

Wound Bed Preparation: de wetenschap achter het verwijderen van obstakels tot heling

Stuart Enoch, Keith Harding

Wounds 15 (7): 213-229, 2003

© Health Management Publications, Inc

<http://medscape.com/viewarticle/459733>

Vertaling: Vander Heggen Erwin

Abstract en introductie

Abstract

Wondheling veronderstelt een goed georkestreerd, ingewikkeld proces dat leidt tot het herstel van beschadigde weefsels. Chronische wonden echter volgen dit patroon van normaal herstel niet. Dit is te wijten aan onderliggende fysiologische problemen, geassocieerd met hun ontwikkeling, die alhoewel gecorrigeerd verder gaan met wondafbraak. De sleutel tot effectieve wondzorg ligt in een combinatie van 3 aanpakken: behandeling van de onderliggende medische problemen, benadering en behandeling van het locale wondbed en het effectief aanpakken van gelijk welk patiënt gebonden probleem. Een essentieel onderdeel van deze aanbevolen aanpak is het herstel van gezond granulatieweefsel in het wondbed. Woundbed preparation brengt een aantal bestaande procedures samen in een systematische benadering om de chronische wondbedomgeving te herstellen, zoals: debridement, infectiebehandeling en het beheersen van wondvochtexsudaat. Het doel van woundbed preparation is de barrières tot heling op te ruimen en het wondherstel te starten.

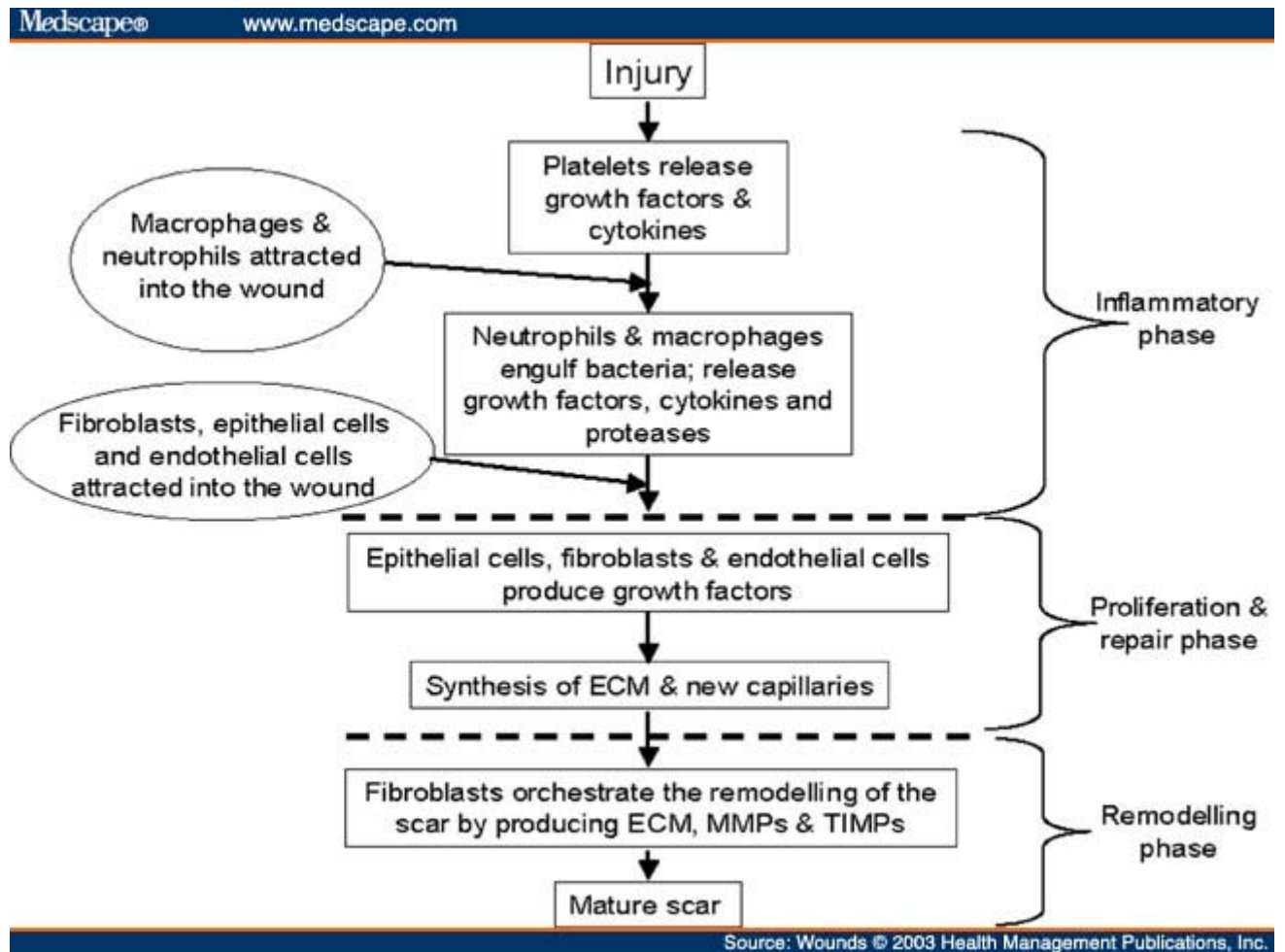
Deze review onderzoekt de wetenschappelijke ratio achter dit concept en onderzoekt ook hoe woundbadpreparation aan de professionals in de wondzorg een verbeterd paradigma bij de behandeling van chronische wonden kan bieden. Door het invoeren van woundbedpreparation wordt het vormen van gezond granulatieweefsel geoptimaliseerd en de efficiency van biotechnologische therapieën verbeterd, wat uiteindelijk de sluitingstijd van een wonde zou moeten reduceren.

Introductie

Wondheling betreft een ganse serie complexe gebeurtenissen, zoals chemotaxis, celdeling, neovascularisatie, synthese van ECMcomponenten en de vorming en remodeling van littekenweefsel. Oplosbare mediators als groeifactoren, cytokines, MMP's en hun regulatoren controleren vele van deze processen die betrokken zijn in de wondheling door hun effecten op de verschillende celtypen en de ECM^(1,2).

In acute wonden veroorzaken deze processen, uitgelokt door weefselverwonding, de 4 overlappende, maar wel omschreven fases van hemostase, inflammatie, proliferatie en remodeling (zie figuur 1). Fysiologische gebeurtenissen in niet helende wonden echter volgen dit traditionele model van wondherstel niet. Het concept van woundbedpreparation benadert dit gegeven en voorziet een model voor het begrijpen en het behandelen van deze wonden.

Figuur 1 : het normaal proces van wondheling



De normale wondheling

Vasoconstrictie in combinatie met stolselvorming en plaatjesmigratie treedt op als antwoord op het ontstaan van een wonde. Eenmaal de aggregatie gebeurd is, beginnen de bloedplaatjes te degranuleren en laten ze mediators vrij die de fibrine klonters helpen vormen, samen met groeifactoren en chemo-attractanten. Gedurende deze initiële hemostatische fase, laten de bloedplaatjes verschillende groeifactoren vrij in het wondbed, zoals platelet derived growth factor (PDGF), insulin-like growth factor (IGF-1), epidermal growth factor (EGF), en transforming growth factor β (TGF- β). Neutrofielen en macrofagen migreren naar de wonde en secreteren bijkomende groeifactoren, als transforming growth factor- α (TGF- α), heparine bindende epidermale groeifactoren (HB-EGF) en basische fibroblasten groeifactor (bFGF), die de inflammatoire fase verder stimuleren. Deze verschillende groeifactoren zijn mitogeen en chemotaxisch voor endotheliale cellen, macrofagen, keratinocyten, en fibroblasten, die migreren naar de wonde om granulatieweefsel te vormen ofwel de voorlopige matrix⁽³⁾

Neutrofiële proteasen nemen gedurende de eerste dagen van herstel deel in de afweer tegen bacteriën en in het debrideren van het niet leefbaar weefsel in de wonde⁽⁴⁾. Macrofagen, geactiveerd door CD4+ T helper cellen en door cytokine interferon-g (aangemaakt door T-lymfocyten en NK-cellen), stimuleren de acute inflammatie door het afscheiden van cytokines; dit zijn vooral tumor necrose factoren (TNF), IL-1, chemokines en vet mediators met korte levensduur als plaatjes activerende factoren, prostaglandines en leucotrienes. Hun gezamenlijke actie bestaat erin om de lokale inflammatie te verhogen, die rijk is aan neutrofielen. Deze neutrofielen helpen de fagocytose en vernietigen infectieuze organismen⁽⁵⁾. De cytokines spelen een verdere rol in het weefselherstel: IL-1 stimuleert de proliferatie van fibroblasten, en TNF- α en IL-1 β stimuleren de fibroblasten om MMP's te maken.

Geactiveerde macrofagen verwijderen samen met de neutrofielen dood weefsel om het herstel te vergemakkelijken nadat de infectie onder controle is. Aanvullend induceren zij de aanmaak van weefselherstel door groeifactoren af te scheiden die de proliferatie van de fibroblasten stimuleren (PDGF), de collageen synthese (TGF- β) en de vorming van nieuwe bloedvaten (FGF). Hoewel verschillende groeifactoren bijdragen tot wondherstel, speelt FGF een cruciale rol in dit proces. FGF is krachtig mitogeen voor endotheliale cellen, versnelt de vorming van granulatieweefsel door de fibroblasten proliferatie en de collageen opstapeling⁽⁶⁾ te verhogen en het voorziet in de initiële angiogenetische prikkel⁽⁷⁾.

Fibroblasten, epitheelcellen en vasculaire endotheel cellen beginnen op vrije wijze te vermeerderen wanneer de wonde de proliferatie fase van de wondheling intreedt. Gedurende de proliferatie fase verminderen het aantal inflammatoire cellen en secreteren de fibroblasten, endotheliale cellen en keratinocyten verder groeifactoren, die nodig zijn om het wondhelingsproces te begeleiden.

De ontwikkeling van granulatieweefsel vereist de aanmaak van nieuwe capillairen. Nieuwe bloedvaten aanmaak of het ontwikkelen van nieuwe capillairen noemt men angiogenese. Angiogenese speelt een cruciale rol in het complexe proces van de wondheling. Angiogenese is streng gereguleerd door factoren, die zowel de bloedvaten groei kunnen stimuleren als inhiberen⁽⁸⁾. Tijdens de wondheling invaderen angiogenetische capillaire knoppen de fibrine-/fibronectine rijke bloedklonters en regelen binnen een paar dagen een microvasculair netwerk in het granulatieweefsel⁽⁹⁾. Wanneer collageen zich opstapelt in het granulatieweefsel om litteken aan te maken, vermindert de dichtheid van het aantal bloedvaten. Een verstoring van dit dynamische proces kan de ontwikkeling tot chronische wonden beïnvloeden⁽¹⁰⁾.

De snelle start en predominantie van proangiogenetische factoren optimaliseert de genezing in beschadigd weefsel ⁽¹¹⁾. Onder alle proangiogenetische factoren is de vasculaire endotheliale groeifactor (VEGF) het meest bestudeerd in de angiogenese van de bloedvaten in een wonde. Experimenteel bewijs toont aan dat een defect in VEGF regulatie geassocieerd kan worden met storing in de wondheling ⁽¹²⁾. Studies op diabetische muizen tonen aan dat zij verlaagde concentraties hebben aan VEGF ⁽¹³⁾. De initiële angiogenetische stimulus in de wondheling kan geleverd worden door FGF-2, gevolgd door een opeenvolgende en meer verlengde angiogenetische stimuul, geregeld door VEGF ⁽⁷⁾.

Gedurende de inflammatie en de proliferatie fase spelen proteolytische enzymen, als MMP's en serine proteasen een essentiële rol in het weefsel herstel en de remoddelering. Eens ze aanwezig zijn in het weefsel stimuleren de inflammatoire cellen en de fibroblasten de aanmaak van MMP-1, MMP-2 MMP-3 en MMP-9, waardoor zij de beschadigde ECM kunnen afbreken als voorbereiding voor de macrofagen fagocytose van het ECM-debris. Cytokines, groeifactoren en weefselinhibitoren van MMP (TIMPs) regelen strikt de aanmaak en activiteit van de MMP's

De uiteindelijke fase van wondheling betreft een gebalanceerd proces dat oud ECM afbreekt en nieuw ECM aanmaakt om uiteindelijk het litteken te remoddeleren, dat zich vormde tijdens de proliferatie en het herstel. Fibroblasten behoren tot de meest belangrijke cellen tijdens deze fase, omdat zij matrix moleculen synthetiseren: collageen, elastine en proteoglycanen. Fibroblasten produceren ook MMP's die de matrix en de TMPS afbreken, die de activiteit van de MMP's regelen. Deze fase kan verschillende maanden in beslag nemen en resulteert in een "rijp litteken"

Samenvattend is normale wondheling een complex en fijn georchestreed proces, dat beïnvloed wordt door groeifactoren, cytokines, angiogenetische mediators en MMP's ⁽¹⁴⁾. Hoewel de fases in normale wondheling elkaar overlappen, gebeuren zij chronologisch en streng gereguleerd.

