



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias de la Salud

Trabajo Fin de Grado

**TRATAMIENTO DEL
BIOFILM EN HERIDAS
CRÓNICAS: REVISIÓN
NARRATIVA**

Alumno/a: Vizcaíno Martínez, Alba M^a

Tutor/a: Prof^a. D^a. María Dolores López Franco
Dpto: Enfermería

Mayo, 2022



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias de la Salud

Trabajo Fin de Grado

TRATAMIENTO DEL BIOFILM EN HERIDAS CRÓNICAS: REVISIÓN NARRATIVA

Alumno/a: Vizcaíno Martínez, Alba M^a

Tutor/a: Prof^a. D^a. María Dolores López Franco
Dpto: Enfermería

Mayo, 2022

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera agradecer a la profesora María Dolores López Franco por orientarme en este camino.

A mi familia y Pablo por ayudarme a creer en mí y apoyarme en todas las dificultades.

A mis compañeros por estos 4 años llenos de momentos buenos y no tan buenos, en especial a mis 4 niñas Alba, Rocío, Aroa y Cati por ser mi apoyo diario en esta etapa.

A todos los profesionales que me he cruzado por el camino y me han hecho amar aún más esta profesión.

Para todos ellos, mi más sincero agradecimiento.

ÍNDICE

RESUMEN.....	6
1. INTRODUCCIÓN.....	8
1.1. Proceso de cicatrización.....	8
1.2. Concepto de infección.....	10
1.3. Concepto de biofilm.....	11
1.4. Identificación del biofilm.....	11
1.5. Manejo del biofilm.....	13
1.6. Justificación.....	15
2. OBJETIVOS.....	16
3. METODOLOGÍA.....	16
3.1. Tipo de estudio.....	16
3.2. Estrategia de búsqueda.....	16
3.3. Criterios de selección y calidad de los estudios.....	17
3.4. Extracción de datos.....	18
3.5. Clasificación de los resultados.....	18
3.6. Análisis de los resultados.....	18
4. RESULTADOS.....	19
4.1. Características de los estudios seleccionados.....	19
4.2. Resultados específicos de los estudios y discusión.....	22
4.2.1. <i>Terapia larval</i>	22
4.2.2. <i>Surfactantes</i>	25
4.2.3. <i>Terapia de presión negativa</i>	28
4.2.4. <i>Desbridamiento ultrasónico de baja frecuencia</i>	32
4.2.5. <i>Cadexómero yodado</i>	35
4.2.6. <i>Terapia fotodinámica</i>	38
5. CONCLUSIONES.....	39
6. BIBLIOGRAFÍA.....	41

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

• Tabla 1: Bases de datos consultadas.....	17
• Figura 1: Diagrama de flujo.....	19
• Tabla 2: Resultados del cuestionario CASPe en estudios ECA y revisiones.....	20
• Tabla 3: Evaluación de la calidad de los estudios cuasiexperimentales mediante guía TREND.....	21
• Tabla 4: Resultados estudios in vivo de la terapia larval.....	24
• Tabla 5: Resultados estudios in vitro de la terapia larval.....	25
• Tabla 6: Resultados estudios in vitro con surfactantes.....	27
• Tabla 7: Resultados estudios in vivo con surfactantes.....	28
• Tabla 8: Resultados estudios in vitro con Terapia de presión negativa.....	31
• Tabla 9: Resultados estudios in vitro con Terapia de presión negativa.....	32
• Tabla 10: Resultados estudios in vivo con animales usando desbridamiento ultrasónico de baja frecuencia.....	34
• Tabla 11: Resultados estudios in vivo con cadexómero yodado.....	36
• Tabla 12: Resultados estudios in vitro con cadexómero yodado.....	37

ABREVIATURAS

- **HR:** Hazard Ratio
- **S .aureus:** Staphylococcus aureus
- **S. epidermis:** staphylococcus epidermis
- **MRSA:** Staphylococcus aureus resistente a meticilina
- **P. aeruginosa:** Pseudomona aeruginosa
- **P. mirabilis:** Proteus mirabilis
- **E. coli:** Escherichia coli
- **C. albicans:** Candida albicans
- **CI:** cadexómero yodado
- **SBPHMB:** polihexametileno biguanida
- **GM:** gentamicina
- **RF:** rifampicina

- **NaCl:** cloruro sódico
- **TPN:** Terapia de presión negativa
- **CI:** Cadexómero yodado
- **UFC/ml:** Unidades formadoras de colonias por mililitro
- **KHZ:** kilohercio
- **GC:** grupo control
- **GE:** Grupo experimental
- **G1:** Grupo 1
- **G2:** Grupo 2

RESUMEN

- **Introducción:** La eliminación del biofilm está suponiendo un reto a los profesionales sanitarios, ya que un manejo incorrecto del mismo conlleva el desarrollo de resistencias antimicrobianas además de la cronicidad de la herida por el enlentecimiento que se produce en la cicatrización. Cada vez se va tomando más conciencia sobre su presencia en las heridas y el papel fundamental que desarrolla en su curación y poco a poco hay más estudios sobre las distintas estrategias existentes para su abordaje.
- **Objetivo:** Describir las estrategias en el tratamiento del biofilm en heridas crónicas e identificar los efectos adversos asociados a estas estrategias.
- **Metodología:** La estrategia de búsqueda se llevó a cabo en las bases de datos tanto nacionales como internacionales: Pubmed, CINHALL, CUIDEN, Scopus y Lilacs desde 2012 a 2022. Se incluyeron artículos en inglés, español o portugués que trataran sobre el tratamiento del biofilm en heridas crónicas tanto in vitro como in vivo. Se excluyeron aquellos que trataban de otro tipo de heridas.
- **Resultados:** Se incluyeron 18 estudios de los cuales 6 son revisiones, 9 son estudios cuasiexperimentales y 3 son ECA. Se recogen distintas terapias sobre las que se analiza su eficacia, estas serían: Terapia larval, surfactantes, terapia de presión negativa, desbridamiento ultrasónico de baja frecuencia, cadexómero yodado y terapia fotodinámica.
- **Conclusión:** No podemos afirmar que terapia es mejor que otra ya que no existen estudios donde se comparen todas las terapias entre sí, además la falta de estudios in vivo nos impide reconocer cual es la más beneficiosa en cuanto a los efectos adversos que ocasionan en el paciente. Los profesionales podrían considerar una combinación de terapias para aumentar su efecto antibiofilm.

PALABRAS CLAVE: Heridas crónicas, cicatrización de heridas y biofilm

ABSTRACT

- **Introduction:** The elimination of biofilm is posing a challenge to health professionals, since its incorrect handling leads to the development of antimicrobial resistance in addition to the chronicity of the wound due to the slowing that occurs in healing. There is increasing awareness of its presence in wounds and the fundamental role it plays in their healing, and little by little there are more studies on the different existing strategies for its approach.
- **Objective:** Describe the strategies in the treatment of biofilm in chronic wounds and identify the adverse effects associated with these strategies.
- **Methodology:** The search strategy was carried out in both national and international databases: Pubmed, CINHALL, CUIDEN, Scopus and Lilacs from 2012 to 2022. Articles in English, Spanish or Portuguese that dealt with the treatment of biofilm in chronic wounds both in vitro and in vivo were included. Those dealing with other types of wounds were excluded.
- **Results:** 18 studies were included, of which 6 are reviews, 9 are quasi-experimental studies and 3 are ECAs. Different therapies are collected on which their efficacy is analyzed, these would be: Larval therapy, surfactants, negative pressure therapy, low-frequency ultrasonic debridement, iodinated cadexomer and photodynamic therapy.
- **Conclusion:** We cannot say which therapy is better than another since there are no studies where all therapies are compared with each other, in addition, the lack of in vivo studies prevents us from recognizing which is the most beneficial in terms of the adverse effects they cause in the patient. Professionals could consider a combination of therapies to increase its antibiofilm effect.

KEY WORDS: chronic wound, wound healing, biofilms

1. INTRODUCCIÓN

Las heridas crónicas son un problema que afecta a millones de personas en todo el mundo, en Estados Unidos esta cifra ronda los 6,5 millones de pacientes. Se estima que el costo anual que supone el tratamiento de heridas crónicas es de 25000 millones de dólares al año, presupuesto que aumentará en los próximos años dada la creciente prevalencia de enfermedades crónicas y el envejecimiento de la población ¹.

