

Introduction

La simple présence de bactéries dans les plaies chroniques n'indique pas forcément une infection active et n'empêche pas nécessairement sa cicatrisation. Les plaies contaminées contiennent des bactéries, mais on peut observer ou non une réaction de l'hôte. Toutefois, il y a un point à partir duquel les bactéries commencent effectivement à inhiber la cicatrisation, ce qui provoque une infection locale, qui finit par devenir systémique si elle n'est pas traitée. Ce point de pathogénicité est le moment où les bactéries commencent à sécréter des protéases. Le présent document discute l'activité des protéases bactériennes (BPA) comme marqueur objectif de la pathogénicité et comme moyen d'identifier les plaies progressant vers l'infection.

Auteurs : Dr. Thomas Serena, Dr. Paul Chadwick, Prof. Franck Duteille, Prof. Marco Romanelli, Dr. Severin Lächli, Dr. José Luis Lázaro Martínez. Pour les détails complets sur les auteurs, voir page 5.

Encadré 1 Protéases de l'hôte : revue

Il est de plus en plus largement admis que les cellules de l'hôte et les cellules bactériennes peuvent travailler en synergie pour provoquer une dégradation du tissu dans le lit de la plaie¹.

Les principaux groupes de protéases impliqués dans la cicatrisation des plaies sont les métalloprotéinases matricielles et les protéases à sérine (par exemple, l'élastase neutrophile humaine). Lors de la cicatrisation normale d'une plaie, les protéases dégradent les protéines de la matrice extracellulaire endommagées et les matériaux étrangers, permettant à la plaie de se refermer².

Des preuves montrent que dans certaines plaies chroniques, les protéases sont sensiblement élevées; ces protéases en excès — produites par les cellules de l'hôte — endommagent la matrice extracellulaire, et dégradent les facteurs de croissance et leurs récepteurs².

Encadré 2 Définitions utiles³

- **Pathogène :** microorganisme qui provoque ou qui peut provoquer une maladie
- **Pathogénicité :** capacité d'un microorganisme à provoquer une maladie
- **Virulence :** mesure quantitative de la probabilité qu'un pathogène provoque une maladie
- **Facteur de virulence :** molécule produite par les bactéries pour faciliter la colonisation, répliation et la propagation dans l'organisme hôte

Que sont les protéases bactériennes?

Les protéases sont des enzymes qui agissent sur certaines molécules, les protéines, les dégradant en peptides et acides aminés. Les protéases bactériennes sont des facteurs de virulence sécrétés par nombre de bactéries fréquemment présentes dans les plaies chroniques, notamment *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis* et *Enterococcus faecalis*⁴.

Comment les protéases bactériennes influencent-elles le développement de l'infection?

Les protéases bactériennes dégradent les protéines des tissus de l'hôte, altèrent les défenses immunitaires de l'hôte et favorisent la prolifération locale et systémique des bactéries. Les protéases bactériennes bloquent les fonctions des cellules immunitaires en inhibant la chimiotaxie, empêchant la phagocytose et en altérant la communication des cellules immunitaires (Figure 1)⁴⁻⁶. De plus, les protéases bactériennes peuvent stimuler la production de protéases humaines/de l'hôte via une activation du système immunitaire (Encadré 1).

Qu'est-ce que le continuum de l'infection des plaies?

Si de nombreuses plaies parviennent à cicatriser malgré la présence de bactéries, pour d'autres plaies, les bactéries peuvent provoquer diverses complications, telles que :

- **Dégradation des tissus**
- **Douleur**
- **Blocage de la capacité de cicatrisation et retard de cicatrisation de la plaie**
- **Complications potentiellement fatales, comme une infection systémique.**

L'influence des bactéries dans une plaie peut être décrite selon un continuum de importance clinique (Figure 2), augmentant les niveaux de vigilance ou d'intervention requis lorsque la plaie est en période de pathogénicité, d'infection locale ou d'infection systémique. Les différents stades d'importance clinique sont déterminés par la pathogénicité bactérienne, ainsi que par la réponse de l'hôte et par les signes d'inflammation ou de lésion des tissus³.

Quels sont les défis auxquels on peut être confronté lors de l'évaluation des plaies affectées par des bactéries?

