

Bakteriers effekt på sammensætningen af sårvæsken i kroniske sår.

Vi ved at bakterier kan være farlige, endda slå os ihjel. Oftest er de dog blot ubudne gæster, som giver lokale infektioner eller dårlig sårheling. Hvorfor vil den samme type bakterie nogle gange optræde som morder og andre gange som en irriterende myg i soveværelset? Det vil vi gerne blive klogere på.

Forestil dig at du har fået et sår på ben. Det var et hændeligt uheld da dit skinneben ramte cykelpedalen. Heldigvis var såret ikke noget særligt, så det fik et plaster på. Nogle dage senere blev sårangivelserne røde og du begyndte at få ondt. Du går til din egen læge og da hun mistænker at der er infektion i såret, tager hun en prøve fra og giver dig en recept på antibiotika.

Prøven, der bliver taget, skal vise hvilke bakterier der er i såret og om de kan behandles med den antibiotika, der bliver givet. Antibiotikaresistens er heldigvis ikke så udbredt i Danmark som i de fleste andre lande, men det er vigtigt at behandlingen er målrettet de bakterier, vi ønsker at behandle. Derfor er prøven et vigtigt redskab. Når vi har resultatet af prøven, kan vi justere antibiotikabehandlingen i henhold til bakterierne og effekten på såret.

2-3 % af den voksne befolkning har sår der har vanskeligt ved at hele. Det er vanskeligt at finde ud af hvor meget det koster samfundet at behandle disse sår, men det skønnes at 3% af det samlede sundhedsbudget, svarende til 5,5 Mia DKK, bruges på behandlingen af disse sår.

Antibiotika resistens er alvorligt for den enkelte og er dyrt for samfundet. I de fleste tilfælde findes der antibiotika der kan behandle infektionerne, men det er ofte dyre behandlinger og de kræver ofte hospitalsindlæggelser. I 2017, alene i USA, skønnes det at antibiotikaresistens kostede 13 milliarder kroner ekstra at behandle

De bakterier der blev fundet i dit sår, kunne heldigvis behandles og efter 10 dage synes infektionen af være væk. Dit sår ser bare ikke ud til at hele alligevel. Du bliver derfor henvist til behandling på hospitalet.

På Videncenter for Sårheling på Bispebjerg Hospital arbejder læger, sårsygeplejersker, fodterapeuter og forskere sammen om at behandle sår, der har vanskeligt ved at hele. De fleste af de sår vi behandler kan vi med standardbehandling få til at hele. Vi regner med at 85% af de sår vi får henvist vil hele på 3-6 måneder. 15% af sårene har vanskeligt ved at hele. Årsagerne til at sårene heler langsomt, eller har meget vanskeligt ved at hele, er mange. Tilstedeværelsen af bakterier spiller sandsynligvis en stor rolle og i nogen tilfælde hovedrollen.

Behandlingen du får på hospitalet, betyder at du skal have skiftet bandage tre gange om ugen hos en sårsygeplejerske. Ud over bandagen på selve såret bliver hele benet bandageret med kompressionsbind Det skal modvirke hævelse af benet. Bandagerne gør det vanskeligt at komme i bad uden at bandagen bliver våd og at få arbejde, familieliv og fritidsaktiviteter til at hænge sammen. Det kan være at du også har smerter i såret, smerter der holder dig vågen eller vækker dig i løbet af natten. I svære tilfælde kan sårene lugte grimt og betyde at du isolerer dig.

Hvis vi tager prøver fra sår der ikke vil hele og sender dem til vores mikrobiologer, så vil de altid finde bakterier. Hvis vi tager en vævsprøve og ser på den i et mikroskop, så vil vi finde områder i såret der huser mange bakterier og områder hvor der tilsyneladende slet ikke er nogle bakterier. Vi

Klaus Kirketerp-Møller
Overlæge, Ph.d.

ved også at de bakterier, der ligger nærmest overfalden i sårene, ikke er de samme som dem der ligger længere nede.