Un estudio realizado para comprobar la mortalidad de las personas con heridas crónicas demostró que estos pacientes presentan un riesgo de mortalidad mucho mayor que otras personas de su misma edad y sexo, concretamente el sexo masculino y con úlceras de etiología arterial serían los más afectados con un Hazard ratio (HR) de 1,99 frente a un HR 1,62 en el sexo femenino ².

Entendemos como herida crónica aquella que no sigue un proceso de cicatrización normal y ordenado y como consecuencia no consigue reparar la integridad cutánea y funcional tras 3 meses de tratamiento. Dentro de este grupo se encuentran las úlceras diabéticas, arteriales, por presión y venosas ³.

Un objetivo esencial para conseguir la cicatrización de heridas es recuperar la función barrera de la piel lo antes posible. Para conseguir dicho objetivo, trabajan de forma coordinada diversas células y mediadores durante un proceso de 4 etapas denominado proceso de cicatrización ⁴.

1.1. Proceso de cicatrización

Estas 4 etapas que hemos mencionado se activan desde el momento en el que se produce el daño en la piel. Es un proceso dinámico en el que todas las fases se solapan entre sí y dependen de la activación de distintas células que trabajan para fomentar el crecimiento, la reparación y la remodelación del tejido, esto permite reestablecer las condiciones iniciales de la piel devolviéndole su función barrera ⁵. Para comprender mejor este proceso, vamos a describir a continuación cada fase:

1- Fase de hemostasia

Ocurre inmediatamente después del momento en el que se produce la lesión y viene determinada por la acción hemostática de las plaquetas, las cuáles se adhieren a los vasos sanguíneos dañados formando un tapón y dando lugar al inicio de la cascada

de coagulación, que tiene como fin evitar la pérdida de sangre excesiva a la vez que crear una barrera provisional en la herida⁶.

2- Fase inflamatoria

Una vez que se frena la hemorragia en la herida se inicia la fase inflamatoria, en ella se produce un incremento de la permeabilidad capilar permitiendo así la llegada de los neutrófilos, como primera línea de defensa del organismo, y después entran en acción los monocitos, macrófagos y linfocitos⁶.

Las citocinas permiten la conversión de monocitos en macrófagos, los cuáles se encargan de eliminar los patógenos y desechos de la herida además de, enviar señales para el reclutamiento de fibroblastos de los tejidos que rodean a la herida y producir enzimas líticas (colagenasa y elastasa)⁶.

Tras estos aparecen citoquinas pro-inflamatorias (TN α , IL1, IL6 y factor de crecimiento de fibroblastos) que intervienen sobre los fibroblastos promoviendo la llegada al lecho de la herida de células especializadas en la construcción de tejido para formar una nueva matriz provisional⁶.

Podemos considerar esta fase como limpieza y saneamiento del lecho de la herida⁶.

3- Fase proliferativa

Se produce la formación de tejido de granulación la cual estará mediada por los fibroblastos y la formación de colágeno⁶.

Es necesario un suministro de sangre en la zona para que aporte los nutrientes necesarios, por ello se produce la angiogénesis o lo que es lo mismo, la formación de nuevos vasos sanguíneos para que abastezcan la zona⁶.

Paralelamente los fibroblastos sustituyen la matriz provisional de fibrina creada en la fase anterior por una nueva matriz de: colágeno tipo III, fibrina, fibronectina y ácido hialurónico⁶.

4- Fase de remodelado

En esta fase la matriz provisional formada por colágeno III se sustituye por una matriz extracelular de colágeno I formada por los fibroblastos ⁶.

Finalmente se produce un tejido de características similares a la piel sana, lo que se conoce como la cicatriz ⁶.

Cuando se produce un exceso de neutrófilos en la herida se produce un estado inflamatorio prolongado que impide a la herida avanzar a la fase de proliferación, provocando que tarde en cicatrizar más de un mes y convirtiéndose en una herida crónica⁶.

Factores como la insuficiencia vascular y la infección disminuyen la capacidad de cicatrización de la herida; la infección que se produce en una herida crónica conlleva una respuesta inflamatoria prolongada además de alteración en la producción de colágeno, epitelización y daño tisular ⁶. Vamos a profundizar más en el concepto de infección y en su proceso en las heridas.

1.2. Concepto de infección

Antes de comenzar debemos saber que la piel no es un órgano estéril, ya que está formada por numerosos microorganismos que forman la microbiota de la piel. Estos microorganismos no producen ningún daño para nuestro organismo, pero sí nos aportan múltiples beneficios ⁷.

Se ha calculado que en la piel limpia existen alrededor de 10^{12} bacterias, por lo tanto, cuando se pierde la integridad de la piel y se produce una herida estas bacterias penetran en el interior y proliferan. Esto pone de manifiesto que todas las heridas poseen microorganismos y no por eso están infectadas. Para hablar de herida infectada esta debe experimentar un proceso dinámico formado por 4 fases⁷:

- Contaminación: en esta fase la herida contiene microorganismos, pero estos no se multiplican ni retrasan la cicatrización de la herida.
- Colonización: Los microorganismos se multiplican, pero no hay signos de infección.
- Colonización crítica: No hay signos de infección, pero producen signos de enlentecimiento de la cicatrización.

- **Infección:** Hay una elevada concentración de microorganismos y se produce una respuesta inmunitaria.

Gracias a los avances de los últimos años se sabe que en las heridas puede aparecer un tipo de microorganismos que presentan gran dificultad para ser eliminado, estos se conocen como biofilm ⁸.

1.3. Concepto de biofilm

Las bacterias en heridas crónicas presentan 10 veces más de posibilidades de producir biofilm que las heridas agudas. El biofilm que se produce suele ser resistente a la acción de los antibióticos dificultando aún más la cicatrización de la herida ⁸.

Entendemos por biofilm a una comunidad de bacterias que se encuentran encapsuladas en una matriz, la cual se adhiere al lecho de la herida y además le ofrece protección a las bacterias frente al sistema inmunitario del huésped y a los distintos antimicrobianos usados para su tratamiento. Las infecciones que dan lugar al biofilm no están producidas sólo por un tipo de microorganismo, sino que intervienen varios tipos. Las etapas para la consolidación del biofilm son ⁹:

1. Se produce la adherencia de forma irreversible a una superficie susceptible de una bacteria planctónica, esto conlleva que las bacterias proliferen a la vez que envían señales químicas para formar colonias.
2. Las bacterias comienzan a fabricar una cápsula formada por polisacáridos, proteínas y ADN extracelular que ofrece protección a las bacterias frente a los mecanismos de defensa del hospedador y frente a los diversos tratamientos utilizados.
3. Finalmente, la biopelícula no puede seguir aumentando de tamaño, lo que ocasiona que algunas colonias se separen y se dispersen por el lecho de la herida convirtiéndose de nuevo en bacterias planctónicas y comenzando la formación de nuevos biofilms.

1.4. Identificación del biofilm

Cuando el crecimiento del biofilm se produce en superficies no biológicas y alcanzan un tamaño considerable podemos identificarlas a simple vista, sobre todo si presenta algún color. La cosa es diferente cuando crece sobre superficies biológicas como es el caso de las heridas crónicas. En ellas sería necesario la

realización de una biopsia de la herida y una posterior tinción para identificar la presencia de una biopelícula. La recogida de la muestra mediante hisopo sería errónea ya que se recolectarían las bacterias presentes en la microbiota de nuestra piel y no las que contiene el biofilm, el cual se encuentra fuertemente adherido a la herida ¹⁰.

Algunos médicos describen una herida infectada con biofilm como la presencia de una capa viscosa y transparente que se extiende sobre el lecho de la herida, pero sin la presencia de otras pruebas clínicas que lo avalen se puede considerar un criterio poco fiable¹¹.

Di Domenico et al. (2017) afirman que las bacterias más comunes encontradas en el biofilm de heridas crónicas mediante las técnicas de cultivo clásicas fueron, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Midieron la capacidad que estos microorganismos tienen para producir biopelículas con respecto a otros, como resultado obtuvieron unos porcentajes superiores (intensidad moderada o alta en el 94,6 % y el 73,7 % de las cepas, respectivamente) frente a las enterobacterias¹².

Los enfoques tradicionales basados en cultivos menosprecian la complejidad y la variedad microbiana total de la microbiota asociada a los humanos. Los hongos suelen ser excluidos a la hora de realizar un estudio sobre los microorganismos que interfieren en la cicatrización de las heridas, a pesar de estar presentes en un número considerable de heridas crónicas¹³.