DE CHRONISCHE WONDE

Een chronische wonde kan gedefinieerd worden als een wonde waarin het normale helingsproces verstoord werd op een of meer punten van de fase van hemostase, inflammatie, proliferatie en remoddeling (15). Chronische wonden hebben verschillende gemeenschappelijke kenmerken (tabel 1). In tegenstelling met acute wonden falen zij in het genezen in een chronologische tijdsfactor en in een ordentelijke factor. Vaak worden chronische wonden bekeken als vastzittend in de inflammatoire fase of in de proliferatie fase van de wondheling. Sinds groeifactoren, cytokines en proteasen allemaal een belangrijke rol spelen in elke fase van de wondheling, kunnen verhogingen in concentratie van een of meerdere componenten van deze factoren meegerekend worden in de verhinderde genezing, die kenmerkend is in chronische wonden. Analyses van de cellulaire en moleculaire omgeving van acute en chronische wonden hebben veel belangrijke verschillen opgelost.

De cytokine omgeving van chronische wonden is substantieel verhoogd, en de niveaus van IL-1a, een pro-inflammatoir cytokine is aangetoond als verhoogd in chronische wonden (16). Trengrove, ea⁽¹⁷⁾ vonden dat de niveaus van andere pro-inflammatoire cytokines (IL-1b en TNF-a) samen met IL-1a significant ($p=0.01$ voor IL-1a, $p=0.005$ voor IL-1b en $p=0.013$ voor TNF-a) verhoogd waren in vocht van niet helende wonden uit been ulcera, vergeleken met wondvocht uit helende wonden. Bovendien verminderden de niveaus van deze cytokines substantieel wanneer de chronische wonde genees. Dit toonde een significante correlatie tussen niet-helende wonden en de verhoogde niveaus van pro-inflammatoire cytokines. Zij ontdekten ook dat er een significante statistische vermindering ($p=0.002$) in de mitogene activiteit was in de vergelijking tussen helende en niet helende wonden. Wanneer chronisch wondvocht toegevoegd wordt aan culturen van fibroblasten, keratinocyten of vasculaire endotheel cellen, verhindert dit de stimuli tot synthese van DNA in deze cellen, wat in direct contrast is met de DNA synthetiserende mogelijkheid van acuut wondvocht^(18,19).

Vrije zuurstofradicalen zijn betrokken in het ontstaan en het onderhouden van veneuze ulcera. Het neutraliseren van deze radicalen door het gebruik van antioxidantia, versnelt het genezen van deze veneuze ulcera⁽²⁰⁾. Stikstofoxide (NO) is gekend om zijn combinatie met hydroxyl vrije radicalen die peroxynitraat vormen, een krachtige vrije zuurstofradicaal die weefsel vernietiging veroorzaakt. Het overvloedig aanwezig zijn van NO in veneuze ulcera kan zowel direct als indirect (door het produceren van peroxynitraat) betrokken zijn in de pathogenese en de vertraagde heling van deze veneuze ulcera, door zijn effect op de vasculatuur, de inflammatie en de collageen afzetting⁽²¹⁾. In een studie met 44 patiënten, met chronische veneuze ziekten, observeerden Howlander en Coleridge Smith⁽²²⁾ dat het totale aantal NO niveaus gestegen waren bij patiënten met ernstige huidbeschadiging. Gelijktijdig vonden Jude, ea⁽²³⁾ dat diabetische patiënten met terugkerende neuropathie en neuroischemische voetletsels significante hogere NO plasma niveaus hadden vergeleken met voetulcera die geen wederkerende voetulcera hadden. (46.9 ± 6.3 microm/L tegenover 30.2 ± 2.4 microm/L; respectievelijk $p < 0.01$)

Een ander belangrijk biochemisch verschil in chronische wonden is het niveau van protease activiteit, die aanzienlijk hoger is vergeleken met acute wonden. In de fases van normale wondheling zijn de productie en de activiteit van proteasen streng gereguleerd, maar is deze duidelijk verstoord in chronische wonden. Zo zijn bv de niveaus van verschillende MMP's en serine proteasen opmerkelijk verhoogd in chronisch wondvocht. De niveaus van MMP-1, -2 en 9 zijn verhoogd aangetoond in vocht uit drukulcera en veneuze beenulcera als we deze vergelijken met acute mastectomie wonden.^(24,25) Verder tonen data aan dat gedurende de vorming van granulatiweefsel in chronische drukulcera de niveaus van MMP's gedaald zijn en dat het niveau van hun inhibitors (TIMP's) gestegen zijn⁽²⁶⁾. Andere proteasen, zoals neutrofielen elastase waren significant gestegen in chronische wonde⁽²⁷⁾.

Verhoogde concentraties van serine protease zijn geassocieerd met de afbraak van fibronectine, dat een essentieel eiwit is dat betrokken is in de remoddeling van de ECM en dat noodzakelijk is voor de vorming van granulatie weefsel in de remoddeling fase. Daarnaast tonen in-vitro studies tonen aan dat proteases de groeifactoren, in chronische wonden afbreken ^(24,28).

Een ander verschil dat chronische wonden onderscheiden van acute wonden is de onmogelijkheid van de cellen om juist te reageren op de moleculaire regulatoren. Onderzoek toonde aan dat fibroblasten in been ulcera, die niet heelden, niet in de mogelijkheid verkeerden om te reageren op groeifactoren als PDGF en TGF ⁽²⁹⁾. Cellen uit veneuze ulcera, die langer dan 3 jaar bestonden, groeien trager en sommige cellen takelden af ^(30,31).

De fysiologische implicaties van al deze studies bestaan hierin dat de verhoogde moleculaire en cellulaire omgeving van de chronische wonde er toe bijdraagt dat deze wonden niet genezen. Het uistel van het helingsproces kan de totale anatomische en functionele integriteit van de wonde compromitteren. Daarenboven zijn chronische wonden complexer door een onderliggende fysiologische abnormaliteit, zoals diabetes, vasculaire insufficiëntie of ischemie, die verder bijdragen tot het falen van de wondgenezing. De sleutel om chronische wonden aan te moedigen om sneller te genezen is de snelle correctie van de onderliggende fysiologische problemen, samen met een adequate voorbereiding van het wondbed. De genezing van een chronische wonde zal significant gehinderd worden als de onderliggende pathologie niet samen met de lokale hinderpalen tot genezing beschouwd wordt ^(32,34).

Wound Bed Preparation (WBP)

WBP breidt de bestaande kennis uit door een holistische aanpak om aldus een evaluatie en een verwijdering te bekomen van de wondhelings barrières, en een normale vooruitgang van de wondgenezing te krijgen. Het uiteindelijke doel van de aanpak is een stabiele wonde te bekomen, die gezond granulatieweefsel heeft en een wonde die gekenmerkt wordt door een goed gevasculariseerd wondbed. Dit sluit de verwijdering in van alle factoren die wondheling uitstellen.

Daarom moet de manier waarop chronische wonden gezien en behandeld worden gebaseerd zijn op een model dat zowel verschillend is voor zowel de acute wondbehandeling als representatief voor de complexe aard van de niet helende ulcera ⁽³⁵⁾. Door zo een model te scheppen zou het wetenschappelijke inzicht en de klinische aanpak van niet-helende wonden geoptimaliseerd kunnen worden. Omdat WBP gebaseerd is op klinische kennis en de fysiologie van niet-helende ulcera voorziet WBP een model dat efficiënt is voor de evaluatie en de behandeling van chronische wonden.

Het begrijpen en het verwijderen van wondhelings barrières zal ons helpen een wondbed te verkrijgen met gezond granulatieweefsel, dat klaar is voor de volgende fase in het herstel ^(32,36). De voornaamste obstakels om een chronische wonde te laten genezen zijn

A. **Necrotisch weefsel,**

B. Onjuiste **bacteriële balans** en

C. Verhoogde staat van **wondexsudaat** en samenstelling van dit exsudaat.

WBP heeft tot doel deze obstakels tot heling te verwijderen; dit wordt gekenmerkt door steeds vooruitgaand debridement, het verminderen van de bacteriële besmetting en het effectief aanpakken van het wondexsudaat. Daar de cellulaire en biochemische processen verstoord zijn in een chronische wonde is een groter begrip van de micro-omgeving van een wonde essentieel om te komen tot een wondbed dat klaar is voor de volgende fase van herstel. De cellulaire en biochemische verschillen die gebeuren in chronische wonden zijn bepaald als “*de cellulaire dysfunctie*” en “*de verstoorde biochemische balans*”; zij dragen respectievelijk bij in het in stand houden van verdere obstakels in de heling.

Deze review heeft tot doel elk onderdeel van WBP te bespreken met respect voor de wetenschap en de praktijk, en om uit te leggen hoe zij een gunstig effect kunnen hebben in de ganse context van wondbehandeling. Aansluitend zijn de verschillende therapeutische opties op dit moment beschikbaar om chronische wonden te behandelen en de toekomstige behandelingen worden ook getoond in tabel 2.

A. NECROTISCH WEEFSEL, en zijn opstapeling in Chronische Wonden

Necrotisch weefsel is dood weefsel, dat gewoonlijk resulteert in een inadequate bloedtoevoer. Necrotisch weefsel bevat dode cellen en debris die een opeenvolging zijn van stukjes stervende cellen. Necrotisch weefsel doet de kleur veranderen van rood naar bruin tot zwart/ purper, naargelang het meer gedehydrateerd wordt. Uiteindelijk vormt het een zwarte, droge, lederachtige structuur, eschar genaamd. Dit kan gezien worden in een breed gamma wondtypes, inclusief brandwonden en alle types chronische wonden. Wondbeslag daarentegen is een geel fibrineus weefsel dat bestaat uit fibrine, etter, en eiwitachtig materiaal. Wondbeslag kan men vinden op de oppervlakte van een vroegere propere wonde en men denkt dat er een verband bestaat met de bacteriële activiteit ⁽³⁷⁾. De opstapeling van necrotisch materiaal of beslag in een chronische wonde is van belangrijk klinisch belang, daar men denkt dat dit de bacteriële kolonisatie stimuleert en het volledige herstel verhindert.

Recent werd “necrotic burden” voorgesteld als een alles omvattende term om necrotisch weefsel, overvloedig exsudaat en hogere concentraties aan bacteriën te beschrijven in dood weefsel⁽³³⁾. Necrotisch weefsel neigt tot continue accumulatie, dit is te wijten aan de onderliggende pathogene abnormaliteiten in een chronische wonde en de verhoogde biochemische en cellulaire omgeving^(33,38). Het is echter niet altijd mogelijk om de onderliggende pathogene abnormaliteiten volledig weg te werken, wat het nog meer essentieel maakt om het wondbed adequaat voor te bereiden. Als de necrotische burden toegelaten wordt om zich op te stapelen in een chronische wonde, kan dit de inflammatoire respons verlengen, mechanisch het proces van wondcontractie belemmeren en de reepthelialisatie verstoren⁽³⁹⁾.

WONDDEBRIDEMENT

Klinisch wordt debridement al jaren gebruikt om de wondsluiting te versnellen. Steed, ea^(40,41) hebben vroeger dit belang al toegelicht. De studie uit 1996 vergelijkt snelheid in genezing bij patiënten met diabetische voet ulcera, wiens wonden gedebrideerd werden door ofwel enkel lokaal aangewende groeifactoren (PDGF) aan te brengen of in combinatie met een scherp debridement. De resultaten toonden dat een lagere graad van heling geobserveerd werd in deze centra die minder debridementen uitvoerden. De uitgever concludeerde dat debridement een vitaal hulpmiddel is bij lokaal aangewende groeifactoren therapie, bij het verzorgen van patiënten met chronische wonden.