Der bliver ofte givet antibiotika på grund af bakterierne i sårene. Det er dog aldrig vist at antibiotikabehandling fremmer helingen og vi vil ofte finde de samme bakterier i sårene trods antibiotikabehandling, selvom vi ved at bakterierne er følsomme for behandlingen. Det skyldes ikke at bakterierne er resistente. Det skyldes at bakterierne organiserer sig i klumper. Ofte ligger de en slags "slim" som består af materiale dannet af bakterierne, men sandsynligvis også fra den organisme de har invaderet. Denne "slim" betegnes biofilm. Biofilm blev først påvist i de belægninger man får på tænderne, hvis man ikke børster tænder. Disse belægninger er med til at forårsage huller i tænderne, caries, hvis de ikke fjernes. Undersøgelser har vist at bakterierne, i disse klumper, er langt mindre følsomme for antibiotika. Det kaldes tolerans. I modsætning til resistens, som er en tilstand som bakterierne har "arvet" og giver videre til de næste generationer, er tolerans betinget af måden bakterierne er organiseret på. Bakterierne kommunikerer og ændrer adfærd, når de er mange sammen i biofilm.

Sårvæsken fra kroniske sår er forskellig fra sårvæske fra akutte sår. Tidligere undersøgelser har vist at der er langt højere niveauer af visse proteinnedbrydende enzymer i sårvæsken fra kroniske sår end fra akutte. Der er også en højere grad af inflammation i såret. Det kan vi måle på forskellige inflammationsmarkører og visualisere i sårene på grund af hvide blodlegemer kaldet granulocytter. Det er blevet postuleret at kroniske sår er fanget i denne inflammation og ikke, som ønsket, kan gå videre i den næste helingsfase.

Der rejser sig mange spørgsmål. Er det bakterierne der er årsagen til at vedligeholde inflammationen i de kroniske sår, så de ikke heler? Opfører bakterierne sig anderledes i såret hvis de er organiseret i klumper, i biofilm? Er der forskel på hvilke bakterier der er i sårene?

Vi ville gerne undersøge om der er en sammenhæng mellem bakterierne i de kroniske sår og sammensætningen af sårvæsken. Vi har opsamlet sårvæske hos patienter og sammenholdt det med fundet af bakterier i sårvævet. Vi har også lavet laboratorieundersøgelser hvor vi udsætter granulocytter fra raske forsøgspersoner for bakterielle produkter. Her har vi undersøgt om forskellige livsbetingelser for bakterierne ændrer effekten af disse produkter.

For overskuelighedens skyld vil vi koncentrere os om to bakterier, *Pseudomonas aeruginosa* og *Stafylococcus aureus*, her forkortet til henholdsvis til Pseudomonas og Stafylokok og vi vil nøjes med at se på to enzymer, nemlig *Matrix Metallo Proteinaserne* MMP-8 og MMP-9. Disse enzymer er nødvendige i den normale sårheling, men findes høje mængder i kroniske sår. Mange forskere mener at den store mængde af disse enzymer kan være årsagen til at kroniske sår ikke heler.

I vores laboratorieforsøg ville vi undersøge om bakterierne kunne stimulere granulocytter, en type immuncelle, til at udskille MMP-8 og MMP-9. I så fald ville det muligvis kunne forklare den forhøjede mængde af de to enzymer i sårvæsken fra kroniske sår. Vi dyrkede derfor bakteriekulturer under forhold der fremmer dannelsen af biofilm. Væsken, bakterierne blev dyrket i, blev herefter filtreret, så der ikke var bakterier i og dernæst tilsat en opløsning med granulocytter fra raske forsøgspersoner. Vi målte koncentrationen af MMP-8 og MMP-9 efter en time og sammenlignede med opløsninger, der var tilsat samme dyrkningsmedie, men uden at der var dyrket bakterier, det man kalder en kontrol. Vi fandt at de to bakterier påvirker granulocytterne til at frigive de to enzymer. Stafylokokken mest og Pseudomonas lidt mindre.

Klaus Kirketerp-Møller
Overlæge, Ph.d.

Vil vi så kunne finde højere mængder af disse to enzymer i de kroniske sår, hvis der samtidigt er et positivt fund af disse to bakterier?

Vi målte derfor samme enzymer i sårvæsken og sammenholdt det med fundet af bakterier. Vi konstaterede at både MMP-8 og MMP-9 var højere i sårvæsken fra de kroniske sår sammenlignet med akutte sår. Vi kunne også konstatere at MMP-8 i sårvæsken stammede fra granulocytterne. Vi fandt en sammenhæng mellem Stafylokokken og den forhøjede mængde af MMP-8, men vi kunne ikke vise en sammenhæng mellem Pseudomonas og den forhøjede mængde MMP-8. Vi fandt ikke sammenhæng mellem tilstedeværelsen af hverken Stafylokokken eller Pseudomonas og den forhøjede mængde MMP-9. Alligevel kunne vi konstatere at helingen af sårene var påvirket af tilstedeværelsen af Pseudomonas i negativ retning, idet kun 25% opnåede fuld heling hvis der var tilstedeværelse af Pseudomonas.