Chellan *et al.*¹⁴ estudió 518 heridas diabéticas en la cara anterior de la extremidad inferior, mediante la aplicación directa de medios de cultivo específicos para hongos tras producirse un desbridamiento de la herida y una limpieza con solución salina. Tras 1 mes de observación aparecieron en el cultivo 18 especies diferentes de hongos en el 27,2% de las heridas. Alrededor del 6% de las heridas presentaban solamente hongos mientras que el 21,4% presentaban de forma mixta hongos y bacterias.

En 2011, el primer estudio que utilizó el análisis independiente del cultivo de levaduras y hongos en heridas crónicas de etiología mixta encontró que el 23 % de las muestras presentaban hongos. Posteriormente se dieron cuenta de que aquellos pacientes tratados con antibióticos sistémicos presentaban mayor variedad de hongos que aquellos que no fueron tratados con antibióticos sistémicos, esto muestra que la utilización de antibióticos dirigidos únicamente al tratamiento de las bacterias produce un entorno favorable para el crecimiento de hongos ¹³.

1.5. Manejo del biofilm

El manejo inicial para el tratamiento de las heridas es la preparación de su lecho. Para ello se utiliza el acrónimo TIME ¹⁵ que fue creado con el fin de proporcionar una guía sobre los componentes de la herida que hay que evaluar y abordar para que el lecho esté preparado. TIME significa:

- **Tissue (tejido):** Se evalúa el tejido de la herida eliminando los restos de materiales y desbridando el tejido desvitalizado del lecho de la herida
- **Infection/Inflammation (infección/ inflamación):** Se valora la causa de la herida y el uso de algún antimicrobiano para combatir la infección.
- **Moisture balance (balance de humedad):** manejo del exudado en el lecho de la herida.
- **Edge of wound (borde de la herida):** estimulación de los bordes epiteliales para conseguir la cicatrización.

Es un proceso dinámico en el que todos los componentes están relacionados entre sí ya que si realizamos el desbridamiento para eliminar el tejido desvitalizado también estamos contribuyendo al manejo de la infección e inflamación¹⁶.

En las heridas de difícil cicatrización, la presencia de esfacelos crea un ambiente ideal para la proliferación de bacterias formadoras de biofilm y son difíciles de eliminar debido a la fuerte adherencia que tienen con el lecho de la herida. Resulta fácil su identificación ya que presenta un color amarillento, blanco o grisáceo¹⁷.

Como se ha mencionado anteriormente, la estrategia inicial que se usa para su eliminación es el desbridamiento, el cuál debe utilizarse combinado con otras opciones de tratamiento para que resulte eficaz, ya que su función principal es preparar el lecho de la herida para que se consiga la eficacia de los tratamientos. Existen distintas técnicas¹⁷:

- **Desbridamiento autolítico:** Se realiza utilizando apósitos que favorezcan la cura en ambiente húmedo, de tal forma que se produzca un enternecimiento del tejido necrótico y su consiguiente separación del lecho de la herida.
- **Desbridamiento biológico:** consiste en la utilización de larvas estériles (*lucilia sericata*). Es un método muy selectivo ya que estas larvas ingieren el tejido desvitalizado y no afectan al tejido viable de la herida.

- **Desbridamiento enzimático:** se utiliza una enzima proteolítica, collagenasa, para que actúe eliminando el tejido necrótico. No se recomienda su uso en heridas infectadas ya que no se debe combinar con plata.
- **Desbridamiento quirúrgico:** consiste en la eliminación completa de tejido desvitalizado de una forma estéril en un quirófano. Puede presentar efectos adversos como hemorragia.
- **Desbridamiento cortante:** se realiza a pie de cama usando material estéril y consiste en eliminar tejido necrótico en varias sesiones. Se debe de tener cuidado en pacientes que presentan alteraciones vasculares o coagulopatías.
- **Desbridamiento mecánico:** No se recomienda su uso debido a que no es un método selectivo y daña el tejido viable del lecho de la herida. Se realiza mediante una irrigación muy fuerte a la herida o mediante gasas húmedas que se colocan en el lecho de la herida que son retiradas bruscamente cuando se secan, eliminando así el tejido desvitalizado, pero también el tejido sano.

Una vez que se ha limpiado el lecho de la herida del máximo tejido no viable posible, el siguiente paso sería evitar la aparición de un nuevo biofilm, para ello hay que utilizar un agente antimicrobiano. Se recomienda el uso de agentes como polihexametileno biguanida (PHMB) plata, yodo, ácido acético o diclorhidrato de octenidina⁹.

El uso de antibióticos no se recomienda, ya que su nivel de éxito es mínimo y además contribuye al desarrollo de resistencias en el organismo¹⁸. El antiséptico ideal debe de ser de amplio espectro, con un inicio de actividad rápido, una vida media larga, que aumente su potencia en presencia de compuestos orgánicos y que tenga efecto antibiofilm produciendo el menor número de efectos adversos¹⁸.

En la actualidad el tratamiento del biofilm supone un reto debido a la falta de estudios realizados in vivo para comprobar la eficacia de distintos tratamientos. La mayoría de la investigación que aborda el tema del biofilm está realizada mediante cultivos in vitro. Esto tiene sus ventajas, ya que proporcionan una forma rápida de estudio y además en numerosas ocasiones es la única manera de poder realizar estudios sobre el biofilm¹⁹.

Pero presenta también grandes desventajas, porque las condiciones en las que se cultiva el biofilm son elegidas por el investigador y es muy difícil conseguir un entorno similar al que se consigue en una herida crónica. En una herida las bacterias no suelen estar en contacto con tejido sano y fresco, si no que las condiciones del tejido son desfavorables e influyen además factores internos de la persona que no se pueden imitar en un laboratorio. Por ejemplo, sería ideal realizar estudios incorporando la presencia de sangre o proteínas de suero humanas, las cuales influyen en la forma de actuación de los antisépticos. Además, los biofilms que se consiguen in vitro son inmaduros, al probar la eficacia de distintos antibióticos sobre ellos pueden dar resultados erróneos al extrapolarlos a la herida crónica, donde el biofilm suele ser maduro ¹⁹.

Las biopelículas tardan entre 48 y 96h en desarrollar resistencia a los antibióticos, por lo que si se inicia el tratamiento antibiofilm antes de las 48h cuando todavía es inmaduro, responderá de forma más eficaz al tratamiento ²⁰.

1.6. Justificación

La eliminación del biofilm está suponiendo un reto a los profesionales sanitarios, ya que un manejo incorrecto del mismo conlleva el desarrollo de resistencias antimicrobianas además de la cronicidad de la herida por el enlentecimiento que se produce en la cicatrización de la herida ²¹.

Se ha estimado que entre el 1 y el 2% de personas que viven en países desarrollados tendrán una herida crónica a lo largo de su vida. Este tipo de heridas no suele producirse en personas sin patologías, si no que se ve incrementado en aquellas personas que padecen enfermedades como diabetes, hipertensión u obesidad. El elevado impacto social y económico de las heridas requiere un aumento de la investigación y de los recursos para ofrecer una mejor atención a los pacientes afectados¹.

La presencia de biofilms se estima entre el 60-100% de las heridas crónicas de difícil cicatrización y la multiresistencia antimicrobiana se debe en gran medida al tratamiento de este tipo de heridas²¹. Estas cifras ponen de manifiesto la necesidad de analizar las estrategias más efectivas para eliminar el biofilm. Un abordaje más efectivo provocaría una reducción del gasto sanitario utilizando los recursos disponibles de manera eficiente y acertada.

Con el paso de los años se ha empezado a aceptar el efecto de biofilm en las heridas crónicas y la necesidad de investigación sobre el tema, es por ello que se lleva a cabo esta revisión con el objetivo de facilitar la actualización sobre el tema a los profesionales sanitarios.

2. OBJETIVOS

- Objetivo general: Describir las estrategias en el tratamiento del biofilm en heridas crónicas y su efecto en la seguridad.
- Objetivos específicos: Identificar los efectos adversos asociados a las estrategias en el tratamiento del biofilm.

3. METODOLOGÍA

3.1. Tipo de estudio

Se ha realizado una revisión narrativa para determinar las distintas alternativas de tratamiento para el biofilm en heridas crónicas y sus efectos adversos para dar respuesta a los objetivos planteados.

