移行が毛細管現象と創面での水分の蒸発で薬剤を含んだ滲出液が表層方向に吸い上げられることによるとすれば、焼痂内組織の薬剤濃度に差ができる可能性がある。実験5では焼痂組織を3層に分離しそれぞれ層の薬剤濃度を測定した。その結果、表層では中層と深層よりも薬剤濃度が高かった。この結果は、薬剤が焼痂組織下から表層に向かって

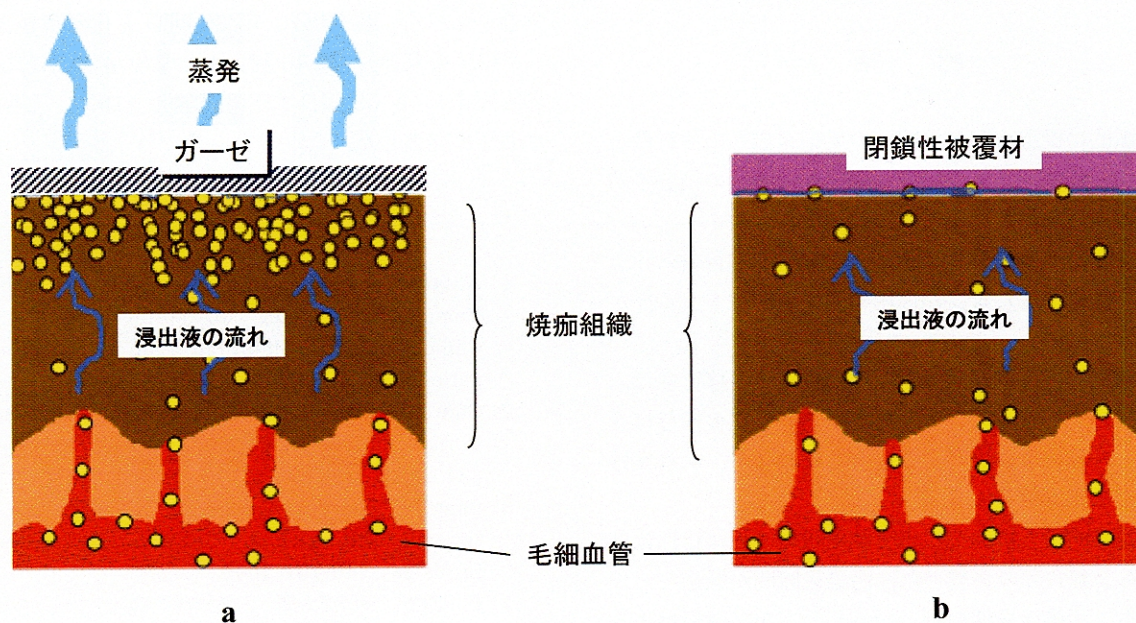


図8 経静脈内投与抗菌薬の焼痂組織への移行機序の模式図

- a ガーゼで被覆した創では、薬剤は浸出液と共に毛細管現象と蒸発により吸い上げられることで、浸出液中の薬剤（○）は表層に移動する。創表面で浸出液の水分が蒸発することにより、薬剤の濃縮がおこると考えられる。
- b 閉鎖性被覆材で被覆した創では蒸発がなく、薬剤を含んだ浸出液の移行は少ない。

移行し焼痂組織表面で浸出液が蒸発して薬剤が濃縮されているためと考えられた。

そこで、この移行機序に関する仮説を証するため、焼痂組織表面での蒸発を抑制した場合の焼痂内薬剤濃度について検討した。その結果、ポリウレタン膜の閉鎖性被覆材で創を覆い、蒸発を抑制した焼痂では、薬剤の移行性は低く、深層で濃度が高くなる傾向が認められたが、時間経過に従い各層間にほとんど差を認めなくなった（実験6）。この結果は、蒸発を抑制すると、焼痂組織への移行が妨げられることを示すものであると解釈できる。

以上の実験5と6の結果から、経静脈的投与抗菌薬は熱傷創底である焼痂組織下層から毛細管現象により滲出液と共に表層に移行するとともに、創面で水分が蒸発することにより滲出液が創面方向に移動し、創の表面で濃縮され、高濃度となるという仮説が裏付けられた（図8）。なお、実験5の表4と表5に示したデータは、同一のラットから採取した焼痂組織を3層にスライスしたものであるが、1時間値の全層では焼痂組織内薬剤濃度は $42.8 \pm 5.3 \mu\text{g/g}$ であるのに対し（表4）、これを3層にスライスした場合は、本来であれば平均が $40 \mu\text{g/g}$ 以上となるはずである（表5）。しかし、焼痂組織各層の薬剤濃度は明らかに低値を示している。この理由としては、デルマトームでスライスした際、組織液が失われるため、組織内濃度が一様に低値となったものと考えた。