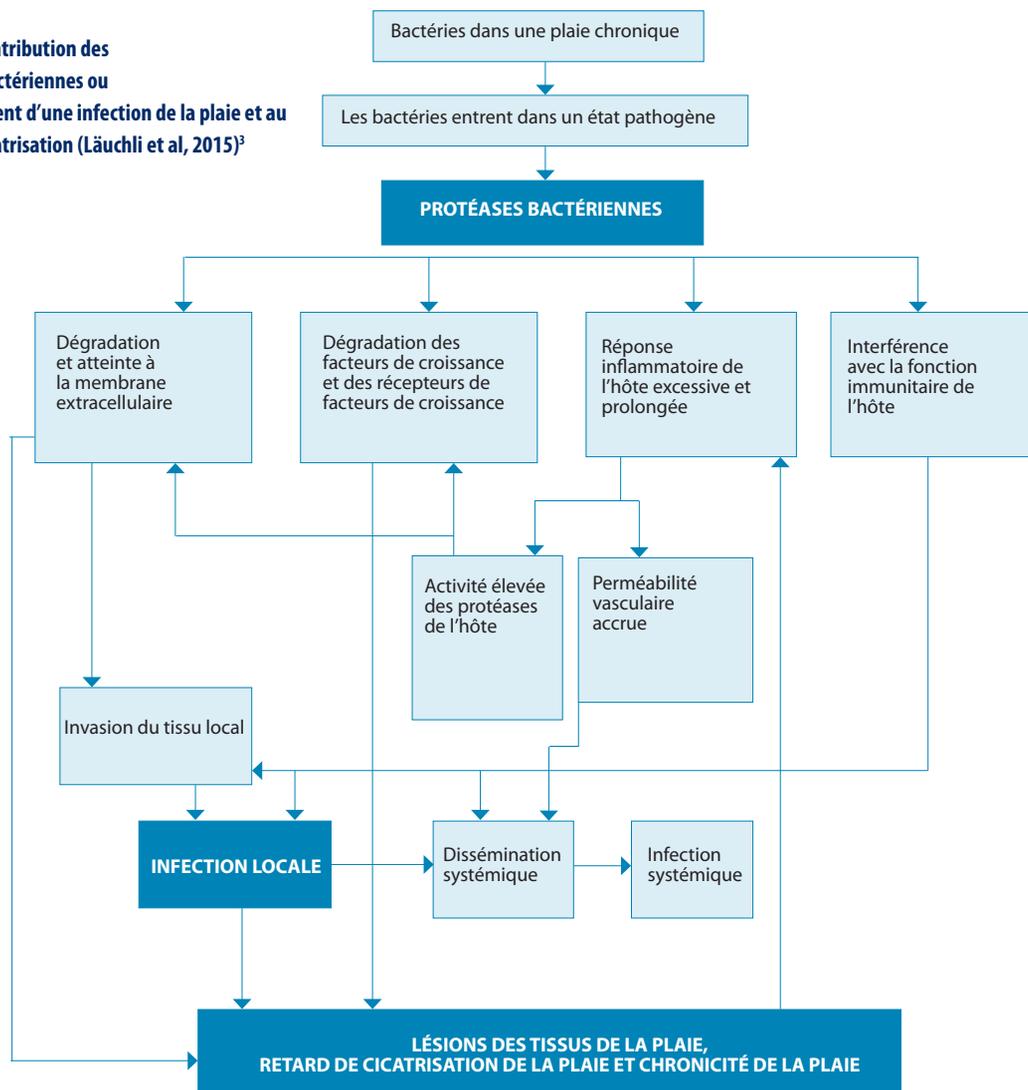
Manque de signes cliniques :

La réponse de l'hôte aux bactéries et à leurs protéases comprend souvent des marqueurs inflammatoires tels que l'interleukine-1 bêta (IL-1 β) ou le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α). Toutefois, les signes cliniques typiques d'une infection peuvent ne pas toujours être présents si la réponse inflammatoire du patient est affaiblie; par exemple, en présence de comorbidités telles que le diabète ou des immunodéficiences⁷.