3.2. Estrategia de búsqueda

La estrategia de búsqueda se llevó a cabo en las bases de datos tanto nacionales como internacionales: Pubmed, CINHALL, CUIDEN, Scopus y Lilacs desde 2012 a 2022. La acotación de este periodo se debe a que en esta revisión se quiere presentar los resultados más recientes en relación al tratamiento de biofilm en heridas crónicas, al ser un área de estudio en continua evolución y actualización. Las palabras clave utilizadas en el estudio han sido “chronic wound”, “wound healing” y “biofilms” junto con la utilización de sinónimos en el caso de las bases de datos que utilizan el inglés. En las bases de datos de lengua española se utilizaron los correspondientes términos en español. En todas las bases consultadas se usaron operadores booleanos y truncamientos a la hora de confeccionar las diferentes cadenas de búsqueda. En la tabla 1 se presenta la base de datos consultada.

Tabla 1. Base de datos consultadas.

BASE DE DATOS	CADENA DE BÚSQUEDA
PUBMED	((("chronic wound"[Title/Abstract]) AND (((("wound healing"[MeSH Terms]) OR ("wound healing"[Title/Abstract])) OR (treatment[Title/Abstract])) OR (therap*[Title/Abstract]))) AND ((Biofilms[MeSH Terms]) OR (biofilm*[Title/Abstract]))
CINAHL	("chronic wound?") AND ("wound healing") AND ((treatment) OR (therap#)) AND (biofilm?)
CUIDEN	(heridas crónicas) AND (cicatrización de las heridas) AND (tratamiento OR manejo) AND (biofilm OR biopelícula)
SCOPUS	(chronic wound*[Title/Abstract]) AND (wound healing[Title/Abstract]) AND ((treatment[Title/Abstract]) OR (therap*[Title/Abstract])) AND (biofilm*[Title/Abstract])
LILACS	(herida crónica\$) AND (cicatrización) AND (tratamiento\$) AND ((biofilm OR biopelícula))

Fuente: elaboración propia**3.3. Criterios de selección y calidad de los estudios.**

Antes de realizar la búsqueda en las diferentes bases de datos se establecieron los siguientes criterios de inclusión:

- Cualquier tipo de estudio que indique tratamiento en la eliminación total o parcial del biofilm
- Publicación de artículos entre 2012-2022.
- Terapias estudiadas in vivo o in vitro.
- Terapias realizadas en humanos adultos o animales.
- Terapias realizadas en heridas crónicas.
- Idioma: inglés, español o portugués.

Los artículos excluidos comprenden aquellos en los que se analiza el tratamiento de biofilm en otro tipo de heridas que no sean crónicas. Los artículos inicialmente fueron elegidos por título y resumen para posteriormente obtenerlos a texto completo para un análisis más profundo.

Para medir la calidad de los artículos seleccionados se utilizaron las plantillas CASPe²², para las revisiones y ECAS, y la guía TREND²³ para los estudios cuasiexperimentales. Ambas recogen las preguntas relevantes para determinar la calidad de un artículo.

3.4.Extracción de la información.

Para la extracción de los datos se empleó una tabla en el que se recogía los siguientes aspectos: Autor/año, intervención, resultados y efectos adversos (en aquellos estudios in vivo)

3.5.Clasificación de los resultados.

Los estudios incluidos en la revisión se agruparon en función del tratamiento encontrados.

3.6.Análisis de los resultados.

Los objetivos marcados en esta investigación no permiten combinar los resultados de los estudios individuales para sintetizar los resultados y dar una estimación global, es por ello que en el análisis de los resultados se empleará una síntesis narrativa.

4. RESULTADOS

4.1. Características de los estudios seleccionados

En la búsqueda realizada en las bases de datos explicadas en el apartado de metodología nos permitió identificar 60 estudios. Una vez eliminados los duplicados y excluir los que no cumplían los criterios fijados en la revisión, finalmente se incluyeron 18 estudios en los resultados²⁴⁻⁴¹ (Fig 1).

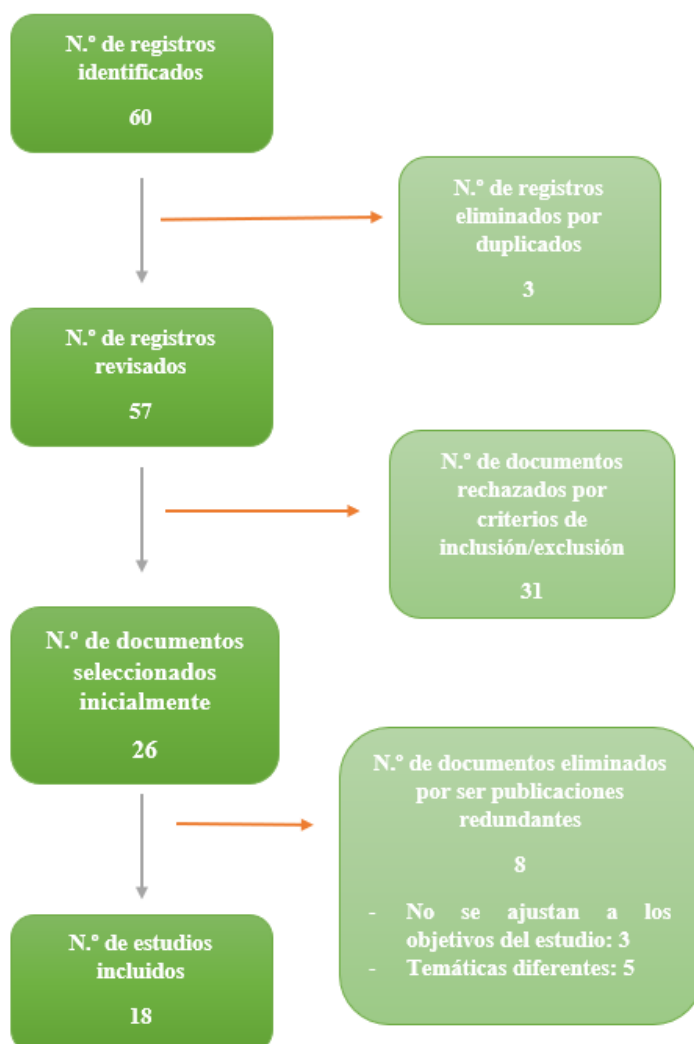


Fig 1. Diagrama de flujo. Fuente: elaboración propia

De los 18 estudios incluidos en los resultados 6 son revisiones^{24,25,28,29,37,41}, 9 son estudios cuasiexperimentales^{26,31,30,33,34,35,38,39,40} y 3 son ECA^{27,32,36}.

En la tabla 2 se recoge las puntuaciones a las preguntas CASPe, donde se consideran de calidad aquellos que presenten una puntuación igual o superior a 6 en el caso de los ensayos clínicos o una puntuación igual o superior a 5 en el caso de las revisiones.

Tabla 2. Resultados cuestionario CASPe en estudios ECA y revisiones

AUTOR Y AÑO	PUNTUACIÓN CASPE
Rafter L. (2013)²⁴	10/10
Davies CE et al. (2015)²⁷	10/11
Yang C et al. (2017)³⁶	10/11
Chang YR et al. (2017)³⁷	9/10
Sig AK et al. (2018)²⁵	10/10
Percival SL et al. (2018)²⁸	10/10
Kim D et al. (2018)³²	9/11
Hamblin MR et al. (2018)⁴¹	9/10
Percival SL et al. (2019)²⁹	10/10

Fuente: elaboración propia

Para los estudios cuasiexperimentales se evaluó que cumplieran 8 de los 16 ítems que se incluyen en metodología y resultados de la guía TREND como criterio de elevada calidad metodológica.

En la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 3. Evaluación de la calidad de los estudios mediante la guía TREND

Estudio	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Seth AK et al., 2013 ³⁸	Sí	No	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Np	No	No	Sí	Sí	No	No	No	Sí	Sí	Sí	No	Sí	Sí	Sí
Bohova et al., 2014 ²⁶	Sí	No	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Np	No	No	Sí	Np	No	Np	No	Sí	Sí	Sí	No	Sí	Sí	Sí
Jeong HS et al., 2015 ³⁴	Sí	No	No	Sí	Sí	Sí	Sí	Np	No	No	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
Fitzgerald DJ et al., 2016 ⁴⁰	Sí	No	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Np	No	No	Sí	Np	No	No	No	Sí	Sí	Sí	No	Sí	Sí	Sí
Valente PMD et al., 2016 ³³	Sí	No	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Np	No	Sí	Sí	Np	No	Np	No	Sí	Sí	Sí	No	Sí	Sí	Sí
Percival SL et al., 2017 ³⁰	Sí	No	Sí	Sí	Sí	Sí	Np	Np	No	No	Sí	Np	No	Np	No	Sí	Sí	Sí	No	Sí	Sí	Sí
Das Ghatak P et al., 2018 ³¹	Sí	No	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Np	No	No	Sí	Np	No	Np	No	Sí	Sí	Sí	No	Sí	Sí	Sí
Tahir S et al., 2018 ³⁵	Sí	No	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Np	No	Sí	Sí	Np	No	No	No	Sí	Sí	Sí	No	Sí	Sí	Sí
Roche ED et al., 2019 ³⁹	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Np	No	No	Sí	Np	No	No	No	Sí	Sí	Sí	Np	Sí	Sí	Sí

. Fuente: Elaboración propia.