良好な焼痂組織への薬剤の移行は、皮下に溜まった浸出液が毛細管現象と蒸発により、焼痂組織の毛嚢の孔や脂肪組織などの空胞状になった部位を通り、吸い上げられると考えられる。この現象を考慮すると、受傷後投与時期が遅いほど、また創汚染があるほど、焼痂組織への移行性が悪くなる理由は、受傷後、時間経過と共にフィブリンの浸出で焼痂組織が硬化すること、また細菌汚染創においては、細菌が産生するコラーゲナーゼなどによるコラーゲンの分解により、焼痂組織の空胞構造も破壊される³⁰⁾、ことに起因すると考えられる。

受傷後、数日後からの投与や汚染創では、焼痂組織内薬剤濃度は投与直後に高い濃度を示し、その後に急速に低下することが明らかになったが（実験3）、この現象は、閉鎖性被覆材でカバーしたときの焼痂組織内薬剤濃度の変化（実験6）と類似している。このことから、焼痂組織が変性し、特に創の表面の空胞構造が破壊されると、閉鎖性被覆材でカバーされたときと同様、浸出液の蒸発と吸い上げなくなり、焼痂組織下部に溜まった薬剤は滞留するため焼痂組織内の濃度が低下するものであると推測した。

総 括

経静脈的に投与された抗菌薬の焼痂組織への移行性とその機序を解明, および経静脈的投与抗菌薬の創感染防止効果の検討を行い, 以下の結論を得た.

1. 経静脈的投与抗菌薬はⅢ度熱傷組織に良好に移行し, 細菌で汚染されたⅢ度熱傷創の感染を抑制することができる.
2. 経静脈的投与抗菌薬のⅢ度熱傷組織への移行性は, 受傷後の投与時期に影響され, 受傷後早期の投与は, 受傷1～5日後に投与する場合と比較して, より良好に焼痂組織へ移行する.
3. 経静脈的投与抗菌薬のⅢ度熱傷組織への移行性は創汚染の有無により影響され, 汚染後時間が経過した創よりも, 汚染後早期の創に投与した方が抗菌薬はより良好に移行する.
4. 経静脈的投与抗菌薬の焼痂組織への良好な移行は周囲の健全組織からではない.
5. 経静脈投与抗菌薬は, Ⅲ度熱傷創を閉鎖性被覆材よりもガーゼで覆った場合に, 焼痂組織の表層へより良好に移行する.
6. 上記の4と5により, 経静脈投与抗菌薬の焼痂組織への移行は熱傷創底である焼痂組織下層から上方に向かい, その機序は毛細管現象による移行と蒸発による濃縮にあると考えられる.
7. 以上の結果は, 創汚染の可能性のあるⅢ度熱傷の創感染発生防止における経静脈的抗菌薬化学療法の有効性に関する基礎的情報となるものと考えられた.

謝 辞

本稿を終えるにあたり, 実験から発表, 論文作成に至るまでのご指導と論文のご校閲を賜りました慶應義塾大学医学部救急医学相川直樹教授に深甚なる謝意を表します.

本研究の一部は, 第31回ICAAC会議(Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy)(1991, Atlanta, USA), 第33回ICAAC会議(1993, New Orleans, USA), 第34回ICAAC会議(1994, Orlando, USA), 第9回ISBI会議(International Society for Burn Injuries)(1994, Paris, France), 第16回日本熱傷学会(1990, 東京都), 第17回日本熱傷学会(1991, 東京都), 第18回日本熱傷学会(1992, 箱根, 神奈川県), 第22回日本熱傷

学会(1996, 東京都), 第39回日本化学療法学会(1992, 東京都), 第40回日本化学療法学会(1993, 名古屋市), 第68回日本感染症学会(1994, 長崎市)において発表した.