BPA En un Clin d'œil



Figure 1 : Contribution des protéases bactériennes ou développement d'une infection de la plaie et au retard de cicatrisation (Läuchli et al, 2015)³



Stades du continuum de l'infection des plaies chroniques	Vigilance requise		Intervention requise	
	Non infectée/contamination	Colonisation	État de pathogénicité	Infection systémique
	La présence de bactéries dans une plaie sans réaction de l'hôte	Des bactéries sont présentes dans la plaie et peuvent se multiplier, mais elles ne déclenchent pas de réaction de l'hôte	Les bactéries se multiplient, expriment des protéases qui attaquent les tissus, et retardent la cicatrisation ; en général associée à une exacerbation de la douleur ; une réaction manifeste de l'hôte peut être absente ou bien présente	Les bactéries se multiplient, comme dans la colonisation critique/l'infection locale, mais provoquent aussi une réponse systémique de l'hôte, par ex. fièvre ou hypothermie, tachycardie

Pathogénicité bactérienne accrue et problèmes cliniques →

Figure 2 : Le continuum d'infection des plaies chroniques (Adapté de : Siddiqui and Bernstein, 2010; Collier, 2004; Kingsley et al, 2004; WUWHS, 2008) ⁸⁻¹¹

Étude 1 Serena et al, 2015 – ont évalué la relation entre la charge microbienne totale et les niveaux de BPA dans les plaies⁷

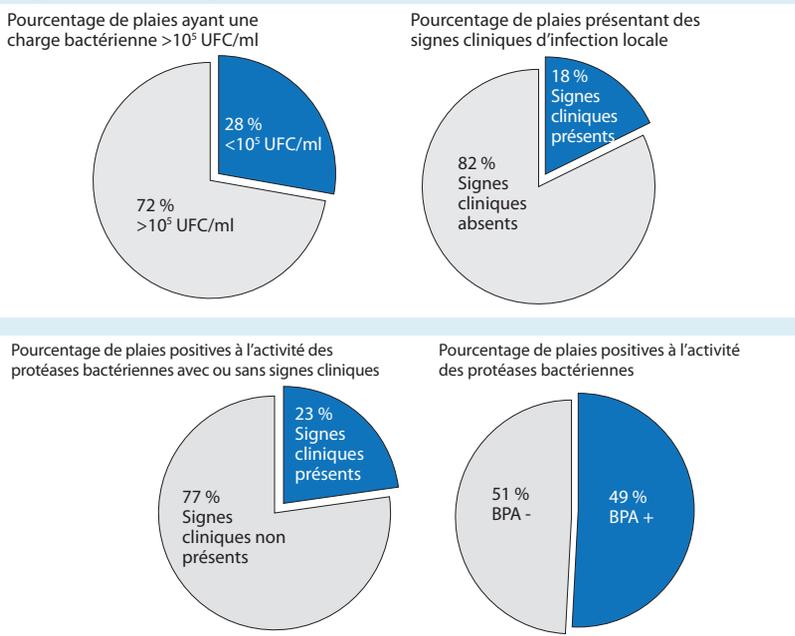
Des échantillons ont été prélevés en double sur 186 plaies chroniques. Un échantillon a été testé avec un prototype de test chromatographique rapide des protéases bactériennes, tandis que l'autre a été extrait pour un test des protéases en laboratoire (utilisant la caséine comme substrat, avec un inhibiteur de la HNE [essai « iCasein »]), pour l'analyse des cytokines IL-1 β et TNF- α , et pour une culture visant à établir la microbiologie quantitative.

Les résultats ont démontré que les niveaux moyens de cytokines pro-inflammatoires IL-1 β et TNF- α sont significativement plus élevés dans les plaies positives au test de la BPA que dans les plaies négatives au test de la BPA (respectivement $p < 0,0001$ et $p = 0,0002$). De plus, lorsque le test de la BPA a été mis en regard de la charge bactérienne, un nombre nettement plus élevé de plaies a donné des résultats positifs à un test de la BPA rapide réalisé sur place lorsque la charge bactérienne totale dépassait 10^5 UFC/ml.