Ítem 1: Título y resumen; **ítem 2:** Antecedentes; **ítem 3:** Participantes; **Ítem 4:** intervenciones; **Ítem 5:** Objetivos; **Ítem 6:** Variables; **Ítem 7:** Tamaño muestral; **Ítem 8:** Método de asignación; **ítem 9:** Enmascaramiento; **ítem 10:** Unidad de análisis; **ítem 11:** Métodos estadísticos empleados; **ítem 12:** Flujo de participantes; **ítem 13:** Reclutamiento; **ítem 14:** Datos basales; **ítem 15:** datos basales equivalencia; **ítem 16:** Análisis cuantitativo; **ítem 17:** Resultados y tendencias; **ítem 18:** Análisis secundarios; **ítem 19:** Efectos adversos encontrados; **ítem 20:** Interpretación; **ítem 21:** Extrapolación; **ítem 22:** Evidencias en su conjunto. **Np:** No procede

4.2 Resultados específicos de los estudios y discusión

4.2.1 Terapia larval

Las larvas de los gusanos han sido usadas durante los últimos años como técnica de desbridamiento de tejido desvitalizado en heridas crónicas. *Lucilia sericata* es la especie de mosca más utilizada para la terapia larval. Cuando se aplican a la herida su tamaño oscila entre 2-3 mm y crece hasta 8-10 cm cuando se desarrollan completamente durante 5-7 días de tratamiento²⁴.

La principal función de esta terapia es el desbridamiento, ya que las larvas se alimentan de tejido desvitalizado y no de tejido sano. Esto ocurre por las enzimas proteolíticas que producen en su aparato digestivo²⁵, además, las secreciones de las larvas contribuyen a la disminución de la respuesta inflamatoria, pueden modificar el pH de la herida favoreciendo así la cicatrización y produciendo un aumento de oxígeno en la misma²⁴. Otra ventaja de esta terapia es su acción antimicrobiana y antibiofilm, lo que la convierte en una opción ideal en el tratamiento de heridas crónicas²⁴.

La forma de aplicación de esta terapia puede ser de dos maneras diferentes: al aire libre o en apósitos de contención “biobag”. Se recomienda el formato al aire libre en aquellas heridas que presentan tejido desvitalizado profundo ya que necesita un período menor de aplicación y por tanto mayor eficacia. Sin embargo, los profesionales optan por el apósito de contención ya que presenta menor rechazo para aplicarlo por parte de los pacientes²⁵.

La principal ventaja de este método de desbridamiento es que a diferencia de otros esta opción no es traumática. Esta terapia presenta también varias contraindicaciones como trastornos hemorrágicos, alergia a las larvas o a sus secreciones y heridas necrosadas. No está indicada su aplicación en el aparato respiratorio, fístulas, la cabeza, órganos, heridas abiertas abdominales o glándulas endocrinas²⁵.

Hay pacientes que muestran dolor durante la realización de la terapia, por eso, es necesario determinar el nivel de dolor utilizando alguna escala para así aplicar la dosis de analgesia adecuada. En determinados casos en los que el dolor es muy intenso hay que utilizar opioides y cuando el dolor no se controla se pueden realizar bloqueos nerviosos²⁵.

Bohova et al. ²⁶ realizaron un ensayo experimental in vitro sobre placas de microtitulación de 96 pocillos para demostrar la actividad proteolítica de las excreciones/ secreciones (ES) de las larvas de *Lucilia sericata* sobre las biopelículas de *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus* y *Proteus mirabilis*. Se incubaron las placas a 37° durante 24 horas con una concentración de ES de 5mg/ml, 7.5 mg/ml, 10 mg/ml, 20mg/ml, 50mg/ml y 100mg/ml.

Como resultado se obtuvo resultados significativos ($p < 0,05$) en las biopelículas de *S.aureus* y *E.cloacae*. El promedio de inhibición de crecimiento de las biopelículas de *S. aureus* fue de un 47% mientras que la biopelícula *E.cloacae* se redujo en un 45%. En el caso de *P. mirabilis* no se observó una reducción significativa.

La concentración más eficaz de ES de gusanos que inhibió la formación de biopelículas en *S. aureus* fue de 50 mg/ml. La concentración de ES de gusano de 100 mg/ml fue la más eficaz en *E. cloacae*, con una disminución del 63 % en la formación de biopelículas.

Davies et al. ²⁷ en un ensayo controlado aleatorizado comprobaron la eficacia del desbridamiento de la terapia larval sobre una úlcera venosa con más del 20% de su superficie cubierta de esfacelos que retrasan la cicatrización. Para ello usaron 40 pacientes con úlcera venosa, 20 de ellos fueron tratados solamente con un vendaje multicapa (Grupo 1) y los otros 20 con un vendaje multicapa más la terapia larval (grupo 2).

El tamaño medio de las úlceras tratadas con vendaje multicapa fue de 10.8 cm² mientras que el tamaño medio de las úlceras tratadas con el vendaje multicapa más terapia larval fue de 8.1 cm². Tras 4 días se midió la disminución del esfacelo en ambos grupos siendo de 3.7 cm² en el grupo tratado con el vendaje multicapa ($p < 0,005$) y de 4,2 cm² en el grupo que usó la terapia combinada ($p < 0,001$). En porcentaje el grupo 1 obtuvo una reducción media del 50% del área del esfacelo mientras que en el grupo 2 fue 68%.

A las 12 semanas se había obtenido la curación completa en el 73% de los pacientes incluidos en el grupo 1 y en el grupo dos la tasa de curación fue del 68%.

A continuación, se encuentra un resumen de los hallazgos encontrados en los diferentes estudios en los que se ha utilizado terapia larval tanto en estudio in vitro (tabla 4) como in vivo (tabla 5):

Tabla 4. Resultados de estudio in vitro.

AUTOR/AÑO	INTERVENCIÓN	RESULTADOS
Bohova et al. (2014) ²⁶	Se incubaron placas de microtitulación con 96 pocillos durante 24 horas. En los pocillos se encontraban biopelículas creadas in vitro de <i>S.aureus</i> , <i>E.cloacae</i> y <i>P. mirabilis</i> en suspensión con ES de larvas de <i>Lucilia Sericata</i> con una concentración de entre 5 y 100 mg/ml	Reducción significativa ($p < 0,05$) de las biopelículas de <i>S. aureus</i> y <i>E. cloacae</i>. La biopelícula de <i>P.mirabilis</i> no presentó una reducción significativa ($p > 0,05$) La concentración más eficaz de ES de gusanos que inhibió la formación de biopelículas en <i>S. aureus</i> fue de 50 mg/ml. La concentración de gusano ES de 100 mg/ml fue la más eficaz en <i>E. cloacae</i> , con una disminución del 63 % en la formación de biopelículas.

ES:Excreción/ secreción. *Fuente: elaboración propia*

Tabla 5. Resultados estudio in vivo.

AUTOR Y AÑO	INTERVENCIÓN	RESULTADOS	EFFECTOS ADVERSOS
Davies CE et al. (2014) ²⁷	Grupo 1: 20 pacientes con úlcera venosa tratados con vendaje compresivo multicapa Grupo 2: 20 pacientes tratados con vendaje compresivo multicapa más terapia larval. Se revisó la reducción del esfacelo a los 4 días y la tasa de curación a las 12 semanas	La combinación del vendaje compresivo más terapia larval mostró efectos más significativos en el desbridamiento del tejido esfacelado ($p < 0,001$) que usando solo el vendaje multicapa ($p < 0,005$). En cuanto a la tasa de curación no hubo diferencia significativa en el grupo que usó la terapia larval frente al que no.	Hubo 9 pacientes que presentaron efectos adversos. 6 pertenecían al grupo 1 y 3 al grupo 2. Grupo 1: - 5 pacientes presentaron infección en la herida. - 1 eccema por éstasis venoso Grupo 2: 3 participantes no toleraron la compresión

Fuente: elaboración propia

4.2.2 Surfactantes

Los surfactantes son sustancias encargadas de reducir la tensión superficial existente entre dos sustancias que no se pueden mezclar, conforme la dosis de tensioactivo se vaya aumentando se irá disminuyendo la tensión superficial hasta que se obtenga una concentración adecuada para formar micelas. Estas micelas que se han formado poseen dos núcleos, uno hidrofóbico y otro hidrofílico. El primero de ellos se encarga de atrapar microbios y desechos en su interior mientras que el hidrofílico actúa como un humectante que permite la limpieza de la herida de forma eficaz²⁸.