Het verwijderen van necrotisch weefsel is gunstig voor meerdere redenen. Debridement verwijdert dood, weinig vitaal, of besmet weefsel en ook elke vorm van vreemd materiaal in een wonde; dit helpt om het aantal microben, toxines, en andere substanties die heling inhiberen te verminderen^(42,44). Vreemde lichamen, inclusief necrotisch zacht weefsel, beenderfascia, niet-leefbaar spierweefsel, en ligamenten zijn bewezen als weerstand verlagend te werken op de gast en actieve infectie aan te moedigen^(45,46).

Er zijn 5 methoden voor debridement

1. Chirurgisch of scherp debridement
2. Autolytisch
3. Enzymatisch
4. Mechanisch
5. Bio-chirurgie

De keuze tot welk debridement men zich wendt zal van vele factoren afhangen, zoals de grootte van het debridement, de plaats, het type wonde, de efficiëntie en de selectiviteit van uw debridements methode, de gevoelde pijn, exsudaat niveau, besmettingsrisico en de kost van de procedure⁽³²⁾. In sommige gevallen kan het aangewezen zijn om meer dan een methode te gebruiken.

1. chirurgisch debridement

Chirurgisch of scherp debridement is geen nieuwe techniek en historische teksten tonen aan dat oude beschavingen vaak gebruik maakten van chirurgische veranderingen in het wondbed⁽⁴⁷⁾. Chirurgisch debridement is de snelste manier om dood weefsel te verwijderen. Het veroorzaakt aanzienlijk veel pijn en was vroeger beperkt voor neuropatische diabetische ulcera, waar het gebruik van anesthetica en pijnbeleid niet noodzakelijk waren. Dit probleem kan opgelost worden door het gebruik van lokaal aangewende anesthetica (bv de combinatie van Lidocaine en Prilocaine), toegepast 30 à 45 minuten voor het debridement⁽⁴⁸⁾. Hoewel dat chirurgisch debridement verondersteld wordt selectief te zijn, kan er toch schade zijn aan leefbaar weefsel en een bloeding is veronderstelbaar. Desondanks helpt deze methode om de wonde te revitaliseren en moedigt dit de heling aan, door het onderdompelen van het wondbed

met groeifactoren en cytokines. Het gebruik van druk en een hemostatisch calcium-alginaat verband helpen een kleine tot bescheiden bloeding onder controle te houden.

2. Autolytisch debridement

Alle wonden ondervinden een vorm van autolytisch debridement, wat een natuurlijk en uiterst selectief proces is waarbij de endogene proteolytische enzymen het necrotisch weefsel afbreken. Deze endogene enzymen worden voornamelijk aangemaakt door neutrofielen, en omvatten: elastase, collagenase, myeloperoxidase, zure hydrolase en lysosomale enzymen⁽⁴⁹⁾.

Autolytisch debridement gebeurt niet snel genoeg om snelle wondgenezing en sluiting te bekomen, maar het gebruik van occlusieve verbanden versnelt dit natuurlijke proces, terwijl het een vochtig wondbed onderhoudt en de regeling van teveel exsudaat⁽⁵⁰⁾. Het laat een pijnloos, selectief debridement toe en het helpt de vorming van gezond granulatie weefsel vooruit⁽⁵¹⁾.

Autolytisch debridement kan resulteren in de productie van overmatige hoeveelheden exsudaat. Typisch aan de praktijk van autolytisch debridement is het gebruik van een Hydrogel, dat het necrotisch weefsel zacht maakt en het necrotisch weefsel afbreekt; deze hydrogel wordt bedekt met een absorberend, occlusief verband dat overmatig exsudaat opneemt.

Met het toenemen van antibiotica resistente pathogene kiemen, is er recent een heropleving in het gebruik van honing bij de behandeling van wonden en ulcera⁽⁵²⁾. Honing heeft zowel een antibacteriële werking als een snel autolytisch debridement en het ontgeurt de wonde. Daarbij heeft het anti-inflammatoire eigenschappen⁽⁵³⁾ en stimuleert het de immune respons⁽⁵⁴⁾. Hoewel de exacte werkwijze onduidelijk is, zagen Tonks, ea⁽⁵⁵⁾ dat reactieve zuurstof intermediaren significant minderden ($p < 0.001$) en dat het vrijkomen van TNF- α significant verhoogd werd ($p < 0.001$) door manuka honing.

Hoewel, vanuit praktisch standpunt, autolytisch debridement de gemakkelijkste methode is om wonden te debrideren, neemt het toch een verlengde tijdsperiode in om een complete verwijdering van necrotisch weefsel te bekomen.

2. Enzymatisch debridement

Enzymatisch debridement is een zeer selectieve methode van wonddebridement, dat gebruik maakt van natuurlijk bestaande proteolytische enzymen, gemaakt door de farmaceutische en welzijns industrie. Deze uitwendig aangebrachte enzymen werken samen met de endogene enzymen in de wonde. Verschillende enzymen debriderende agentia zijn ontwikkeld, zoals bacteriële collagenase, papaine/ urea, fibrinolysine/ DNase, trypsine, streptokinase-streptodornase combinaties en subtilisine. Enkel de drie eerste producten zijn commercieel breed beschikbaar in de markten waar ze geregistreerd zijn.

- Debridement gebaseerd op collagenase: collagenase, afgeleid van *Clostridium Histolyticum*, is het best gekend van alle enzymatische agentia. Het verteert speciaal alle triple helix collageen en breekt geen ander proteïne af, die de triple helix niet heeft. Dit is een unieke toepassing van bacteriële collagenase, daar geen enkele andere protease het collageen kan verteren⁽⁵⁶⁾. Het wordt al meer dan 25 jaar gebruikt en heeft een aantal klinische voordelen, zoals het selectief wegnemen van dood weefsel, het pijnloze proces, en het minste bloedverlies veroorzakend⁽⁵⁷⁾. dit type debridement kan toegepast worden in normen van lange termijn zorgverlening en in de thuiszorg⁽⁵⁸⁾. Klinisch onderzoek heeft aangetoond dat bacterieel collagenase een effectief en selectief enzyme debridement is bij een waaier van wond types⁽⁵⁹⁻⁶⁵⁾

- Debridement gebaseerd op papaïne: Papaïne is een niet specifiek proteolytisch enzyme, gemaakt uit het fruit van de papaya boom (*Carica papaya*). Papaïne breekt fibrineus materiaal af in necrotisch weefsel en vereist de aanwezigheid van een sulfohydryl groep, als cysteïne, voor zijn activiteit. Het verteert geen collageen ⁽⁶⁶⁾ en het vereist specifieke activatoren die aanwezig zijn in necrotisch materiaal . Ureum wordt gecombineerd met papaine omdat ureum in staat is om de activatoren van papaine in necrotisch weefsel bloot te stellen. Ureum breekt ook proteïnen af en maakt hen meer ontvankelijk voor proteolyse door de papaine. De combinatie van papaïne met ureum is waarschijnlijk dubbel zo effectief om proteïnes te verteren als de papaïne alleen ⁽⁶⁷⁾ . Papaïne is bekend omdat het een inflammatoire respons produceert en mogelijk als een resultaat daarvan wordt daardoor een aanzienlijke pijn ervaren bij het gebruik van deze methode. ^(68,69) Daarom wordt Chlorofylline, een anti-agglutinine, toegevoegd bij papaïne/ureum preparaten in een poging om de pijn te reduceren ^(70,71) . Recente preparaten die de bovenstaande combinatie bevatten neigen tot minder pijn te veroorzaken ^(70,71) Papaïne/ureum preparaten echter kunnen specifiek bruikbaar zijn bij patiënten met druk letsels, gecombineerd met een verlies aan gevoeligheid (bv spinale kwetsuren), alhoewel pijn geen limiterende factor mag zijn voor het gebruik in deze situaties.

3. Mechanisch debridement

Mechanisch debridement is een niet-selectieve, fysische methode om necrotisch weefsel en debris te verwijderen uit een wonde door het aanwenden van een mechanische kracht. Deze methode van debridement is gewoonlijk gemakkelijk uit te voeren en gaat sneller dan autolytische en enzymatisch debrideren. Deze niet-selectieve methode echter kan echter gezond granulatieweefsel aantasten zowel in het wondbed als in de wondranden, wat een behoorlijk ongemak voor de patiënt teweeg brengt. Ondanks deze minpunten zijn er een aantal mechanische debridements methoden in gebruik.

Nat-naar-droog verbanden (wet-to-dry) zijn de eenvoudigste verbanden voor mechanische debridatie, maar door het frequent aanwenden van verbandwissels, kosten die veel verpleegtijd en worden ze duur ⁽⁷²⁾ . Vochtige gaasverbanden worden op het wondbed gelegd en men laat ze uitdrogen, waardoor het necrotisch weefsel in het gaas gevangen wordt; wanneer men het verband verwijderd worden de necrose en het debris mechanisch gescheiden van het wondbed ⁽⁷³⁾ . Irrigaties onder druk hebben een grote stroom water nodig, die zowel op lage als op hoge druk toegepast kunnen worden en de bedoeling hebben om bacteriën weg te spoelen, alsook vreemd materiaal, en necrotisch weefsel. Als de druk echter te groot is bestaat het risico om de bacteriën en het debris dieper in de wonde te jagen of om leefbaar weefsel te beschadigen ⁽⁷⁴⁾ . Whirlpool therapie gebruikt irrigatie met kracht en kan zeer effectief zijn bij het losmaken en het verwijderen van oppervlakkig wonddebris, bacteriën, necrotisch weefsel en wondexsudaat. Ultrasound behandeling is gebruikt om necrotisch weefsel te verwijderen en het is aangetoond als zijnde effectief om wonden te debrideren en infecties door bacteriën te reduceren ⁽⁷⁵⁾ . Vacuüm Assisted Closure is een niet-invasieve vorm van mechanisch en fysisch debridement die de wonde blootstelt aan een negatieve druk (ongeveer 125 mm Hg negatieve druk) door middel van een gesloten systeem. Het helpt de chronische wonde te genezen door het exsudaat en het beslag in een wonde te verminderen, het weefseloedeem te reduceren ^(76,77) , de perifere bloedtoevoer te verhogen, de locale oxygenatie te verbeteren, de angiogenese en de goede kwaliteit van het granulatieweefsel te promoten ⁽⁷⁸⁾ .

4. Biochirurgie (Myiasis)

Larven van vliegen hebben sinds hun introductie in 1931, aangetoond dat zij een wonde kunnen debrideren en genezen. Deze techniek gebruikt steriele maden, die beslag en necrotisch materiaal uit een wonde opeten, zonder schade aan te brengen aan het omliggende gezond weefsel ⁽³⁷⁾. In een studie van Mumcuoglu, ea ⁽⁷⁹⁾ werd volledig debridement bereikt bij 38 van de 43 patiënten (88%) door maden aan te wenden bij chronische beenulcera en drukletsels. Onder hen waren er 5 patiënten die hun been niet geamputeerd diende te worden, nadat dit wel overwogen werd. Sherman ⁽⁸⁰⁾ kon gelijklopend constateren dat bij een patientengroep van 103 personen met drukulcera, 80 procent volledige debridatie door maden bekomen werd, vergeleken met slechts 48 procent bij wonden behandeld met conventionele therapieën (p=0.021). Het precieze mechanisme, op welke manier precies de maden een wonde debrideren en aanzetten tot heling blijft onduidelijk. Er is echter een vermoeden dat zij waarschijnlijk door het verteren en doden van de bacteriën een bacteriostatisch effect uitoefenen door de wondpH te verhogen, door proteolytische enzymen te secreteren die belangrijk zijn in de afbraak van de korst ⁽⁸²⁾ en het verhogen van de weefsel oxygenatie ⁽⁸³⁾. Ondanks aanmoedigende rapporten ⁽⁸⁰⁾ klagen patiënten van toenemende pijn bij het aanwenden van madetherapie ⁽⁸⁴⁾. Aansluitend kunnen de potentiële fysiologische en esthetische bedenkingen hierbij niet genegeerd worden

Het behoud van debridement en wondbedpreparation

Debridement wordt traditioneel toegepast als een eenmalige stap binnen een goed afgelijnd kader. Deze procedure wordt meestal maar herhaald als necrotisch weefsel terug in de wonde verschijnt, daar er aangenomen wordt dat gezond granulatieweefsel zich maar vormt als het debridement volledig gedaan is. Hoewel dit misschien opgaat voor acute wonden, is het onwaarschijnlijk de necrotische last op te heffen die zich opeenvolgend opstapelt in een chronische wonde. In het geval van niet helende chronische wonden is het meer wenselijk om een regelmatige en zelfs continu debridement te regelen.