Étude 2 Serena et al, 2015 – ont évalué la relation entre les niveaux de BPA, les signes cliniques d'infection et la charge bactérienne de la plaie⁷

Des échantillons d'exsudat ont été prélevés dans 366 plaies chroniques (dont ulcères de pression, ulcères du pied diabétique (UPD), ulcères de jambe et autres plaies non cicatrisantes). Ces échantillons ont été extraits pour être soumis au test « iCasein » et à l'évaluation du clinicien pour détecter des signes cliniques d'infection, sur la base de l'acronyme NERDS (Non-healing, Exudative, Red and bleeding, Debris, Smell, (Non cicatrisante, Exsudative et sanguinolente, Débris et Odeur) - la présence de trois de ces critères « NERDS » ou plus est considérée comme indicatrice d'une infection locale [Sibbald et al, 2003]). Lorsqu'un seuil d'activité de 125 mUnités/échantillon était dépassé au test iCasein, la plaie était classée comme positive à la BPA. Un échantillon supplémentaire a été prélevé pour une culture et une évaluation quantitative de la microbiologie.

Sur les plaies testées, 72 % présentaient des taux de bactéries dépassant 10^5 UFC/ml, indiquant une charge bactérienne élevée. Seule une petite proportion présentait au moins trois signes cliniques d'infection (18%). Contrairement à la charge bactérienne et aux signes cliniques, près de la moitié des plaies présentaient des résultats au test de la BPA (49 %); plus des trois quarts de ces plaies (77 %) ne présentaient pas de signes locaux d'infection. On suspecte qu'elles étaient en état pathogène, mais n'avaient pas encore évolué vers une infection manifeste.



Difficulté à interpréter les analyses microbiologiques :

Si une charge bactérienne de $>1 \times 10^5$ UFC/ml est le seuil classiquement utilisé pour

diagnostiquer l'infection d'une plaie, cette valeur peut n'être pas adaptée à toutes les plaies; par exemple, la cicatrisation peut être retardée en-dessous de ce seuil chez des

patients immunodéprimés, ou en présence de bactéries particulièrement virulentes, tandis que d'autres plaies dont la charge est au-delà de ce seuil peuvent cicatriser sans intervention. De plus, dans certains cas, les analyses microbiologiques peuvent être difficiles à interpréter, notamment en présence de plusieurs bactéries. C'est pourquoi les résultats de cultures ne doivent pas remplacer le jugement clinique, mais ils peuvent, le cas échéant, servir à guider le choix d'un traitement antimicrobien^{12;13}

Inflammation chronique versus infection :

Les plaies peuvent être prises dans un cycle perpétuel d'inflammation en partie attribuable aux bactéries; il endommage la matrice extracellulaire et dégrade les facteurs de croissance, stimulant la libération de médiateurs inflammatoires et provoquant une réponse inflammatoire renforcée, ce qui endommage encore les tissus et retarde la cicatrisation. C'est pourquoi il est important de faire la différence entre inflammation et infection^{14;15}