Existe una amplia clasificación de tensioactivos, pero diversos estudios realizados recientemente han concluido que los tensioactivos a base de poloxámero influyen positivamente en el proceso de cicatrización de las heridas, ya que actúa sobre las metaloproteasas, tiene efecto antibiofilm, favorece la limpieza del lecho de la herida actuando como desbridamiento autolítico y evita la agregación y desnaturalización de las proteínas²⁹.

Los poloxámeros corresponden a un tipo de surfactantes sintéticos no iónicos formados por tres cadenas: una cadena hidrofóbica central de polioxipropileno y dos cadenas hidrofílicas de poloxietileno. Una ventaja de los tensioactivos es que se pueden combinar con antimicrobianos ya que pueden mejorar la estabilidad de los antimicrobianos en los apósitos al reducir la tensión superficial producida entre dos fases²⁹.

Percival et al.³⁰ en un estudio experimental controlado no aleatorizado que realizó in vitro, estudió la efectividad de un agente surfactante combinado con un antimicrobiano (sulfadiacina argéntica 1%) frente al mismo agente surfactante solo. Se cultivaron distintas cepas de biofilms in vitro (*Pseudomona aeruginosa*, *Enterococcus sp*, *Staphylococcus epidermis*, *S.aureus* y *S.aureus resistente a la meticilina* (MRSA))y se puso en marcha el experimento.

Como resultado se obtuvo una diferencia significativa en UFC/ml (Unidades formadoras de colonias por mililitro) en los biofilms tratados con antimicrobiano ($p < 0,0001$). El biofilm tratado solo con el agente surfactante obtuvo también un resultado significativo, aunque menor que el que contenía el antimicrobiano ($p < 0,02$).

Das Ghatak et al.³¹ en un estudio experimental demostró que el uso de un apósito de polímero tensioactivo aumenta la eficacia antimicrobiana contra el biofilm. Se utilizaron biopelículas de *P. aeruginosa* y *S. aureus*, las cuales se trataron con el apósito de polímero de tensioactivo con y sin antibiótico. *P. aeruginosa* fue tratada con tobramicina (10 µg/ml) mientras que *S. aureus* se trató con rifampicina (10 µg/ml).

Después del tratamiento se obtuvo como resultado que ambas cepas tratadas con el apósito combinado con y sin antimicrobiano redujeron significativamente el metabolismo bacteriano de la biopelícula con respecto con ningún tratamiento ($p < 0,05$).

Esto muestra la eficacia de los tensioactivos sobre las biopelículas in vitro pero es necesario ver su función cuando se utilizan in vivo por eso Kim D et al.³² en un ECA comprobaron la eficacia de un gel con cloruro de benzalconio frente a un gel antimicrobiano de amplio espectro sobre las heridas.

Para ello realizaron un estudio durante 12 semanas con 55 pacientes de los cuales 21 fueron asignados al grupo control y 34 al grupo experimental. Como resultados el grupo

que fue tratado con el gel redujo el área de la herida un 71% ($p < 0,001$) mientras que el grupo control solo redujo el área un 24%.

Al pasar las 12 semanas de tratamiento el 53% de los pacientes del grupo experimental consiguieron la curación completa de la herida frente al 17% del grupo control ($p < 0,01$). En el estudio además del uso del gel como tratamiento también realizaron desbridamiento de la herida por tanto la eficacia conseguida no puede atribuirse únicamente al uso del surfactante.

En la tabla 6 y 7 se muestran los resultados obtenidos en los estudios en los que se usó surfactantes.

Tabla 6. Resultados estudios in vitro.

AUTOR Y AÑO	INTERVENCIÓN	RESULTADOS
Percival SL et al. (2017)³⁰	Se crearon biopelículas de <i>P. aeruginosa</i> , <i>Enterococcus sp</i> , <i>S. epidermis</i> , <i>S.aureus</i> y <i>S.aureus</i> resistente a la meticilina (MRSA) - Grupo control: sin tratamiento - Grupo 1: tto con surfactante - Grupo 2: tto con surfactante + antimicrobiano	<u>UFC/ ml:</u> GC < G1 y G2 G1 y G2 obtuvieron reducciones significativas, aunque fueron mayores en el grupo tratado con la combinación de surfactante + antimicrobiano (G1 $p < 0,02$ vs G2 $p < 0,0001$)
Das Ghatak, et al. (2018)³¹	Se trató <i>P. aeruginosa</i> y <i>S.aureus</i> durante 24 h con: - Grupo control: sin tto - Grupo 1: tto con surfactante - Grupo 2: tto con surfactante + antibiótico	Se midieron según UFC/ml: Hubo reducciones significativas ($p < 0,05$) en G2 y G1 ($10^6 - 10^8$) frente GC ($> 10^{10}$)

UFC/ML: Unidades formadoras de colonias/ mililitro; **GC:** Grupo Control; **G1:** Grupo 1; **G2:** Grupo 2 **Fuente:** elaboración propia

Tabla 7. Resultado estudio in vivo

AUTOR Y AÑO	INTERVENCIÓN	RESULTADOS	EFFECTOS ADVERSOS
Kim D et al. 2018³²	Durante 12 semanas tto: - Grupo control: 21 pacientes tratados con antimicrobiano de amplio espectro - Grupo experimental: 34 pacientes tratados con pomada de cloruro de benzalconio	<u>Disminución del área de la herida:</u> GC: 24% vs GE: 71% (p<0,001) <u>Cierre total de la herida:</u> GC: 17% vs GE: 53% (p<0,01)	No hubo efectos adversos en el grupo experimental. En el grupo control hubo 2 pacientes que presentaron descamación y ardor en la piel.

GC: Grupo control; GE: Grupo experimental **Fuente: elaboración propia**

4.2.3 Terapia de presión negativa

Consiste en la colocación en el lecho de la herida de una espuma de poliuretano que puede contener o no plata, además puede combinarse con la irrigación de algún tipo de solución antimicrobiana. Se somete a la herida a una presión de entre 125 y 150 mmHg favoreciendo la cura en ambiente húmedo, disminución del exudado y de la carga bacteriana, mejora la circulación sanguínea de la herida y además favorece la aparición de tejido de granulación³³.

En la actualidad hay diversos estudios que han puesto de manifiesto la utilidad de esta terapia, algunos de ellos son:

Valente et al.³³ comprobaron la eficacia de la presión negativa (TPN) combinada con una espuma impregnada en plata sobre un biofilm creado en el laboratorio. Se usaron varias cámaras de heridas formadas cada una de ellas por 6 pocillos cubiertos de la biopelícula que habían creado. Cada cámara estaba cubierta por dos tipos de espumas: una negra (apósito VAC ® GranuFoam ®) y una espuma plateada que contenía plata (apósito VAC ® GranuFoam Silver ®). Las cámaras de prueba se sometieron a una presión de 125 mmHg mientras que las cámaras de control no se sometieron a presión negativa.

Se observaron los resultados en los días 3 y 5 y se obtuvo que las cámaras recubiertas con espuma negra sometidas o no a presión negativa, no presentaron una diferencia significativa ($p > 0,05$) en el recuento de bacterias.

Las cámaras que estaban cubiertas con espuma plateada y sin TPN no tuvieron reducción significativa frente a *S. epidermis* y *P.aeruginosa* ($p > 0,05$) pero sí frente a *S.aureus* que se redujo en 5 $\log_{10}$ ($p = 0,001$).

En las cámaras que combinaban la espuma de plata con TPN se obtuvo reducciones significativas del biofilm de entre 2 y 3,7 $\log_{10}$ ($p < 0,001$).

Jeong et al.³⁴ realizaron un estudio combinando la terapia de presión negativa junto con la irrigación de ácido acético al 1%. Pusieron en marcha el estudio sobre las heridas de 3 pacientes que llevaban entre 6 y 23 meses en tratamiento y no presentaban mejoras. Se sometía a las heridas a una presión continua de 125 mmHg combinada con la irrigación de 30 ml de ácido acético dos veces al día.