Een belangrijk aspect van WBP is het erkennen dat chronische wonden onderliggende pathogene abnormaliteiten hebben die necrotisch weefsel veroorzaken dat zich opstapelt. Daarom én om de vooruitgang van de wonde te vergemakkelijken, zou herhaalde verwijdering van necrotisch weefsel noodzakelijk blijken gedurende het ganse bestaan van een chronische wonde. Daarom wordt een “verlengd onderhoud” van de debridementsfase voorgesteld ⁽³³⁾. Deze lijkt meer doeltreffend te zijn dan een eenmalige interventie. WBP pleit ervoor dat klinici een voortdurende verwijdering van de necrotische ballast overwegen en dat een efficiënt debridement noodzakelijk is om de necrotische ballast te reduceren en gezond granulatieweefsel te bekomen ⁽⁸⁵⁾.

B. DE VERSTOORDE BACTERIELE BALANS IN CHRONISCHE WONDEN

Intrinsiek bevatten alle chronische wonden bacteriën en toch kan het genezingsproces verdergaan in hun aanwezigheid. Het is niet de aanwezigheid van bacteriën ⁽⁸⁶⁾, maar hun interactie met de gastheer die bepaald wat de invloed is van de organismen op de chronische wondheling.

De aanwezigheid van bacteriën in een wondbed kan onderverdeeld worden in 4 categorieën, gebaseerd op de respons bij de gastheer. Deze categorieën zijn bepaald als contaminatie, kolonisatie, lokale infectie en verspreide infectie. Het relatieve aantal micro-organismen en hun pathogeniteit, gecombineerd met het antwoord van hun gastheer en factoren als immuno deficiëntie, bepalen wanneer chronische wonden geïnfecteerd zijn of tekenen vertonen van vertraagde heling.

Contaminatie is bepaald als de aanwezigheid van zich niet- vermenigvuldigen micro-organismen in een wonde. De meeste organismes, die in een wonde terecht komen vallen in deze categorie en zijn niet in staat zich te vermenigvuldigen in zacht menselijk weefsel. De afweer van de gastheer ruimt hen dan ook snel op als een gevolg daarvan.

Kolonisatie wordt gecategoriseerd als micro-organismen die zich wil vermenigvuldigen en zich vasthechten aan de wondoppervlakte, maar geen cellulaire schade aanbrengen aan de gastheer. Voorbeelden van koloniserende micro-organismen zijn deze die men gewoonlijk vindt op de huid, zoals *Staphylococcus epidermidis* en *Corynebacterium* soorten. Deze soorten zijn eerder commensalen die de wondheling vooruithelpen, dan schade berokken aan de gastheer (87-90).

Recent worden de termen lokale infectie en kritische kolonisatie ingevoerd om situaties te beschrijven waarin de wonde een toenemende bacteriële last heeft, die intermediair is tussen de categorie kolonisatie en infectie. Wonden die lokaal geïnfecteerd zijn of kritisch gekoloniseerd, zullen niet genezen maar zullen ook geen klassieke tekens vertonen van infectie ⁽³²⁾. Gedurende deze fase kunnen subtiele tekens van infectie echter te voorschijn komen. De klinische signalen en tekens van kritische kolonisatie zijn vertraagde heling, pijn, gevoeligheid, verhoogd sereus exsudaat, kleurveranderingen van het wondbed, broos granulatieweefsel, afwezigheid of abnormaal granulatieweefsel en abnormale geur ^(91,92).

Wondinfectie is gedefinieerd als het aanwezig zijn, in een wonde, van zich vermenigvuldigende micro-organismen die een opeenvolgende respons van de gastheer veroorzaakt, die leidt tot vertraagde heling. Daarom is het belangrijk dat infectie zo snel mogelijk herkend wordt. De tekens en signalen van lokale infectie zijn roodheid (erytheem), warmte, zwelling, pijn, en functieverlies. Een vieze geur en etter kunnen dit begeleiden. Eventueel zal de necrotische last stijgen en verder gaan naar een systematische seminated, wat resulteert in sepsis. Als deze niet daadwerkelijk behandeld wordt kan dit evolueren naar multi-orgaan falen en zelfs tot de dood in bepaalde gevallen.

Er zijn vele factoren gekend die invloed hebben op de bacteriële belasting van chronische wonden en die het risico van infectie verhogen. Deze sluiten het aantal micro-organismen in die in de wonde aanwezig zijn, hun virulentie en factoren eigen aan de gastheer. Experimentele studies hebben aangetoond dat ongeacht het type micro-organisme, de wondheling verstoord wordt als er meer dan 10^5 organismen per gram weefsel aanwezig zijn ^(74,93-95). Andere studies echter hebben aangetoond dat veel chronische wonden met een grotere bacteriële belasting dan 10^5 normaal helen ⁽⁹⁶⁾. In deze optiek is het duidelijk dat het type en de pathogeniteit van de organismen het risico verhogen en niet alleen het aantal micro-organismen. Zo is bijvoorbeeld het isoleren van enige hoog virulente beta-haemolytische streptokokken in een chronische wonde al significant en dient de gepaste behandeling opgestart te worden ⁽⁹⁷⁾.

De mix aan micro-organismen in een wonde kan ook een punt zijn; de meeste chronische wonden bevatten meer dan 3 soorten micro-organismen ^(98,99). Dit is beduidend omdat sommige combinaties van bacteriële soorten met elkaar synergetisch werken, wat resulteert dat voordien niet-virulente organismen, virulent worden en schade aanrichten bij de gastheer ^(74, 100-102). Diep in het granulatiweefsel kunnen chronische wonden residente microflora bevatten die niet ontdekt worden bij routine culturen. Met het aanwenden van nieuwe moleculaire technieken echter, zoals DGGE (denaturerende gel gradiënt elektroforese) kunnen nieuwe organismen als *Pseudomonas Rhodesiae* geïdentificeerd worden. De beperkingen van de conventionele technieken om de analyse van complexe populaties microben te herkennen zouden in de toekomst overwonnen worden ⁽¹⁰³⁾.

Hoewel de kwantiteit aan bacteriën en hun virulentie belangrijke factoren zijn bij wondinfectie, is de weerstand van de gastheer van gelijkwaardig belang. Systemische factoren verhogen evenzeer het risico op infectie in chronische wonden (tabel 3). Factoren als immuno suppressie, bijkomende ziektes, medicatiegebruik en ouderdom kunnen allemaal hun weerslag hebben op het feit dat bacteriën aanwezig in een wonde, de wondheling gaan hinderen ^(74,104).

Meer recent werd het belang van biofilms duidelijk in de context van wondinfectie en kan deze bijdragen tot vertraagde heling in chronische wonden. Wanneer bacteriën prolifereren vormen ze micro kolonies die zich aan het wondbed vasthechten en scheiden ze een glycocalyx of biofilm af, die de micro-organismen beschermt tegen antimicrobiële stoffen ⁽¹⁰⁵⁾. Organismen kunnen bestaan als groeperingen, als individuele types of als kolonies van verscheidene types. Deze bacteriële kolonies ondergaan verscheidene veranderingen en drukken verschillende genen uit welke de antimicrobiële gevoeligheid van de organismen kunnen veranderen. Het periodiek loskomen van deze beweeglijke bacteriën uit deze kolonies kan resulteren in een infectie. Biofilms zijn bacteriële kolonies die resistent kunnen zijn tegen de effecten van antimicrobiële stoffen, als antibiotica en antiseptica, en kunnen aldus bijdragen tot vertraagde wondheling ⁽¹⁰⁵⁾.

Infectie en WBP

Doeltreffende WBP hangt zowel af van de aanpak van de microbiële balans, als van de behandeling van de infectie. Het concept van WBP erkent dat een patiënt met een chronische wonde alle tekens van infectie kan vertonen, maar dat de infectie klinisch minder duidelijk kan zijn. De reden daarvoor ligt in de immunologische respons op chronische wond infectie.

Het voortdurende aanwezig zijn van bacteriële infectie stimuleert het immuun systeem van de gastheer wat leidt tot de chronische aanmaak van inflammatoire mediators, zoals prostaglandine E2 en tromboxane. Neutrofielen blijven migreren naar de wonde en laten cytotoxische enzymen en vrije zuurstofradicalen vrij ⁽¹⁰⁶⁾. Trombose en vasoconstrictieve metaboliëten veroorzaken hypoxie in een wonde, die een verhoogde bacteriële proliferatie meebrengt en voortdurende weefselbeschadiging. Met de verlengde aanwezigheid van bacteriën in een chronische wonde, veranderen de bacteriën hun gedragspatroon en veranderen zij hun fenotype en hun immuun expressie. Al deze factoren helpen hun om te ontsnappen aan detectie van het immuunsysteem van het lichaam en maken het aldus moeilijk om over het hoofd gezien te worden door het verdedigingsstelsel van de gastheer. Deze ontwikkeling van “ immuun tolerantie” kan een vals beeld creëren van geen infectie ⁽⁷⁴⁾ en kan het opruimen van de micro-organismen uit een wonde verhinderen.

WBP verandert de manier waarop infectie bekeken en behandeld wordt omdat het inziet dat wondheling vertraagd kan worden door bacteriën, zelfs bij het niet aanwezig zijn van de klassieke tekens. Subtiele secundaire tekens van infectie, zoals een gebrek aan gezond granulatie weefsel, kleurveranderingen in het wondbed en broos granulatiweefsel kunnen

wel aanwezig zijn. Een gemeenschappelijk kenmerk van lokaal geïnfecteerde wonden zal een gebrek zijn in de genezing en progressieve aftakeling. WBP breidt ons bestaand beeld uit en erkent dat kritische kolonisatie en infectie aangepakt moeten worden, zodat de heling geoptimaliseerd wordt.

De behandeling van geïnfecteerde wonden

Het is belangrijk dat de behandeling begonnen wordt zodra de bacteriën geïdentificeerd zijn als de reden waarom de wondheling vertraagd is in deze chronische wonde. De behandeling van geïnfecteerde wonden zal de bacteriële ballast verminderen en daarom een van de hinderpalen tot heling opruimen. Er zijn verschillende mogelijkheden om de bacteriële last te reduceren, wat het gebruik van antibiotica en antiseptica insluit. Hoewel antibiotische therapie zinvol is om geïnfecteerde wonde te behandelen en om de verspreiding van de infectie tegen te gaan in de zachte weefsels rond de wonde (cellulitis en opstijgende lymfangitis), leidt het herhaalde gebruik, bij patiënten met chronische wonden, tot de ontwikkeling van bacteriële resistentie. Daarom is grote voorzichtigheid geboden bij het gebruik van antibiotica, en moet men dit vermijden als eerste lijns aanpak⁽¹⁰⁷⁾.

De oplossing om de onjuiste balans aan microben aan te pakken met traag loslatende antiseptica is terug erkenning aan het krijgen als een belangrijk hulpmiddel bij antibiotische behandeling. Het gebruik van antiseptische stoffen kan essentieel zijn voor daadwerkelijke WBP, daar het inadequaat verwijderen van bacteriën de wondheling vertraagt⁽¹⁰⁸⁾. In tegenstelling tot antibiotica, die een specifieke manier hebben om te werken, vallen antiseptica de celmembranen aan van de bacteriën, hun cytoplasmatische organellen en hun nucleinezuren. Deze multi doelgerichte antibacteriële effecten maken bacteriële resistentie onwaarschijnlijk. Veel gebruikte antiseptica sluiten traag loslatende antimicrobiëlen in als cadexomeer jood⁽¹⁰⁹⁾. Cadexomeer jood is een traag loslatend antimicrobieel middel dat in staat is om overdreven wondexsudaat op te vangen, terwijl het voorziet in een constant niveau van jood in het wondbed^(110,111). Evaluaties van de voordelen hebben aangetoond dat het goed verdragen wordt en de genezing van chronische been ulcera versnelt⁽¹¹²⁻¹¹⁸⁾. Cadexomeer jood werd ook aangetoond als efficiënt te zijn *in vivo* tegen *Staphylococcus aureus* en Methilline resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA)^(119,120).

Er is enige bezorgdheid en controverse ontstaan bij het gebruik van antiseptica op wonden omwille van het cytotoxisch aspect op cellen *in vitro* die betrokken zijn in de wondheling (fibroblasten, keratinocyten, en leucocyten)^(121,122). Deze effecten blijken concentratie gebonden te zijn; verschillende antiseptica in lage concentraties zijn niet cytotoxisch en behouden hun antibacteriële werking⁽¹²³⁾. Aansluitend is er onvoldoende bewijs op heden dat antiseptica een schadelijk effect hebben op de heling. Zelfs in tegenstelling daarmee zijn er 9 klinische trials (op mensen) die het effect van cadexomeer jood vergelijken met andere vormen van behandeling op chronische ulcera en zij zien dat de heling met cadexomeer jood sneller gaat met afnemende etter hoeveelheid, debris, pijn, en erytheem. In deze trials werd geen enkel negatief effect gezien met cadexomeer jood⁽¹²⁴⁾.