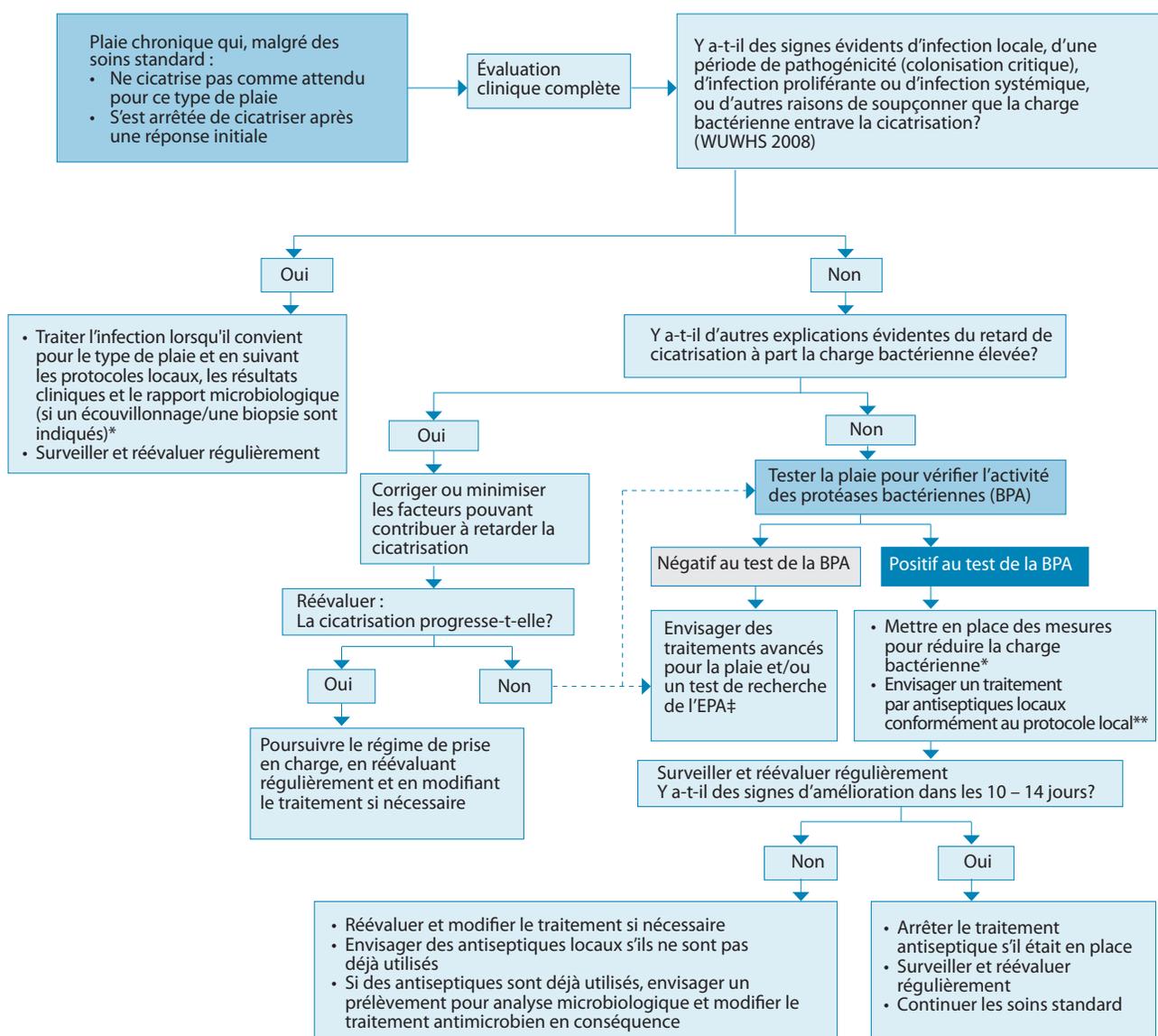
L'activité des protéases bactériennes pourrait-elle être un marqueur utile de la pathogénicité?

Les bactéries dans les plaies chroniques peuvent être de nature non-pathogène ou pathogène. Une indication de la pathogénicité des bactéries est l'expression de facteurs de virulence enzymatiques, comme les protéases bactériennes, qui peuvent stimuler une inflammation excessive chez l'hôte et finalement, endommager le tissu de la plaie et empêcher la réponse immunitaire.

Les résultats de deux études récentes conduites par Serena et al (2015)⁷ démontrent que l'activité des protéases bactériennes (BPA) peut servir de marqueur d'une « période de pathogénèse » dans les plaies chroniques (Étude 1 et Étude 2). À ce titre, rechercher la présence d'une BPA dans l'exsudat de la plaie pourrait être une manière utile de détecter des bactéries pathogènes capables de provoquer une infection avant l'apparition de signes cliniques.

PRODUITS POUR LA PRATIQUE

Figure 3 : Arbre décisionnel pour l'utilisation du test de l'activité des protéases bactériennes sur le lieu des soins (Adapté de : Lächli et al, 2015)³



***Incorporer au plan de prise en charge :**

- Optimisation de la réponse de l'hôte : nutrition, hydratation, contrôle de la glycémie, irrigation tissulaire
- Réduction de la charge bactérienne : prévenir une surcontamination ou une contamination croisée, faciliter le drainage de la plaie, débrider la plaie, augmenter la fréquence de changement des pansements, nettoyer la plaie à chaque changement, éliminer l'excès d'exsudat, traiter les mauvaises odeurs, antiseptique local +/- antibiotique(s) systémique(s)
- Des mesures générales, comme le traitement symptomatique, l'éducation des patients et des soignants, l'optimisation de la coopération des patients, assurer un soutien psychosocial (WUWHS, 2008)