Tras 3 semanas se midió el tamaño de la herida, el pH y la carga bacteriana.

- Al inicio el tamaño de las heridas era de 24 cm² , 16 cm² y 8 cm², tras tres semanas de tratamiento el tamaño de las heridas se redujo significativamente ($p < 0,05$) a 13'5 cm², 12 cm² y 6 cm².
- En el examen histológico se observa un aumento en la síntesis de colágenos y un crecimiento vascular significativo con respecto al inicio del tratamiento $p < 0,05$
- Al comienzo las heridas estaban colonizadas por *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus*, MRSA(*S. aureus* resistente a la meticilina) y *Candida albicans*. Tras 3 semanas todas desaparecieron excepto MRSA que se mantuvo, pero en una concentración muy pequeña ($p < 0,05$).

Al inicio del tratamiento se realizó un desbridamiento completo de las heridas y durante las 3 semanas de tratamiento se siguió realizando desbridamiento dos veces por semana, por tanto, la eficacia sobre las heridas no se debe únicamente a la terapia de presión negativa con irrigación.

Tahir et al.³⁵ demostraron la eficacia de la TPN combinada con la instilación de antimicrobiano sobre un biofilm in vitro de *P. aeruginosa* y *S. aureus*. Se comparó la

eficacia de la TPN con irrigación frente a TPN sin irrigación durante 24h. Se usaron dos placas petri con 5 pocillos en una de ellas se colocó *P. aeruginosa* y en la otra *S. aureus*.

Como soluciones antimicrobianas se utilizaron: polihexametileno biguanida (SBPHMB), povidona yodada 1%, NaCl, gentamicina 1 µg/mL (Gm) y Rifampicina (RF) 24 µg/mL.

Como resultado hubo reducciones significativas ($p < 0,005$) en el espesor del biofilm de *S. aureus* en un 65 % y en la masa en un 47 % cuando se trató con TNP con irrigación en comparación con solo TPN.

El grupo sin tratamiento presentó aumento del biofilm de 7,4 log₁₀ UFC/cupón a 8,3 log₁₀ ($p > 0,05$)

La TPN con instilación de SBPHMB, povidona yodada y RF obtuvo reducciones de entre 2 y 8 log₁₀ contra el biofilm de *S. aureus* ($p < 0,05-0,001$) NaCl y Gm no presentaron reducciones significativas ($p > 0,05$). En *P. aeruginosa* povidona yodada, NaCl y RF no obtuvieron reducciones significativas ($p > 0,05$) mientras que SBPHMB obtuvo reducciones de 7,3 log₁₀ UFC/ cupón ($p < 0,001$) y GM obtuvo reducciones significativas de 4,1 log₁₀ UFC/cupón ($p < 0,05$).

Yang Chun et al.³⁶ en un ensayo prospectivo aleatorizado demostró la eficacia de la TPN combinada con la irrigación de hipoclorito sódico al 0,125%. Usó una muestra de 20 personas con herida crónica, 10 de ellas fueron tratadas durante una semana con TPN sola y las otras 10 con TPN combinada con la irrigación de hipoclorito sódico al 0,125%.

Para medir la eficacia de la técnica se obtuvo una biopsia de la herida antes de realizar un desbridamiento, otra después de realizarlo y una última tras 1 semana sometida a la terapia. Como resultado se obtuvo que aquellas heridas que combinaron la irrigación con la TPN disminuyeron en un 48% el biofilm de la herida mientras que en aquellas heridas que solo se aplicó la TPN, el biofilm aumentó en un 14% ($p < 0,05$).

En la tabla 8 y 9 se recogen los resultados obtenidos en los estudios en los que se usó la terapia de presión negativa en estudios in vitro e in vivo respectivamente.

Tabla 8. Estudios in vitro.

AUTOR Y AÑO	INTERVENCIÓN	RESULTADOS
Valente et al. 2016³³	Biofilm de <i>S. aureus</i>, <i>S. epidermis</i> y <i>P.aeruginosa</i> se somete: GE cámaras cubiertas con espuma plateada y espuma negra combinada con presión de 125mmHg GC: cámaras recubiertas con espuma plateada y negra Se observan en los días 3 y 5 de tto	GE y GC tratados con espuma negra no presentan diferencias significativas en el recuento de bacterias ($p > 0,005$) GC espuma plateada: No reducción significativa en <i>S. epidermis</i> y <i>P.aeruginosa</i> ($p > 0,05$). <i>S.aureus</i> ($p = 0,001$) GE espuma plateada: reducciones significativas en el biofilm ($p < 0,001$)
Tahir S. et al. 2018³⁵	Tto durante 3 días sobre <i>P. aeruginosa</i> y <i>S.aureus</i>. GC: Sin tratamiento G1: Tto con TPN G2: Tto con TPN + irrigación de SBPHMB, RF, GM povidona yodada y NaCl	Reducciones significativas ($p < 0,005$) en el espesor y la masa de <i>S. aureus</i> en G2 vs G1. GC: Aumento del biofilm de 7,4 $\log_{10}$ UFC/cupón a 8,3 $\log_{10}$ UFC/cupón. ($p > 0,05$) G2: obtuvo reducciones significativas con instilación de SBPHMB, RF y povidona yodada ($p < 0,05-0,001$) contra <i>S. aureus</i>. NaCl y GM no presentaron reducciones significativas ($p > 0,05$) Para <i>P. aeruginosa</i> povidona yodada, NaCl y RF no obtuvieron resultados significativos ($p > 0,05$), mientras que SBPHMB obtuvo reducciones de 7,3 $\log_{10}$ UFC/ cupón ($p < 0,001$) y GM obtuvo reducciones significativas de 4,1 $\log_{10}$ UFC/cupón ($p < 0,05$)

GE: Grupo experimental; **GC:** Grupo control; **G1:** Grupo 1; **G2:** Grupo 2; **TPN:** Terapia de presión negativa; **SBPHMB:** polihexametileno biguanida; **RF:** Rifampicina; **GM:** gentamicina; **NaCl:** cloruro sódico. **Fuente:** elaboración propia

Tabla 9. Estudio in vivo.

AUTOR Y AÑO	INTERVENCIÓN	RESULTADOS	EFFECTOS ADVERSOS
Jeong Hs et al. 2015³⁴	Tto de 3 heridas con terapia combinada de presión negativa + irrigación de ácido acético 1% dos veces al día durante 3 semanas.	- El tamaño de las heridas disminuyó significativamente ($p<0,05$) - Síntesis de colágeno y crecimiento vascular significativo ($p<0,05$) - Eliminación completa o casi completa de las bacterias que colonizaban las heridas ($p<0,05$)	No hubo efectos adversos durante las 3 semanas de tratamiento.
Yanng Chun et al. 2017³⁶	20 pacientes G1: 10 pacientes tratados con TNP + irrigación de hipoclorito sódico 0,125% G2: 10 pacientes tratados con TNP sin instilación	G1 obtuvo una disminución media de del 48% de las bacterias formadoras de biopelículas frente al aumento del 14% en G1 ($p<0,05$)	No se describen

G1: Grupo 1; **G2:** Grupo 2 **Fuente:** elaboración propia

4.2.4 Desbridamiento ultrasónico de baja frecuencia

Esta terapia es usada como complementaria en el tratamiento del biofilm, consiste en la eliminación de tejido no viable mediante microflujos de entre 20 y 60 kHz consiguiendo la eliminación de tejido muerto con microburbujas de gas y por consiguiente aumentando el efecto de los antibióticos sobre la herida.

Este tipo de desbridamiento mejora la cicatrización al fomentar la producción de factores de crecimiento, promueve la fibrinólisis y la eliminación del biofilm³⁷.

Seth et al.³⁸ en un estudio experimental sobre orejas de conejo, comprobaron la eficacia del desbridamiento ultrasónico sobre *P. aeruginosa*. Se realizaron heridas infectadas con biopelícula en 9 conejos y heridas limpias en 4 conejos.

En cada conejo se utilizó una oreja como control que no fue sometida a tratamiento y la otra se sometió a la intervención. En las heridas infectadas con biopelícula la oreja tratada se dividió en dos grupos: Grupo 1 tratada cada dos días y Grupo 2 tratada todos los días.

En el caso de las heridas limpias solo se realizó dos grupos: grupo control que era la oreja no tratada y grupo 1 que era la oreja tratada cada dos días.