Nanokristalijn zilver verbanden zijn een nieuwe manier van antimicrobiële verbanden die de infectie helpen terugdringen in partieel en full-thickness wonden. Ze zijn gemaakt uit een met zilver bedekt, hoge dichtheid polyethyleen vlechtwerk met een absorberende gaaskern; zij laten zilver traag los uit het verband en behouden een effectief antimicrobiële barrière tot 7 dagen. Het is aangetoond dat nanokristalijn zilver effectief is tegen een breed spectrum van bacteriële stammen *in vitro*, zoals MRSA en Vancomycine resistente Enterococcon⁽¹²⁵⁾.

Edele metalen als zilver zijn sinds het midden van vorige eeuw in gebruik bij de behandeling van zowel acute als chronische wonden. Er is aangetoond dat zij effectief zijn in

het gevecht met de antibiotica-resistente groepen in gekoloniseerde wonden ⁽¹²⁶⁾. Bishop, ea ⁽¹²⁷⁾ onderzochten het effect van zilver sulfadiazine crème (AgSD) in een prospectieve, gerandomiseerde, gecontroleerde trial van 86 patiënten met chronische veneuze ulcera. Zij vonden een significante reductie van in de grootte van de ulcera met het gebruik van 1 % AgSD vergeleken met een 0.4 % tripeptide koper complex crème bij de placebo groep. Gelijklopend observeerden Kucan, ea ⁽¹²⁸⁾ snelle heling en significante vermindering van het aantal bacteriën bij chronische druk ulcera (gedaald tot 10^5 of zelfs minder per gram weefsel in een test over 3 weken) bij het gebruik van 1 % AgSD crème vergeleken met povidone jood en fysiologische oplossingen. Op heden zouden deze studies waarschijnlijk de standaard niet halen om het effect overtuigend te demonstreren. Meer recent toonden Mi, ea de lange termijn inhibitie van de groei van *Pseudomonas aeruginosa* en *Staphylococcus aureus* aan op een geïnfecteerde wonde met het gebruik van AgSD gecombineerd met een tweelagig Chitosan wondverband.

Debridement van wonden is een andere manier waardoor de bacteriële belasting gereduceerd kan worden om de wondheling te optimaliseren en de wondsluiting vooruit te helpen. Onderzoek toonde aan dat de aanwezigheid van necrotisch weefsel op het wondbed geassocieerd kan worden met wondinfectie ^(92,130,131) en dat de verwijdering ervan op verschillende niveaus helpt bij het verminderen van de bacteriële ballast. Eerst zorgt debridement voor een verhoogd lokale afweer mechanisme bij de gastheer en het voorkomt actieve infectie door het verminderen van de hoeveelheid gedevasculariseerd weefsel en de verwijdering van vreemd materiaal ^(45,46). Vervolgens helpt debridement de vorming vooruit van goed gevasculariseerd granulatief weefsel door het activeren van groeifactoren en weefselcytokines.

De diagnose van infectie in een chronische wonde berust op een complexe klinische ervaring, maar de meest belangrijke indicatoren van infectie zijn zowel lokale en systemische gastheer karakteristieken. WBP helpt als een klinische strategie de clinici om de verhoogde bacteriële ballast aan te pakken door middel van geavanceerde antibacteriële middelen en debridement.

C. DE EXSUDAAT NIVEAUS IN CHRONISCHE WONDEN

Verskillende studies tonen aan dat chronische wonden “vastzitten” in de inflammatoire fase van de wondheling ^(85,132,133). Eigen aan deze inflammatoire staat produceren chronische wonden vaak grote hoeveelheden exsudaat en dit kan zelfs toenemen in wonden die zwaar gekoloniseerd zijn of geïnfecteerd. De hoeveelheid vocht die een chronische wonde aanmaakt kan een obstakel zijn tot heling ^(18,33,36,134). Het is niet alleen de hoeveelheid exsudaat die een wonde produceert die belangrijk is, maar evenzo het begrip van de moleculaire en biochemische veranderingen in het vocht. Vandaar dat er studies zijn die het acute en het chronische wondvocht analyseren en hun focussen op de moleculaire en biochemische omgeving om meer te begrijpen betreffende chronische ulcera.

Er was enige interesse over het onderzoek naar de effecten van chronisch wondvocht op de proliferatie van verschillende celtypes, die betrokken waren in het helingsproces. Bucalo, ea verzamelden wondvocht exsudaat uit veneuze ulcera bij 6 patiënten om het effect te bestuderen van chronisch wondvocht op de proliferatie van menselijke dermale fibroblasten, microvasculaire endotheelcellen en keratinocyten in cultuur. De resultaten van deze studie toonden aan dat chronisch wondvocht de proliferatie van dermale fibroblasten, microvasculaire endotheelcellen en keratinocyten verhinderde of deed mislukken. De studie vond ook dat chronisch wondvocht cytotoxisch was en dat dit misschien kon bijdragen tot het negatieve effect op de cel proliferatie. Wondvocht uit acute wonden echter stimuleerde de proliferatie van de fibroblasten en het is aannemelijk dat dit gedeeltelijk begeleid wordt door PDGF-gelijklende peptides ⁽¹³⁵⁾.

Andere studies concentreerden zich op de analyse van de manier waarop pro-inflammatoire cytokines en groeifactoren konden bijdragen tot vertraagde wondheling. Klinisch onderzoek dat exsudaat uit acute mastectomie wonden vergeleek met exsudaat uit chronische wonden toonden aan dat de chronische wonden een foute balans hadden aan pro-inflammatoir cytokine IL-1b, TNF- α en IL-6 ⁽¹³³⁾. De hoge niveaus aan pro-inflammatoire cytokines die in dit exsudaat gevonden werden zijn verantwoordelijk voor het voortbestaan van een chronisch inflammatoir proces. Groeifactoren uit acute en chronische wonden vertoonden ook een aanzienlijke variabiliteit. Chronisch wondvocht bijvoorbeeld bevat lagere niveaus aan EGF en hogere niveaus aan TGF- α , TGF- β en IGF-1 vergeleken met acute wonden ⁽¹³³⁾.

Vergelijkbare studies bevestigden dat andere groeifactoren als TGF- β 1 en PDGF afgebroken worden door proteasen die in chronisch wondvocht aanwezig zijn ^(24,28). Het werd bewezen dat de afbraak van deze groeifactoren bovendien gebeurde wanneer serum proteasen niet geïnhibeerd werden, wat deed veronderstellen dat de afbraak van de groeifactoren, als resultaat van een protease activiteit, eerder te wijten was aan de serum proteasen, zoals neutrofiel elastase, dan aan MMP's. Veel betekend is ook dat de verminderde activiteit van de proteasen, aanwezig in chronische wonden, in correlatie stond met verbeterde heling. In tegenstelling met wat hierboven staat, wees een andere studie over protease activiteit in een chronische wonde, dat eerder de MMP's dan de serum proteasen cruciaal zijn in het vertraagde wondherstel ⁽¹³⁶⁾. Weckroth, ea ⁽¹³⁷⁾ vonden gelijklopend MMP's (gelatinase en collagenase) in chronisch exsudaat in been ulcera en geen serum proteasen (elastase en cathepsine G). De vermelde verschillen geobserveerd in bovenstaande studies kunnen te wijten zijn aan de heterogeniteit van de patiënten die in de studies betrokken werden of aan de verscheidenheid in de componenten van het chronisch wondvocht in de verschillende fasen van het helingsproces.

Chronische wonden van verschillende etiologie kunnen verschillende niveaus van protease activiteit vertonen, afhankelijk van de onderliggende pathofysiologie. Een verstoorde proteolytische activiteit is bijna zeker geassocieerd met het falen van de heling in chronische

wonden ⁽¹³⁷⁻¹³⁹⁾ . Wat ook het juiste mechanisme moge zijn, de collectief gepubliceerde data tonen aan dat exsudaat uit chronische wonden een onjuiste balans bevatten aan groeifactoren en pro-inflammatoire cytokines, excessieve hoge niveaus aan proteasen en een verminderd niveau aan TIMP's. Al deze factoren zullen bijdragen tot een uitstel van de heling

Identiek kan de afbraak van angiogenetische mediators (cytokines) een onderliggende oorzaak zijn in chronische wonden. Drinkwater, et al ⁽¹⁴⁰⁾ vergeleken wondvocht verzameld uit 16 veneuze ulcera met acuut wondvocht verzameld uit subcutane drains bij 7 patiënten met VEGF als controle. Zij vonden dat veneus ulcus exsudaat significant de angiogenese inhibeerde vergeleken met de acute wonde ($p < 0.002$) en VEGF ($p=0.01$) . Onder de 16 veneuze ulcera waren er 5 die traag heelden (> 1 jaar); deze hinderden beduidend de angiogenese meer ($p=0.03$) dan de 5 snel helende ulcera (< 3 maand) in dezelfde groep.

Analyses van wondvocht hebben vele technische moeilijkheden en het is onwaarschijnlijk dat de verschillende studies gestandaardiseerde methodes volgen. Dit maakt het moeilijk om data te interpreteren en definitieve conclusies te trekken op dit moment ⁽¹⁴¹⁾ . Ondanks deze terughoudendheid is het duidelijk dat exsudaat uit chronische wonden biochemisch verschillend is met dit van acute wonden. Het lijkt aannemelijk dat de verstoring in de subtiële balans tussen cellulaire en biochemische componenten van de micro-omgeving bij een chronische wonde bijdragen tot vertraagde wondheling.

WBP en de aanpak van exsudaat

Het beheersen van exsudaat hoeveelheid is een belangrijk aspect bij de behandeling van chronische wonden. Het concept van WBP erkent dit maar belicht ook het feit dat chronisch wondvocht exsudaat verbonden is met andere hinderpalen tot heling, zoals necrotische ballast en onjuiste microbiële balans. Het debrideren en reinigen van een wonde is de eerste stap in de aanpak van het overdreven exsudaat, maar lange termijn benadering vereist het gebruik van modern verband materiaal. Deze zijn beschikbaar in een waaier van absorptie kwaliteiten die passen bij het geproduceerde volume exsudaat. Wanneer overdreven exsudaat resulteert in lokaal oedeem kan compressie therapie de eerste keuze worden. De effectieve aanpak van chronisch wondvocht is een essentieel element van WBP en zal alsook helpen om de cellulaire disfuncties en de onjuiste biochemische balans te corrigeren ^(18,33,34,36)

De cellulaire disfunctie en de onjuiste biochemische balans

Het proces van normale wondheling omvat de complexe interacties tussen verschillende cel types, ECM moleculen en oplosbare mediators, als groeifactoren, cytokines, en MMP's. In chronische wonden zijn de geordende cellulaire en moleculaire processen, zoals in acute wonde, verstoord en onjuist geregeld. Deze verschillen, die cellulaire disfunctie en onjuiste biochemische balans genoemd worden, zijn waarschijnlijk van groot belang in de uitleg waarom het chronisch wondherstel verhinderd wordt.

Fibroblasten spelen een centrale rol met vele facetten in de wondheling die gaat van de ECM synthese tot het begeleiden van de remodelling door de cytokines en de MMP activiteiten ⁽¹⁴²⁾ . Fibronectine, aangemaakt door fibroblasten versnelt de migratie van keratinocyten en het is aangetoond dat dit glycoproteïne volledig afgebroken wordt in chronische wonden ^(27,138) . Grinnell en Zhu ⁽²⁷⁾ toonden ook de correlatie aan tussen de fibronectine afbraak en de verhoogde niveaus van serum proteasen, zoals neutrofiële elastase. Natuurlijk voorkomende protease inhibitoren als $\alpha 2$ -macroglobulines en $\alpha 1$ -proteïnase inhibitoren werden afgebroken en niet functioneel in chronisch wondvocht ^(27,64) . Samengevat kunnen we stellen dat de proteïne afbraak in de ECM synthese en de verhoogde protease

niveaus, gedeeltelijk toegeschreven aan de afbraak van hun inhibitoren, bijdragen tot een vertraagde wondheling.