**Les antibiotiques systémiques sont généralement réservés aux patients présentant une infection en propagation ou systémique; éviter l'utilisation d'antibiotiques locaux (WUWHS, 2008)

‡ Si la plaie est positive à l'élévation de l'activité des protéases, envisager d'intégrer des thérapies modulant l'activité protéasique à la prise en charge (Wounds international, 2011; Dissemmond et al, 2013)

NOTE : Certains patients présentant un UPD et une charge bactérienne élevée peuvent ne pas présenter de signes cliniques d'infection en raison de pathologies neurologiques, immunitaires ou vasculaires. Il peut être utile de faire le test avant les 15 jours dans ces cas-là.

Qu'est-ce que le test WOUNDCHEK™ Bacterial Status?

WOUNDCHEK™ Bacterial Status* est un test chromatographique innovant visant à l'évaluation qualitative de la BPA directement à partir d'un échantillon prélevé avec un écouvillon sur une plaie chronique. WOUNDCHEK™ Bacterial Status est à usage diagnostique, à utiliser sur le lieu des soins pour aider le professionnel de santé à évaluer si une plaie risque de devenir non cicatrisante du fait d'une pathogenèse bactérienne indiquée par la présence d'une BPA.

Le test WOUNDCHEK™ Bacterial Status utilise l'exsudat d'une plaie chronique, collecté au moyen d'une méthode appelée la Technique Serena®, qui consiste à humidifier la plaie nettoyée à l'aide de sérum physiologique et à prélever du matériau à la surface de la plaie en y faisant rouler un écouvillon jusqu'à ce qu'il soit entièrement imprégné¹⁵. Un résultat positif au test indique la présence de BPA dans la plaie. Cette détection peut permettre une intervention clinique plus rapide pour empêcher la plaie de continuer à évoluer le long du continuum infectieux vers une infection clinique plus grave, voire vers une septicémie.

Que signifient en pratique les résultats du test WOUNDCHEK™ Bacterial Status?

La présence d'une BPA étant indicatrice d'une infection imminente ou active, sa détection peut permettre de reconnaître les bactéries ayant un comportement pathogène, même sans signes cliniques d'infection, et ainsi de déclencher un traitement pour réduire la charge bactérienne. Un résultat positif au test de la BPA alerte le clinicien sur la présence de bactéries dans une plaie ayant un comportement pathogène, et lui permet de déterminer de manière objective si la charge bactérienne doit être réduite alors que les signes cliniques peuvent n'être pas immédiatement apparents, et d'intervenir avant le développement d'une infection manifeste.

Comme le montre l'arbre décisionnel d'utilisation du test des protéases bactériennes à réaliser sur le lieu de traitement présenté à la Figure 3, le résultat du test permet au clinicien d'améliorer la prise en charge du patient, en :

- Prenant des mesures pour réduire la charge bactérienne de la plaie, par ex. en optimisant la réponse de l'hôte, en évitant une surcontamination de la plaie, en pratiquant un débridement, en augmentant la fréquence des changements de pansements ou en utilisant des antiseptiques locaux comme l'argent ou le PHMB
- Surveillant et en réévaluant la plaie régulièrement
- Poursuivant le traitement standard si nécessaire.

Si la cicatrisation est retardée mais que le résultat est négatif et que les signes cliniques d'infection sont absents, le clinicien peut choisir d'adopter une approche de soins alternative; par exemple, de rechercher une activité élevée des protéases de l'hôte ou d'envisager des interventions visant à moduler les protéases.

Les bactéries en biofilms peuvent sécréter des protéases, et il a été montré qu'elles en produisaient en plus grandes quantités qu'à l'état planctonique¹⁷. Les plaies qui ont des résultats positifs au test de la BPA peuvent contenir également un biofilm sur au moins une partie du lit de la plaie¹⁸. Bien que l'on ignore si le test de la BPA pourrait être utilisé pour indiquer la présence d'un biofilm, nombre des traitements utilisés pour une plaie positive à la BPA servent aussi à la prise en charge des biofilms, comme les pansements barrières, le débridement et les antiseptiques¹⁹⁻²¹

En complément des techniques existantes d'évaluation des plaies, qui sont en général subjectives par nature, l'utilisation de ce test pourrait présenter plusieurs avantages à la fois sur le plan clinique et sur le plan économique.