Disse kliniske undersøgelser giver derfor ikke noget entydigt svar på om bakteriernes tilstedeværelse er årsagen til de forhøjede mængder MMP-8 og MMP-9 i kroniske sår sammenlignet med akutte sår. Pseudomonas kan, i vores laboratorieforsøg, både stimulere til frigivelse af MMP-9 men også nedbryde det. Stafylokokken stimulerer til frigivelse af MMP-8 fra granulocytten og vi ved at MMP-8 især stammer fra netop granulocytten.

Hvad er årsagen til denne inkonsistens?

Når vi undersøger bakterier, så undersøger vi tusinder eller millioner ad gangen. Deres fortrukne måde at leve på er i klumper. I disse klumper kommunikerer de med hinanden. Denne kommunikation påvirker den enkelte bakteries måde at leve på. Samtidigt har hver enkelt bakterie et unikt nær-miljø hvorfra den optager næring og ilt og de signalmolekyler, som de kommunikerer med. Bakterierne på overfladen af klumperne har et andet miljø end de bakterier der ligger inde midt i klumpen. Der er derfor forskel på hvordan de reagerer, men når vi måler på dem, uanset om vi måler på det de udskiller eller på hvilke gener der er aktiveret hos bakterierne, så måler vi et gennemsnit på alle bakterierne. Hvis en bakterie udskiller et enzym eller et andet stof, så vil effekten af dette være størst i det umiddelbare nær-miljø. Altså i det samme nær-miljø som den optager de førnævnte stoffer fra. Sandsynligvis vil der være stor forskel på hvordan de enkelte bakterier reagerer, afhængigt af deres nær-miljø.

For at finde ud af hvordan bakterierne reagerer, bliver vi nødt til at undersøge bakterierne på andre måder end vi gør i dag. Det er nødvendigt at finde metoder til at undersøge den enkelte bakterie på i stedet for at undersøge tusinder.

Det har fået os til at beskrive bakterierne og interaktionen med omgivelserne på en ny måde. Vi kalder det zonemodellen. Området omkring bakterien kalder vi zone 1, bakterierne samlet i slimet kalder vi zone 2 og området lige uden for slimet, der hvor organismen prøver at bekæmpe bakterierne, kalder vi zone 3. Det vil gøre det nemmere at diskutere, når vi ved hvorfra vores prøver stammer fra eller hvor vores eksperimenter påvirker bakterierne. Det vil også hjælpe os til at udvikle nye målemetoder, som kan måle bakteriernes nær-miljø og dermed finde ud af hvad der virkeligt betyder noget for at bakterierne ændrer adfærd.

Det er ikke kun bakteriers påvirkning af sårhelingen der vil kunne profitere af at undersøge bakterierne enkeltvis. Alle kroniske infektioner som KOL, cystisk fibrose, infektioner med fremmedlegemer og knoglebetændelse indeholder bakterier i biofilm. Biofilm giver ikke kun gener

Klaus Kirketerp-Møller
Overlæge, Ph.d.

for mennesker. Infektioner er årsag til sygdom og nedsat indtjening i landbrugets dyrehold. Skibsfart og olieindustrien er også påvirket af biofilm, såkaldt bio-fouling, som blandt andet kan ses ved belægninger på skibsskrog.

Vi har brug for at kende mekanismerne bag bakteriernes måde at reagere på for at kunne behandle infektioner. Antibiotika-æraen er ved at rinde ud. Resistensudviklingen blandt bakterier er foruroligende og der er langt mellem udviklingen af nye antibiotika. Bakterier i biofilm, via deres øgede tolerance over for antibiotika, er med til at resistensudviklingen øges på grund af behandlingssvigt. Hvis vi kan forhindre bakterierne i at organisere sig i biofilm eller narre dem til at tro at de ikke er det, vil vi kunne behandle og forebygge infektionerne med større succes.

Machiavelli sagde at man skulle holde sine venner tæt på og ens fjender endnu tættere. Vi skal tæt på bakterierne. Helt tæt.