De afbraak van adhesie proteïnen in een wondbed kan ook een belangrijke factor zijn in het onvermogen tot sluiten bij chronische wonden. Wanneer men onderzoek deed op cel adhesie bij verschillende types chronische been ulcera was de cel adhesie verhogende activiteit fel gereduceerd en kwam dit overeen met afgebroken vitronectine en fibronectine⁽¹⁴³⁾. Deze gegevens kunnen uitleggen waarom chronische wonden “vastzitten” in hun inflammatoire fase en waarom de migratie van keratinocyten verstoord is in de proliferatie fase van het wondherstel.

De cellen in een chronisch wondbed kunnen verschillende fenotypes vertonen die kunnen bijdragen tot het falen van de heling. De niveaus van MMP's en hun endogene inhibitoren (TIMP) zijn verschillend aanwezig in chronische en acute wonden. In **stromale** cellen is MMP-13 overvloedig aangemaakt in chronische wonden, doch is veel minder aanwezig in acute wonden. MMP-13 is betrokken in de afbraak van collageen type 1 en 3 in het wondbed en een ontregelde aanwezigheid van dit MMP kan een belangrijke rol spelen in de pathogenese van chronische ulcera⁽¹⁴⁴⁾. De aanwezigheid van TIMP-3 niveaus zijn afwezig in de epidermis van chronische veneuze ulcera, maar zijn overvloedig aanwezig in acute wonden⁽¹⁴⁵⁾.

Een ander element dat pertinent is voor chronische wonden is de proliferatie snelheid van de cellen samen met hun gewijzigde morfologie^(26,146). In een actieve helende wonde zijn fibroblasten zeer goed prolifererbaar en wanneer zij hun proliferatie capaciteit verliezen, door bv ouder te worden, kan dit grote implicaties hebben voor het wondherstel. De fibroblasten die men neemt van de hoeken van veneuze been ulcera zijn minder prolifererbaar dan de fibroblasten die men neemt van normaal helende huid⁽¹⁴⁶⁾. Aansluitend zijn de fibroblasten uit de wondhoeken groter en geven weinig respons op groeifactoren^(30,146). Dit veronderstelt dat de ouderdom van de cellen gerelateerd is met een vertraagde heling⁽¹⁴⁷⁾. Daar fibroblasten uit chronische wonden duidelijk verouderingstekens vertonen^(30,148) kan dit uitleggen waarom deze cellen een verminderde respons vertonen op PDGF-b en TGF-b in vitro^(29,149). Als fibroblasten in chronische wonden veranderd zijn en verouderd, kan het exogeen aanwenden van groeifactoren niet voldoende zijn om de proliferatie te stimuleren en de wonde te herstellen.

Conclusie

WBP is reeds het zicht van de klinici op de aanpak van chronische wonden aan het veranderen. Een groter begrip van de basis van goede WBP is essentieel, als de gezondheids professionals en de patiënten willen genieten van het optimale gebruik van de wondbehandelings middelen.

Het therapeutische model om chronische wonden te behandelen is jaren gebaseerd op het acute model. Het acute model echter dat voorziet in mooi gedefinieerde stappen van inflammatie, proliferatie en remodelling is echter niet representatief voor de chronische niet-helende wonde. WBP is een praktische, op evidence based gebaseerde aanpak om chronische wonden te behandelen daar het de wetenschap achter de wondhelings barrières opnieuw bekijkt. Bij de definitie wat het uiteindelijk is dat de chronische wonde tegenhoudt om te sluiten, biedt WBP een klinische strategie die uiteindelijk zal leiden tot het verwijderen van alle hinderpalen, zodat de wondheling normaal zou verlopen. Sinds WBP materie aankaart als cellulaire disfunctie en onjuiste biochemische balans kan een meer geïntegreerde aanpak bekomen worden (figuur 2).

Healing Wounds:

↑ Mitogenic activity
 ↓ Inflammatory cytokines
 ↓ Serine proteases
 Mitotically competent cells

Chronic, non-healing wounds:

↓ Mitogenic activity
 ↑ Inflammatory cytokines
 ↑ Serine proteases
 Senescent cells



Wound bed preparation

Source: Wounds © 2003 Health Management Publications, Inc.

Tabellen

Tabel 1: de kenmerken van een chronische wonde

<p>Klinisch</p> <ul style="list-style-type: none"> • de aanwezigheid van necrotisch en ongezond weefsel • een gebrek aan adequate bloedtoevoer • de afwezigheid van gezond granulatieweefsel • een gebrek aan re-epithelialisatie • wederkerende wondafbraak te wijten aan oppervlakkige binding (cfr: chronische sinus pilonidalis)
<p>Moleculaire en biochemische veranderingen</p> <ul style="list-style-type: none"> • verhoogde niveaus van: <ol style="list-style-type: none"> 1. inflammatoire cytokines 2. collageen afbrekende activiteit--- MMP-1, MMP-8, MMP-13 3. gelatinases--- MMP-2, MMP-9 4. stromelysines--- MMP-3, MMP-10, MMP-11 5. serum proteases--- Urokinase –type plasminogeen activatoren, Cathepsine G, en verhoogde elastase activiteit

- verminderde niveaus van:
 1. TIMP
 2. α 1-protease inhibitoren
 3. α 2-macroglobulines
- significante afbraak van:
 1. fibronectine
 2. vitronectine
 3. tenascine

Cellulaire kenmerken

- lage mitotische activiteit
- verschillende cellulaire fenotypes
- aanwezigheid van verouderde cellen
- verminderde activiteit van de groeifactoren

Microbiologie

- hoge niveaus aan bacteriën
- de aanwezigheid van meer dan 1 bacteriële stam
- de aanwezigheid van multi-geneesmiddelen resistente organismes
- de aanwezigheid van biofilms

Complicaties op lange termijn

- vorming van fistula of sinus
- aantasting van bot, leidend naar osteomyelitis
- contracturen en misvorming van de omliggende gewrichten
- kwaadaardige ontaarding (Marjolin ulcus)
- systemische amyloidose
- verkalking

Tabel 2: de behandeling van chronische wonden*

1. Enige mogelijkheden tot behandeling op dit moment **
<p>Algemeen</p> <ol style="list-style-type: none">1. het voorkomen en controleren van infecties2. behandelen van geassocieerde factoren als: oedeem, ischemie, variceuze venen, diabetes, hartlijden en anemie3. druk opheffen4. malnutritie en vitamine gebrek voorkomen5. elk necrotisch materiaal en vreemde lichamen verwijderen
<p>Specifiek</p> <ol style="list-style-type: none">1. <u>fysische mogelijkheden</u><ul style="list-style-type: none">• ultrasound• hyperbare zuurstoftherapie• vacuum assisted closure• biochirurgie (myase)• elektrische en elektromagnetische therapie• druk opheffende matrassen en andere toepassingen (bv druk letsels)• intermittente pneumatische compressie• verschillende mogelijkheden van drukverbanden en graduele compressie kousen• compressie kledij (om lymfe oedeem te behandelen)• andere vormen van wond debridement2. <u>bruikbare medicatie***</u><p>Systemisch</p><ul style="list-style-type: none">• Pentoxifylline• Prostacycline analogen<p>Topisch</p><ul style="list-style-type: none">• Phenytoine natrium• Salpeter oxiden(bv glyceryl trinitraten) en calcium blokkers(bv Diltiazem) bij de behandeling van chronische anale fissuren• Honing

3. Chirurgie

- algemeen (gelijk welk ulcus type); debridement, huid greffen
- druk ulcera: ostectomie, reconstructieve chirurgie(verschillende myocutane rotatieflaps
- veneuze ulcera: voor variceuze ulcera: afbinden, stripping, endoscopische subfasciale afbinding van perforator venen, valvuloplastie
- arteriële ulcera: om de perifere vasculatuur te verbeteren: bypass, angioplastie
- ulcera te wijten aan lymfe-oedeem: lymfangioplastie, shunts (lymfo-veneus, lymfo-lymfatisch, excisie van huid en subcutaneus weefsel(procedure. van Charles)
- amputatie van aangetast lidmaat: bij levensbedreigende omstandigheden (bv systemische verspreiding van infectie uit de wonde leidend tot septicaemie en multi-orgaan falen

4. andere

- bio-engineered vervang weefsel
- gen therapie--- applicatie van verschillend recombinante groeifactoren in de wonde

2. Toekomst gerichte behandelingen

1. gebruik van natuurlijke of synthetische exogene protease inhibitoren
2. bescherming van protease inhibitoren uit oxidatieve beschadiging (inclusief het gebruik van scavengers van vrije zuurstof radicalen)
3. inhibitie van enzymen die betrokken zijn in het opwekken van oxygene metabolieten
4. functionele regulatie van neutrofielen (het blokkeren of inhiberen van de neutrofiele functies, zoals chemotaxis, adhesie, infiltratie en degranulatie)
5. inhiberen of neutraliseren van de neutrofiele elastase activiteit
6. directe aanwending van beenmerg afgeleide cellen in chronische wonden

*: biopsie voor histopathologie zou gedaan moeten worden om kwaadaardigheid uit te sluiten in alle chronische ulcera die therapie weerstandig zijn

** : de therapeutische mogelijkheden zijn vernoemd voor ofwel directe behandeling van de wonde of voor de behandeling van de geassocieerde factoren. Zij dienen op individuele patiënt gegevens besloten te worden: algemene gezondheidstoestand van de patiënt, etiologie van de wonde, status van het wondbed, infectie,...

***: verschillende antibiotica (oraal en topisch) en antiseptica worden gebruikt voor de preventie en de controle van infecties in chronische wonden

Tabel 3. systemische factoren, geassocieerd met verhoogd risico op infectie (aangepast van Dow, ea 1999)

- vasculaire ziektes
- stralingstherapie
- oedeem
- alcohol misbruik
- diabetes mellitus
- cortico steroïden en andere immuno depressiva
- malnutritie
- roken
- vorige heelkunde
- erfelijke neutrofiele stoornissen

Referentities

1. Bennett NT, Schultz GS. Growth factors and wound healing: Biochemical properties of growth factors and their receptors. *Am J Surg* 1993a;165:728-37.
2. Bennett NT, Schultz GS. Growth factors and wound healing: Part II. Role in normal and chronic wound healing. *Am J Surg* 1993b;166:74-81.
3. Martin P, Hopkinson-Woolley J, McCluskey J. Growth factors and cutaneous wound repair. *Prog Growth Factor Res* 1992;4:25-44.
4. Yager DR, Nwomeh BC. The proteolytic environment of chronic wounds. *Wound Repair Regen* 1999;7:433-41.
5. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Effector mechanisms of cell-mediated immunity. In: Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS (eds). *Cellular and Molecular Immunology, Fourth Edition*. Philadelphia, PA: WB Saunders Company, 2000;(13):291-308.
6. Slavin J. Fibroblast growth factors: At the heart of angiogenesis. *Cell Biol Int* 1995;19:431-4.
7. Nissen NN, Polverini PJ, Koch AE, et al. Vascular endothelial growth factor mediates angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing. *Am J Pathol* 1998;152(6):1445-52.
8. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 1997;386:671-4.
9. Tonnesen MG, Feng X, Clark RA. Angiogenesis in wound healing. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2000;5(1):40-6.
10. Lauer G, Solberg S, Cole M, et al. Expression and proteolysis of vascular endothelial growth factor is increased in chronic wounds. *J Invest Dermatol* 2000;115(1):12-23.
11. Matthies AM, Low QE, Lingen MW, et al. Neuropilin-1 participates in wound angiogenesis. *Am J Pathol* 2002;160(1):289-96.
12. Altavilla D, Saitta A, Cucinotta D, et al. Inhibition of lipid peroxidation restores impaired vascular endothelial growth factor expression and stimulates wound healing and angiogenesis in the genetically diabetic mouse. *Diabetes* 2001;50(3):667-74.
13. Di Peppe RS, Mangoni A, Zambruno MA, et al. Adenovirus-mediated VEGF (165) gene transfer enhances wound healing by promoting angiogenesis in CD1 diabetic mice. *Gene Ther* 2002;9(19):1271-7.
14. Overall CM. Regulation of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase expression. In: Greenwald RA, Golub LM (eds). *Inhibition of matrix metalloproteinases: Therapeutic potential*. *Ann NY Acad Sci* 1994;732:51-64.
15. Lazarus GS, Cooper DM, Knighton DR, et al. Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. *Arch Dermatol* 1994;130(4):489-93.
16. Barone EJ, Yager DR, Pozez AL, et al. Interleukin-1 alpha and collagenase activity are elevated in chronic wounds. *Plast Reconstr Surg* 1998;102(4):1023-7.
17. Trengove NJ, Bielefeldt-Ohmann H, Stacey MC. Mitogenic activity and cytokine levels in non-healing and healing chronic leg ulcers. *Wound Repair Regen* 2000;8(1):13-25.
18. Bucalo B, Eaglstein WH, Falanga V. Inhibition of cell proliferation by chronic wound fluid. *Wound Repair Regen* 1993;1:181-6.
19. Harris IR, Yee KC, Walters CE, et al. Cytokine and protease levels in healing and non-healing chronic venous leg ulcers. *Exper Dermatol* 1995;4:342-9.
20. Salim AS. The role of oxygen-derived free radicals in the management of venous (varicose) ulceration: A new approach. *World J Surg* 1991;15(2):264-9.
21. Abd-El-Aleem SA, Ferguson MWJ, Appleton I, et al. Expression of nitric oxide synthase isoforms and arginase in normal human skin and chronic venous leg ulcers. *J Pathol* 2000;191(4):434-42.
22. Howlander MH, Coleridge Smith PD. Increased plasma total nitric oxide among patients with severe chronic venous disease. *Int Angiol* 2002;21(2):180-6.
23. Jude EB, Tentolouris N, Appleton I, et al. Role of neuropathy and plasma nitric oxide in recurrent neuropathic and neuroischemic diabetic foot ulcers. *Wound Rep Regen* 2001;9(5):353-9.
24. Yager DR, Zhang LY, Liang HX, et al. Wound fluids from human pressure ulcers contain elevated matrix metalloproteinase levels and activity compared to surgical wound fluids. *J Invest Dermatol* 1996;107(5):743-8.
25. Schultz GS, Mast BA. Molecular analysis of the environment of healing and chronic wounds: Cytokines, proteases, and growth factors. *WOUNDS* 1998;10(6 Suppl):1F-9F.
26. Cook H, Davies KJ, Harding KG, Thomas DW. Defective extracellular matrix reorganization by chronic wound fibroblasts is associated with alterations in TIMP-1, TIMP-2, and MMP-2 activity. *J Invest Dermatol* 2000;115:225-33.