À une époque où la résistance aux antibiotiques ne cesse de croître, les

solutions susceptibles de réduire leur usage excessif et de favoriser l'emploi ciblé d'antibiotiques sont bénéfiques pour le système de santé dans son ensemble³. En effet, lorsque des tests diagnostics peuvent guider avec succès les décisions du clinicien, ce qui peut permettre de surveiller la progression du traitement sélectionné, de réduire les complications à long terme (par exemple, la perte d'un membre) et d'améliorer la qualité de vie des patients (par exemple, réduction de la douleur).

**Pas encore disponible dans tous les pays*

Le présent document explicatif a été soutenu par les Laboratoires WOUNDCHEK. Les vues exprimées dans ce Document de synthèse ne reflètent pas nécessairement celles de l'entreprise.

Détails sur les auteurs

Serena T¹, Chadwick P², Duteille F³, Romanelli M⁴, Läuchli S⁵, Martínez J⁶,

1. PDG et Directeur Médical, SerenaGroup Inc
2. Podologue Consultant, Salford Royal Hospital NHS Foundation Trust
3. Chef du Service de Chirurgie, Plastique Reconstructive et Esthétique – Service des brûlés, Hôpital Universitaire, Nantes
4. Dermatologue Consultant, Unité de Recherche sur les plaies, Service de Dermatologie, Université de Pise
5. Chef du Service de Chirurgie Dermatologique, Hôpital Universitaire de Zurich ; Président, European Wound Management Association
6. Chef de l'Unité Pied diabétique, Universidad Complutense de Madrid

Pour citer cette publication :

Serena T, Chadwick P, Romanelli M, Läuchli S, Martínez J. BPA Made Easy Wounds International 2016; 12(4) Disponible sous : <http://www.woundsinternational.com>

UTILISATION DU TEST WOUNDCHek BACTERIAL STATUS : ÉTUDE DE CAS :

CONTEXTE

Ce patient présentait un ulcère du pied diabétique sur la face plantaire droite. La plaie ne présentait pas de signes d'infection clinique lors de l'examen à la Semaine 1 et à la Semaine 4, mais a présenté les deux fois un résultat positif au test de recherche de la BPA. À la Semaine 5, le patient présentait plusieurs signes d'infection et avait été envoyé en chirurgie pour amputation. NB : Ce cas faisait partie d'un protocole d'étude clinique nécessitant que les résultats des tests de la BPA soient cachés au clinicien jusqu'à la fin de l'étude.

Semaine 0 :

- Aucun signe clinique d'infection
- Toutefois, la plaie donne un résultat positif au test de la BPA
- Traitement apporté : pansement silicone/mousse de polyuréthane et couche de contact au silicone non-adhérent

Semaine 4 :

- Aucun signe clinique d'infection
- Toutefois, la plaie donne un résultat positif au test de la BPA
- Traitement apporté : pansement absorbant fibres gélifiées

Semaine 5 :

- Patient alité avec frissons et douleurs
- Pied gonflé avec odeur accrue
- troisième doigt violet avec une zone de rougeur de 9 cm x 8 cm sur la face dorsale du pied
- Patient envoyé en chirurgie pour amputation