文 献

- 1) Aikawa N, Shinozawa Y, Ishibiki K, Abe O, Yamamoto S, Motegi M, Yoshii H, Sudoh M: Clinical analysis of multiple organ failure in burned patients. *Burns* 13: 103-109, 1987
- 2) Church D, Elsayed S, Reid O, Winston B, Lindsay R: Burn wound infections. *Clin Microbiol Rev* 19: 403-434, 2006
- 3) Bang RL, Sharma PN, Sanyal SC, Najjadah IA: Septicaemia after burn injury: a comparative study. *Burns* 28: 746-751, 2002
- 4) 相川直樹, 篠澤洋太郎, 田熊清継: 熱傷治療最近の話題: 早期切除・植皮術. 手術, 44: 507-513, 1990
- 5) Muller M, Gahankari D, Herndon DN: Operative wound management. (Ed) Herndon DN, *Total burn care 3rd ed*, Saunders & Elsevier, p. 177-195, 2007
- 6) Durtschi MB, Orgain C, Counts GW, Heimbach DM: A prospective study of prophylactic penicillin in acutely burned hospitalized patients. *J Trauma* 22: 11-14, 1982
- 7) Donati L, Periti P, Andreassi A, Dioguardi D, Gliori A, Magliacani G, Marinelli LF, Masellis M, Barachini P, Micali G, Papadia F, Rapisarda V, Savoia A: Increased burn patient survival with once-a-day high dose teicoplanin and netilmicin. an Italian multicenter study. *J Chemother* 10: 47-57, 1998
- 8) Baxter, CR, Curreri, PW, Marvin, JA: The control of burn wound sepsis by the use of quantitative bacteriologic studies and subescher clysis with antibiotics. *Surg Clin N Amer* 53: 1509-1518, 1973
- 9) Moncrief JA: Burns II. Initial treatment. *JAMA* 242: 179-182, 1979
- 10) Seligman M: Burn wound infections. Acute management of the burned patient. (Ed) Martyn JAJ, WB Saunders, Philadelphia, p. 288-305, 1990
- 11) 田熊清継, 相川直樹, 石引久弥, 堀進悟, 篠澤洋太郎, 阿部令彦, 八谷 滋, 佐藤 勝: 細菌汚染を受けたⅢ度熱傷創に対する抗菌薬全身投与の効果に関する実験的研究. 熱傷(日本熱傷学会雑誌), 17: 9-15, 1991
- 12) 本間賢一, 吉田哲憲, 大浦武彦, 菅野弘之, 木村 中, 巖 文哉, 飯田和典, 本田耕一: Ceftazidimeの熱傷組織への移行についての検討. 熱傷(日本熱傷学会雑誌), 19: 220-225, 1993
- 13) 杉原平樹, 吉田哲憲, 皆川英彦, 川嶋邦裕, 堀内克己, 本田耕一, 竹内章晃, 本間賢一, 前多一彦, 竹野巨一, 木村 中, 堤田 新: 熱傷創感染症に対する pazufloxacin 注射薬の臨床的検討および組織移行性の検討. 日本化学療法学会雑誌, 48: 401-416, 2000

- 14) Varela JE, Cohn SM, Brown M, Ward CG, Namias N, Spalding PB : Pharmacokinetics and burn eschar penetration of intravenous ciprofloxacin in patients with major thermal injuries. *J Antimicrob Chemother* 45 : 337-342, 2000
- 15) Linares HA, Dolecek R, Aikawa N. Report of the laboratory services committee of the ISBI. *Burns* 30(6) : A1-13, 2004
- 16) Watanabe NA, Hiruma R, Katsu K : In vitro evaluation of E 1077, a new cephalosporin with a broad antibacterial spectrum. *Antimicrob Agents Chemother* 36 : 589-597, 1992
- 17) O'Connell CJ, Gehl J, Klyde B : Practical notes on antibiotic bioassay by the disk method. *Am J Clin Pathol* 59 : 384-387, 1973
- 18) Matsumura H, Yoshizawa N, Narumi A, Harunari N, Sugamata A, Watanabe K : Effective control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a burn unit. *Burns* 22 : 283-286, 1996
- 19) McManus WF, Goodwin CW Jr, Pruitt BA Jr : Subeschar treatment of burn-wound infection. *Arch Surg* 118 : 291-294, 1983
- 20) Teplitz C, Davis D, Mason A, Moncrief JA : Pseudomonas burn wound sepsis I, pathogenesis of experimental pseudomonas burn wound sepsis. *J Surg Res* 4 : 200-216, 1964
- 21) Vindenes H, Bjerknes R : Microbial colonization of large wounds. *Burns* 21 : 575-579, 1995
- 22) Sasaki TM, Welch GW, Herndon DN, Kaplan JZ, Lindberg RB, Pruitt BA : Burn wound manipulation-induced bacteremia. *J Trauma* 19 : 46-48, 1979
- 23) Park DH, Linares HA, Thompson PD : Surgical management of burn wound sepsis. *Surg Gynecol Obstet* 153 : 374-376, 1981
- 24) Leibovici L, Paul M, Poznanski O, Drucker M, Samra Z, Konigsberger H, Pitlik SD : Monotherapy versus beta-lactam-aminoglycoside combination treatment for gram-negative bacteremia, a prospective, observational study. *Antimicrob Agents Chemother* 41 : 1127-1133, 1997
- 25) Gang RK, Bang RL, Sanyal SC, Mokaddas E, Lari AR. *Pseudomonas aeruginosa* septicemia in burns. *Burns* 25 : 611-616, 1999
- 26) Cook N : Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* versus the burn patient. *Burns* 24 : 91-98, 1998
- 27) Nishizaki A, Okuda J, Aoyama H, Izawa Y, Mizuta E : Study of transfer of injected cefmenoxime to exudates (blister) of wounds of burn patients. *Chemotherapy* 33 : 1069-1073, 1985
- 28) Teplitz C : The pathology of burns and the fundamentals of burn wound sepsis. *Burns, a team approach.* (Ed) Artz CP, Moncrief JA, Pruitt BA, Saunders, Philadelphia, p. 45-93, 1979
- 29) Polk RE, Mayhall CG, Smith J, Kline BJ, Swensson E, Haynes BW : Gentamicin and tobramycin penetration into burn eschar. *Arch Surg* 118 : 295-302, 1983
- 30) Robson MC, Edstrom LE, Krizek TJ, Groskin MG : The efficacy of systemic antibiotics in the treatment of granulating wounds. *J Surg Res* 16 : 299-306, 1974