27. Grinnell F, Zhu M. Fibronectin degradation in chronic wounds depends on the relative levels of elastase, alpha1-proteinase inhibitor, and alpha2-macroglobulin. *J Invest Dermatol* 1996;106(2):335-41.
28. Wlaschek M, Peus D, Achterberg V, et al. Protease inhibitors protect growth factor activity in chronic wounds. *Br J Dermatol* 1997;137(4):646.
29. Agren MS, Steenfoss HH, Dabelsteen S, et al. Proliferation and mitogenic response to PDGF-BB of fibroblasts isolated from chronic leg ulcers is ulcer-age dependent. *J Invest Dermatol* 1999;112:463-9.
30. Mendez MV, Stanley AC, Park HY, et al. Fibroblasts cultured from venous ulcers display cellular characteristics of senescence. *J Vasc Surg* 1998;28:876-83.
31. Mendez MV, Raffetto JD, Phillips T, et al. The proliferative capacity of neonatal skin fibroblasts is reduced after exposure to venous ulcer wound fluid: A potential mechanism for senescence in venous ulcers. *J Vasc Surg* 1999;30:734-43.
32. Sibbald RG, Williamson D, Orsted HL, et al. Preparing the wound bed -- debridement, bacterial balance, and moisture balance. *Ost Wound Manag* 2000a;46:14-35.
33. Falanga V. Wound bed preparation and the role of enzymes: A case for multiple actions of therapeutic agents. *WOUNDS* 2002;14(2):47-57.
34. Phillips TJ, al-Amoudi HO, Leverkus M, Park HY. Effect of chronic wound fluid on fibroblasts. *J Wound Care* 1998;7(10):527-32.
35. Grey JE, Harding KG. The chronic non-healing wound: How to make it better. *Hosp Med* 1998;59(7):557-63.
36. Falanga V. Classifications for wound bed preparation and stimulation of chronic wounds. *Wound Repair Regen* 2000a;8:347-52.
37. Thomas S. Sterile maggots and the preparation of the wound bed. In: Cherry GW, Harding KG, Ryan TJ (eds). *Wound bed preparation. Proceedings of a symposium sponsored by the European Tissue Repair Society; 2000 Nov 24-25; Oxford UK. International Congress and Symposium Series 250. Royal Society of Medicine Press Limited, 2001:59-66.*
38. Falabella AF, Carson P, Eaglstein WH, Falanga V. The safety and efficacy of a proteolytic ointment in the treatment of chronic ulcers of the lower extremity. *J Am Acad Dermatol* 1998;39:737-40.
39. Baharestani M. The clinical relevance of debridement. In: Baharestani M, Gottrup F, Holstein P, Vanscheidt W (eds). *The Clinical Relevance of Debridement*. Heidelberg: Springer-Verlag, 1999.
40. Steed DL. The diabetic ulcer study group. Clinical evaluation of recombinant human platelet-derived growth factor for the treatment of lower extremity diabetic ulcers. *J Vasc Surg* 1995;21:71-81.
41. Steed DL, Donohoe D, Webster MW, Lindsley L. Effect of extensive debridement and treatment on the healing of diabetic foot ulcers. *J Am Coll Surg* 1996;183:61-4.
42. Fowler E. Instrument/sharp debridement on non-viable tissue in wounds. *Ost Wound Manag* 1992;38:26, 28-30, 32-3.
43. Berger MM. Enzyme debriding preparations. *Ost Wound Manag* 1993;39:61-2, 66-9.
44. Fowler E, van Rijswijk L. Using wound debridement to help achieve the goals of care. *Ost Wound Manag* 1995;41(7A Suppl):23S-35S.
45. Elek S. Experimental staphylococcal infections in the skin of man. *Ann NY Acad Sci* 1956;69:56.
46. Edlich RF, Panek PH, Rodeheaver GT, et al. Physical and chemical configuration of sutures in the development of surgical infection. *Ann Surg* 1973;177:679-88.
47. Lyons AS, Petrucelli RJ. *Medicine: An Illustrated History*. New York, NY: Henry A. Abrams Publications, 1987.
48. Vanscheidt W, Sadjadi Z, Lillieborg S. EMLA anaesthetic cream for sharp leg ulcer debridement: A review of the clinical evidence for analgesic efficacy and tolerability. *Eur J Dermatol* 2001;11(2):90-6.
49. Sinclair RD, Ryan TJ. Types of chronic wounds: Indications for enzymatic debridement. In: Westerhof W, Vanscheidt W (eds). *Proteolytic Enzymes and Wound Healing*. New York, NY: Springer-Verlag, 1994:7-20.
50. Nemeth AJ, Eaglstein WH. Wound dressings and local treatment in leg ulcers: Diagnosis and treatment. In: Westerhof W (ed). *Leg Ulcers: Diagnosis and Treatment*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1993:325-33.
51. Eaglstein WH, Falanga V. Chronic wounds. *Surg Clin North Am* 1997;77:689-700.
52. Molan PC. Potential of honey in the treatment of wounds and burns. *Am J Clin Dermatol* 2001;2(1):13-9.
53. Molan PC. Re-introducing honey in the management of wounds and ulcers -- theory and practice. *Ost Wound Manag* 2002;48(11):28-40.
54. Lusby PE, Coombes A, Wilkinson JM. Honey: A potent agent for wound healing? *J WOCN* 2002;29(6):295-300.
55. Tonks A, Cooper RA, Price AJ, et al. Stimulation of TNF-alpha release in monocytes by honey. *Cytokine* 2001;14(4):240-2.

56. Alteres WV. Debriding enzymes. *J Enterostam Ther* 1984;11:122-3.
57. Krane SM. Collagenases and collagen degradation. *J Invest Dermatol* 1982;79(Suppl 1):83S-86S.
58. Ziegler UE. Enzymatic debridement. In: Cherry GW, Harding KG, Ryan TJ (eds). Wound bed preparation. Proceedings of a symposium sponsored by the European Tissue Repair Society; 2000 Nov 24-25; Oxford UK. International Congress and Symposium Series 250. Royal Society of Medicine Press Limited, 2001:99-103.
59. Varma AO, Bugatch E, German FM. Debridement of dermal ulcers with collagenase. *Surg Gynecol Obstet* 1973;136(2):281-2.
60. Barrett D, Klibanski A. Collagenase debridement. *Am J Nurs* 1973;73(5):849-51.
61. Vrabec R, Moserova J, Konickova Z, et al. Clinical experience with enzymatic debridement of burned skin with the use of collagenase. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol* 1974;18(4):496-8.
62. Zaruba F, Lettl A, Brozkova L, et al. Collagenase in the treatment of ulcers in dermatology. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol* 1974;18(4):499-500.
63. Vetra H, Whittaker D. Hydrotherapy and topical collagenase for decubitus ulcers. *Geriatrics* 1975;30:53-8.
64. Rao DB, Sane PG, Georgiev EL. Collagenase in the treatment of dermal and decubitus ulcers. *J Am Geriatr Soc* 1975;23:22-30.
65. Altman MI, Goldstein L, Horowitz S. Collagenase: An adjunct to healing trophic ulcerations in the diabetic patient. *J Am Podiatry Assoc* 1978;68(1):11-5.
66. Shapira E, Giladi A, Neuman Z. Use of water insoluble papain (WIP) for debridement of burn eschar and necrotic tissue. *Plast Reconstr Surg* 1973;52:279-81.
67. Silverstein P, Ruzicka FJ, Helmkamp GM, et al. *In vitro* evaluations of enzymatic debridement of burn eschar. *Surgery* 1973;73:15-22.
68. Curtis R, Blache C, Johnston K, et al. Accuzyme papain urea ointment versus collagenase Santyl ointment in the treatment of partial thickness burn wounds. Proceedings: Am Burn Assoc Meeting, 1999.
69. Rutkowski ER, Lozano DD, Hansbrough JF. A comparison of the debridement of full thickness burns in mice treated with collagenase versus papain-urea ointment. Proceedings: Wound Healing Society meeting, 1999.
70. Miller EW. Decubitus ulcers treated with papain-urea-chlorophyllin ointment. *NY State Med* 1956;1446-8.
71. Miller JM, Howard F. The interaction of papain, urea, and water-soluble chlorophyll in a proteolytic ointment for infected wounds. *Surgery* 1958;43:939-48.
72. Mosher BA, Cuddigan J, Thomas DR, Boudreau DM. Outcomes of 4 methods of debridement using a decision analysis methodology. *Adv Wound Care* 1999;12(2):81-8.
73. Hulsten L. Dressings for surgical wounds. *Am J Surg* 1994;167(1A):42S-44S.
74. Dow G, Browne A, Sibbald RG. Infection in chronic wounds: Controversies in diagnosis and treatment. *Ost Wound Manag* 1999;45:23-40.
75. Kloth LC, McCulloch JM. Promotion of wound healing with electrical stimulation. *Adv Wound Care* 1996;9(5):42-5.
76. DeFranzo AJ, Argenta LC, Marks MW, et al. The use of vacuum-assisted closure therapy for the treatment of lower-extremity wounds with exposed bone. *Plast Reconstr Surg* 2001;108(5):1184-91.
77. Webb LX. New techniques in wound management: Vacuum-assisted wound closure. *J Am Acad Orthop Surg* 2002;10(5):303-11.
78. Voinchet V, Magalon G. Vacuum assisted closure. Wound healing by negative pressure. *Ann Chir Plast Esthet* 1996;41(5):583-9.
79. Mumcuoglu KY, Ingber A, Gilead L, et al. Maggot therapy for the treatment of intractable wounds. *Int J Dermatol* 1999;38(8):623-7.
80. Sherman RA. Maggot versus conservative debridement therapy for the treatment of pressure ulcers. *Wound Repair Regen* 2002;10(4):208-14.
81. Thomas S, Andrews A. The use of larval therapy in wound management. *J Wound Care* 1998;7:521-4.
82. Vistnes LM, Lee R, Ksander GA. Proteolytic activity of blowfly larvae secretions in experimental burns. *Surgery* 1981;90:835-41.
83. Wollina U, Liebold K, Schmidt WD, et al. Biosurgery supports granulation and debridement in chronic wounds -- clinical data and remittance spectroscopy measurement. *Int J Dermatol* 2002;41(10):635-9.
84. Mumcuoglu KY. Clinical applications for maggots in wound care. *Am J Clin Dermatol* 2001;2(4):219-27.
85. Falanga V. Introducing the concept of wound bed preparation. *International Forum on Wound Care* 2001;16(1):1-4.
86. Kerstein MD. Wound infection: Assessment and management. *WOUNDS* 1996;8:141-4.