Semaine 0



Semaine 4

Références bibliographiques

1. McCarty S, Cochrane C, Clegg P, et al. The role of endogenous and exogenous enzymes in chronic wounds: A focus on the implications of aberrant levels of both host and bacterial proteases in wound healing. *Wound Repair Regen* 2011; 20: 125-36
2. International consensus. *The role of proteases in wound diagnostics. An expert working group review*. London: Wounds International, 2011.
3. Läuchli S, Swanson T, Serena T, et al. The use of a point-of-care test for bacterial protease activity in chronic wounds *Wounds International* 2015; 6(4): 22-8
4. Kozziel J, Potempa J. Protease-armed bacteria in the skin. *Cell Tissue Res* 2013; 351: 325-37
5. Finlay BB, Falkow S. Common themes in microbial pathogenicity revisited. *Microbiol Molec Biol Rev* 1997; 61(2): 139-69
6. Wilson JW, Schurr MJ, LeBlanc CL et al. Mechanisms of bacterial pathogenicity. *Postgrad Med J* 2002; 78: 216-24
7. Serena T, Bayliff S, Brosnan P, et al. *Bacterial proteases: a marker for a 'state of pathogenesis' in chronic wounds*. Poster presented at SAWC, Las Vegas, 2015
8. Siddiqui AR, Bernstein JM. Chronic wound infection: facts and controversies. *Clin Dermatol* 2010; 28: 519-26
9. Collier M. Recognition and management of wound infections. *World Wide Wounds* 2004. Available at: <http://www.worldwidewounds.com/2004/january/Collier/Management-of-Wound-infections.html> (accessed 21.10.16)
10. Kingsley A, White R, Gray D. Applied Wound Management supplement. The Wound Infection Continuum: a revised perspective. *Wounds UK* 2004; 13-8 (Ed: D Gray)
11. World Union of Wound Healing Societies (WUWHS). *Principles of best practice: Wound infection in clinical practice. An international consensus*. London: MEP Ltd, 2008. Available at: <http://www.woundsinternational.com> (accessed 28.10.16)
12. Sibbald RG, Orsted H, Schultz GS et al. Preparing the wound bed 2003; focus on infection and inflammation. *Ostomy Wound Manage* 2003; 49(11): 24-51
13. Healy B, Freedman A. Infections. In: Grey JE, Harding KG (eds). *ABC of Wound Healing*. BMJ Books Blackwell, 2006. 35-8
14. Gardner SE, Frantz RA, Troia C, et al. A tool to assess clinical signs and symptoms of localized infection in chronic wounds: development and reliability. *Ostomy Wound Manage* 2001; 47(1): 40-7
15. Dissemmond J, Dowsett C, Schultz G, et al. *Elevated Protease Activity Made Easy*. Wounds International 2013. Available at: www.woundsinternational.com (accessed 21.10.16)
16. Serena TE. Development of a novel technique to detect proteases in chronic wounds. *Adv Wound Care* 2014; 3(12): 729-32
17. Evans E, Brown MRW, Gilbert P. Iron chelator, exopolysaccharide and protease production in *Staphylococcus epidermidis*: a comparative study of the effects of specific growth rate in biofilm and planktonic culture. *Microbiology* 1994; 140: 153-7
18. Attinger C, Wolcott R. Clinically addressing biofilm in chronic wounds. *Adv Wound Care* 2012; 1(3): 127-32
19. Howell-Jones RS, Wilson MJ, Hill KE, et al. A review of the microbiology, antibiotic usage and resistance in chronic wounds. *J Antimicrob Ther* 2005; 55: 143-9
20. Phillips PL, Wolcott RD, Fletcher J, Schultz GS. Biofilms Made Easy. *Wounds International* 2010; 1(3): Available at: <http://www.woundsinternational.com> (accessed 21/10/2016)
21. Rhoads DD, Wolcott RD, Percival SL. Biofilms in wounds: management strategies. *J Wound Care* 2008; 17(11): 502-8

Résumé

La présence de bactéries à la surface d'une plaie n'indique pas forcément une infection ou une cicatrisation altérée. En effet, dans de nombreux cas, la cicatrisation s'accomplit malgré la présence de bactéries. Toutefois, lorsque les bactéries commencent à présenter un caractère pathogène des complications peuvent survenir, notamment une infection locale ou systémique. De récentes études ont démontré que la BPA pouvait être utilisée comme un marqueur objectif de pathogénicité bactérienne, même lorsque les indicateurs cliniques classiques de l'infection ne sont pas apparents. Le test chromatographique innovant WOUNDCHek™ Bacterial Status fournit une évaluation qualitative de la BPA directement à partir d'un échantillon prélevé sur la plaie. Cette détection peut permettre une intervention clinique plus rapide pour empêcher les plaies de continuer à évoluer le long du continuum infectieux vers une infection de niveau plus grave.