87. De Haan B, Ellis H, Wilks M. The role of infection in wound healing. *Surg Gynecol Obstet* 1974;138:693-700.
88. Pollack SV. The wound healing process. *Clin Dermatol* 1984;2:8-16.
89. Marks J, Harding KG, Hughes LE. Staphylococcal infection of open granulating wounds. *Br J Surg* 1987;74(2):95-7.
90. Madsen SM, Westh H, Danielsen L, Rosdahl VT. Bacterial colonisation and healing of venous leg ulcers. *APMIS* 1996;104:895-9.
91. Cutting KF, Harding KG. Criteria for identifying wound infection. *J Wound Care* 1994;3(4):198-201.
92. Gardner SE, Frantz RA, Doebbeling BN. The validity of the clinical signs and symptoms used to identify localized wound infection. *Wound Repair Regen* 2001;9(3):178-86.
93. Krizek T, Robson M, Kho E. Bacterial growth in skin graft survival. *Surg Forum* 1967;18:518.
94. Robson MC, Lea CE, Dalton JB, Hegggers JP. Quantitative bacteriology and delayed wound closure. *Surg Forum* 1968;19:501-2.
95. Thomson PD. Immunology, microbiology, and the recalcitrant wound. *Ost Wound Manag* 2000;46(Suppl 1A): 77S-82S.
96. Robson M, Duke W, Krizek T. Rapid bacterial screening in the treatment of civilian wounds. *J Surg Res* 1973;14:420.
97. Robson MC, Hegggers JP. Surgical infection II: The beta-hemolytic streptococcus. *J Surg Res* 1969;9:289-92.
98. Bucknall TE. The effect of local infection upon wound healing: An experimental study. *Br J Surg* 1980;67:851-5.
99. Thomson PD. What is the role of bacteria in chronic wound exudates? In: Cherry G, Harding KG (eds). Management of wound exudate. Proceedings of a joint meeting of the European Wound Management Association and the European Tissue Repair Society. London, England. Churchill Communications Limited, 1997:35-8.
100. Facklam R, Washington J. Streptococcus and related catalase-negative gram-positive cocci. In: Balows A, Hausler W, Hermann K, et al. (eds). *Manual of Clinical Microbiology, Fifth Edition*. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1991:238.
101. Bohnen J, Matlow A, Nohr C, et al. Pathogenicity of enterococcus in a rat model of fecal peritonitis. In: Program and abstracts of the Interscience Conference Antimicrobial Agents Chemotherapy, 1993. Abstract 276.
102. Schuchat A. Group B streptococcus. *Lancet* 1999;353:51.
103. Davies CE, Wilson MJ, Harding KG, et al. Use of molecular techniques to study microbial diversity in the skin: Chronic wounds reevaluated. *Wound Rep Reg* 2001;9:332-40.
104. Deresinski S. Infections in the diabetic patient: Strategies for the clinician. *Infectious Disease reports*. 1995;1:1.
105. Davey ME, O'Toole GA. Microbial biofilms: From ecology and molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000;64:847-67.
106. Laato M, Niinikoski J, Lundberg C, Gerdin B. Inflammatory reaction in blood flow and experimental wounds inoculated with *Staphylococcus aureus*. *Eur Surg Res* 1988;20:33-8.
107. Filius PM, Gyssens IC. Impact of increasing antimicrobial resistance on wound management. *Am J Clin Dermatol* 2002;3(1):1-7.
108. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:244-69.
109. Moore K, Thomas A, Harding KG. Iodine released from the wound dressing Iodosorb modulates the secretion of cytokines by human macrophages responding to bacterial lipopolysaccharide. *Int J Biochem Cell Biol* 1997;29(1):163-71.
110. Sundberg J, Meller R. A retrospective review of the use of cadexomer iodine in the treatment of chronic wounds. *WOUNDS* 1997;9:68-86.
111. Moberg S, Hoffman L, Grennert M, Holst A. A randomized trial of cadexomer iodine in decubitus ulcers. *J Am Geriatr Soc* 1983;31:462-5.
112. Gruber RP, Vistnes L, Pardoe R. The effect of commonly used antiseptics on wound healing. *Plast Reconstr Surg* 1975;55:472-6.
113. Viljanto J. Disinfection of surgical wounds without inhibition of normal wound healing. *Arch Surg* 1980;115:253-6.
114. Rodeheaver G, Bellamy W, Kody M, et al. Bactericidal activity and toxicity of iodine-containing solutions in wounds. *Arch Surg* 1982;117:181-6.
115. Hermans RP. Topical treatment of serious infections with special reference to use of a mixture of silver sulfadiazine and cerium nitrate: Two clinical studies. *Burns Incl Therm Inj* 1984;11:59-62.

116. Robins P, Day C, Lew R. A multivariate analysis of factors affecting wound healing time. *J Dermatol Surg Oncol* 1984;10:219-21.
117. Niedner R, Schopf E. Inhibition of wound healing by antiseptics. *Br J Dermatol* 1986;115(Suppl 31):41-4.
118. Danielsen L, Cherry GW, Harding K, Rollman O. Cadexomer iodine in ulcers colonised by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Wound Care* 1997;6(4):169-72.
119. Mertz PM, Davis SC, Brewer L, et al. Can antimicrobials be effective without impairing wound healing? The evaluation of cadexomer iodine ointment. *WOUNDS* 1994;6:184-93.
120. Mertz PM, Oliveira-Gandia MF, Davis SC. The evaluation of a cadexomer iodine wound dressing on methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in acute wounds. *Dermatol Surg* 1999;25:89-93.
121. Cooper ML, Laxer JA, Hansbrough JF. The cytotoxic effects of commonly used topical anti-microbial agents on human fibroblasts and keratinocytes. *J Trauma* 1991;31(6):775-84.
122. Lineaweaver W, Howard R, Soucy D, et al. Topical antimicrobial toxicity. *Arch Surg* 1985;120(3):267-70.
123. Fleischer W, Reimer K. Povidone-iodine in antiseptics: State of the art. *Dermatology* 1997;195(Suppl 2):3-9.
124. Drosou A, Falabella A, Kirsner R. Antiseptics on wounds: An area of controversy. *WOUNDS* 2003;15(5):149-66.
125. Sibbald RG, Coutts P, Browne AC, Coehlo S. Acticoat, a new ionized silver-coating dressings: Its effect on bacterial load and healing rates. Poster presented at: First World Wound Healing Congress, September 10-13, 2000b; Melbourne, Australia.
126. Wright JB, Hansen DL, Burrell RE. The comparative efficacy of two controlled release silver dressings. *WOUNDS* 1998;10(6):179-88.
127. Bishop JB, Philips LG, Mustoe TA, et al. A prospective randomised evaluator-blinded trial of two potential wound healing agents for the treatment of venous stasis ulcers. *J Vasc Surg* 1992;16(2):251-7.
128. Kucan JO, Robson MC, Heggors JP, et al. Comparison of silver sulfadiazine, povidone-iodine and physiologic saline in the treatment of chronic pressure ulcers. *J Am Geriatr Soc* 1981;29(5):232-5.
129. Mi FL, Wu YB, Shyu SS, et al. Control of wound infections using a bilayer chitosan wound dressing with sustainable antibiotic delivery. *J Biomed Mater Res* 2002;59(3):438-49.
130. Dhingra U, Schauerhammer RR, Wangenstein OW. Peripheral dissemination of bacteria in contaminated wounds; role of devitalised tissue: Evaluation of therapeutic measures. *Surgery* 1976;80(5):535-43.
131. Sapico FL, Canawati HN, Witte JL, et al. Quantitative aerobic and anaerobic bacteriology of infected diabetic feet. *J Clin Microbiol* 1980;12:413-20.
132. Rosner K, Ross C, Karlsmark T, et al. Immunohistochemical characterization of the cutaneous cellular infiltrate in different areas of chronic leg ulcers. *APMIS* 1995;103(4):293-9.
133. Tarnuzzer RW, Schultz GS. Biochemical analysis of acute and chronic wound environments. *Wound Repair Regen* 1996;4:321-5.
134. Falanga V, Grinnell F, Gilchrist B, et al. Workshop on the pathogenesis of chronic wounds. *J Invest Dermatol* 1994;102:125-7.
135. Katz MH, Alvarez AF, Kirsner RS, et al. Human wound fluid from acute wounds stimulates fibroblast and endothelial cell growth. *J Am Acad Dermatol* 1991;25:1054-8.
136. Mast BA, Schultz GS. Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds. *Wound Repair Regen* 1996;4:411-20.
137. Weckroth M, Vaheri A, Lauharanta J, et al. Matrix metalloproteinases, gelatinase and collagenase, in chronic leg ulcers. *J Invest Dermatol* 1996;106:1119-24.
138. Wysocki AB, Staiano-Coico L, Grinnell F. Wound fluid from chronic leg ulcers contains elevated levels of metalloproteinases MMP-2 and MMP-9. *J Invest Dermatol* 1993;101:64-8.
139. Trengove NJ, Stacey MC, MacAuley S, et al. Analysis of the acute and chronic wound environments: The role of proteases and their inhibitors. *Wound Repair Regen* 1999;7:442-52.
140. Drinkwater SL, Smith A, Sawyer BM, Burnard KG. Effect of venous ulcer exudates on angiogenesis *in vitro*. *Br J Surg* 2002;89(6):709-15.
141. Staiano-Coico L, Higgins PJ, Schwartz SB, et al. Wound fluids: A reflection of the state of healing. *Ost Wound Manag* 2000;46(Suppl 1A):85S-93S.
142. Thomas DW, O'Neill ID, Harding KG, et al. Cutaneous wound healing -- a current perspective. *J Oral Maxillofac Surg* 1995;53:442-7.
143. Grinnell F, Ho CH, Wysocki A. Degradation of fibronectin and vitronectin in chronic wound fluid: Analysis by cell blotting, immunoblotting, and cell adhesion assays. *J Invest Dermatol* 1992;98(4):410-6.

144. Saarialho-Kere UK. Patterns of matrix metalloproteinase and TIMP expression in chronic ulcers. *Arch Dermatol Res* 1998;290(Suppl):S47-54.
145. Agren MS, Eaglstein WH, Ferguson MW, et al. Causes and effects of the chronic inflammation in venous leg ulcers. *Acta Derm Venereol* (Stockh) 2000;210(Suppl):3-17.
146. Stanley AC, Park HY, Phillips TJ, et al. Reduced growth of dermal fibroblasts from chronic leg ulcers can be stimulated with growth factors. *J Vasc Surg* 1997;26:994-1001.
147. Campisi J. Replicative senescence: An old lives' tale? *Cell* 1996;84:497-500.
148. Vande Berg JS, Rudolph R, Hollan C, Haywood-Reid PL. Fibroblast senescence in pressure ulcers. *Wound Repair Regen* 1998;6:38-49.
149. Hasan A, Murata H, Falabella A, et al. Dermal fibroblasts from venous ulcers are unresponsive to the action of transforming growth factor-beta 1. *J Dermatol Sci* 1997;16:59-66.

Reprint Address

Professor Keith Harding, MB ChB, MRCP, FRCS, Wound Healing Research Unit, University of Wales College of Medicine, Cardiff Medicentre, Heath Park, Cardiff CF14 4UJ United Kingdom, Phone: 44-29-2075-7744; Fax: 44-29-2075-4217; E-mail: hardingkg@whru.co.uk.

Abbreviation Notes

bFGF, Basic fibroblast growth factor; **CD**, Cluster of differentiation; **ECM**, Extracellular matrix; **EGF**, Epidermal growth factor; **HB-EGF**, Heparin-binding epidermal growth factor; **IGF-1**, Insulin-like growth factor-1; **IL-1b**, Interleukin-1b; **IL-6**, Interleukin-6; **MMPs**, Matrix metalloproteinases; **MRSA**, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; NK cells, Natural killer cells; **PDGF**, Platelet-derived growth factor; **TGF-a**, Transforming growth factor-a; **TGF-b**, Transforming growth factor-b; **TIMPs**, Tissue inhibitors of metalloproteinases; **TNF-a**, Tumor necrosis factor-a; **VEGF**, Vascular endothelial growth factor; **VAC**, Vacuum-assisted closure

Stuart Enoch, MBBS, MRCS(Eng),¹ Keith Harding, MB ChB, MRCP, FRCS²

¹Clinical Research Fellow and ²Head of University Department of Surgery and Professor of Rehabilitation Medicine (Wound Healing), Wound Healing Research Unit, University of Wales College of Medicine, Cardiff, United Kingdom