El tratamiento se realizó durante 12 días en sesiones de 3 minutos. Se obtuvieron resultados significativos en la reducción del recuento bacteriano en las heridas infectadas con biopelícula, tanto en las que fueron tratadas cada dos días ($p < 0,01$) como todos los días ($p < 0,05$) con respecto a las que no se sometieron a la terapia. En ambos grupos hubo resultados significativos ($p < 0,05$) en el aumento del tejido de granulación con respecto al control.

En las heridas limpias se observó un aumento de tejido de granulación frente al control ($p < 0,05$).

En la tabla 10 se muestran los resultados obtenidos en el estudio in vivo en el que se usó el desbridamiento ultrasónico de baja frecuencia.

Tabla 10. Estudio in vivo en animales.

AUTOR Y AÑO	INTERVENCIÓN	RESULTADOS	EFFECTOS ADVERSOS
Seth AK et al. 2013³⁸	Se inocularon biopelículas de <i>P. aeruginosa</i> en orejas de 9 conejos. En 4 conejos se realizaron heridas limpias y se repitió el procedimiento. GC: No tratamiento G1: desbridamiento ultrasónico (3 min) cada dos días G2: desbridamiento ultrasónico (3 min) cada día	<u>Heridas infectadas por biopelícula</u> Recuento G1 < GC (p<0,01) G2 < GC (p<0,05) Tejido de granulación G1 y G2 > GC (p<0,05) <u>Heridas limpias</u> Tejido de granulación G1 > GC (p<0,05)	No se describen

GC: Grupo control; **G1:** Grupo 1; **G2:** Grupo 2. **Fuente:** elaboración propia

Se han encontrado pocos estudios en relación a esta técnica, pero los resultados de este estudio indica que puede valorarse como tratamiento de biofilm ya que disminuye eficazmente la carga bacteriana viable de heridas infectadas por *P. aeruginosa*. Esto repercutirá en una menor respuesta inflamatoria del huésped y a una mejora significativa de la cicatrización³⁸.

4.2.5 Cadexómero yodado

Los apósitos que contienen antisépticos como el yodo son cada vez más utilizados ya que en comparación con las resistencias creadas por la utilización de antibióticos sistémicos, estos no han mostrado ningún desarrollo significativo de resistencias en las heridas ⁴⁰.

En un estudio realizado in vivo inoculando un biofilm de *S. aureus* y *P. aeruginosa* en 4 cerdos, Roche et al. ³⁹ compararon un gel de cadexómero yodado y un apósito de carboximetilcelulosa de plata.

Tras dos días de tratamiento se comprobó el resultado realizando un recuento de colonias totales, colonias de *S. epidermidis* y colonias de *P. aeruginosa*.

Para el gel de Cadexómero yodado (CI) hubo reducciones significativas de 2,3 log UFC/g frente al control en los recuentos totales y 3,3 log UFC/g los recuentos de pseudomonas, ambos resultados muy significativos ($p < 0,001$). Frente al recuento de estafilococos las diferencias frente al control fueron menores, pero aun así fueron significativas ($p < 0,05$).

Para el apósito de plata mostró reducciones menores, pero también estadísticamente significativas ($p < 0,001$) 1,5 log UFC/g frente al control en los recuentos totales y 1,85 log UFC/g los recuentos de pseudomonas. En el recuento de *S. epidermis* no hubo diferencias frente al control ($p > 0,05$).

Aun así, el gel de CI mostró diferencias significativas mayores en ambos recuentos totales ($p < 0,05$) y en el recuento de *Pseudomonas* ($p < 0,001$).

Fitzgerald et al. ⁴⁰ en un estudio experimental controlado no aleatorizado, comprobaron la eficacia del cadexómero yodado en biopelículas tanto in vivo como in vitro comparándolo con distintos apósitos o geles (apósito de povidona yodada, hidrofibra de plata, gel PHMB y gel de octenidina). Crearon una biopelícula in vitro de *P. aeruginosa* y *S. aureus* que se sometieron a tratamiento con distintos apósitos durante 24h.

Como resultado frente al control se obtuvo que el uso de gel o apósito de cadexómero yodado provocó reducciones logarítmicas superiores a 9 en las colonias de *S. aureus* y *P. aeruginosa* tras un día de tratamiento ($p < 0,01$). El apósito de povidona yodada y el de hidrofibra de plata no provocaron efectos significativos en el biofilm ($p > 0,05$). El gel

PHMB y el gel de octenidina ocasionaron reducciones logarítmicas menores a 1 frente a *P. aeruginosa* y entre 1,1 y 1,5 frente a *S.aureus* ($p < 0,05$)

También hicieron la prueba creando heridas infectadas con una biopelícula de *MRSA* formadas in vitro sobre ratones de laboratorio para comprobar la eficacia in vivo. Se comparó la eficacia del cadexómero yodado frente a otros tratamientos durante 48h.

Como resultado se obtuvo que aquellos tratados con apósito de hidrofibra de plata, el gel de iones de plata y la pomada de mupirocina provocaron reducciones logarítmicas de 0,7 a 1,6 UFC/g ($p < 0,001$) frente al control sin embargo aquellos tratados con cadexómero yodado demostraron reducciones mayores a 4 UFC/g ($p < 0,0001$).

En las tablas 11 y 12 se presenta los resultados obtenidos en los estudios que se usó cadexómero yodado tanto in vivo como in vitro.

Tabla 11. Estudios in vivo.

AUTOR Y AÑO	INTERVENCIÓN	RESULTADOS	EFFECTOS ADVERSOS
Roche et al. (2019)³⁹	Se realizaron heridas en 4 cerdos y se les inoculó <i>P.aeruginosa</i> y <i>S.epidermis</i> . GC: heridas cubiertas con gasas G1: Tto con gel de CI G2: Tto con apósito de Ag	G1: Reducciones significativas en UFC frente a GC en los recuentos totales y recuentos de pseudomonas ($p < 0,001$). Menor efecto en el recuento de <i>S.epidermis</i> ($p < 0,05$) G2: Reducciones $< G1$ pero significativas en los recuentos totales y frente a <i>P.aeruginosa</i> ($p < 0,001$). En el recuento de estafilococos no hubo diferencias significativas frente a GC ($p > 0,05$) $G1 > G2$ en recuento total ($p < 0,05$) y en recuento de pseudomonas ($p < 0,01$)	No se describen

Fitzgerald et al. (2017) ⁴⁰	Tto de biopelícula de MRSA sobre herida de ratón durante 48h: GC: sin tto GE: tto con - Cadexómero yodado - Pomada de mupirocina - Hidrofibra de plata - Gel de iones de plata	Frente a GC: - Hidrofibra de plata, el gel de iones de plata y la pomada de mupirocina provocaron reducciones logarítmicas de 0,7 a 1,6 UFC/g ($p < 0,001$) - Cadexómero yodado muestra reducciones mayores a 4 UFC/g ($p < 0,0001$).	No se describen
---	--	---	-----------------

GC: Grupo control; **GE:** Grupo experimental; **CI:** Cadexómero yodado; **MRSA:** S. aureus resistente a la metilicilina; **UFC/g:** Unidades formadoras de colonias por gramo.

Fuente: elaboración propia

Tabla 12: Estudios in vitro

AUTOR Y AÑO	INTERVENCIÓN	RESULTADOS
Fitzgerald et al. ⁴⁰ 2017	Tto de biopelícula in vitro de <i>S.aureus</i> y <i>P.aeruginosa</i> durante 24h: GC: sin tto GE: Tto con: - CI - Apósito Poviodona iodada - Hidrofibra de plata - PHMB - Octenidina	Con respecto a GC: - CI: reducciones log > 9 en <i>S. aureus</i> y <i>P. aeruginosa</i> ($p < 0,01$). - Apósito de povidona iodada y el de hidrofibra de plata ($p > 0,05$) - PHMB y octenidina: ($p < 0,05$)

GC: Grupo control; **GE:** Grupo experimental; **CI:** Cadexómero yodado; **PHMB:** polihexametileno biguanida. **Fuente:** elaboración propia

4.2.6 Terapia fotodinámica

En la revisión sistemática de Hamblin et al.⁴¹ se recoge información sobre la efectividad de esta terapia sobre la eliminación del biofilm además de aquellos factores sobre los que se actúa para eliminarlo.

Esta terapia funciona utilizando unos tintes, que no producen toxicidad, llamados fotosensibilizadores. Estos pueden excitarse a través de luz visible para dar lugar a especies reactivas de oxígeno. El objetivo de esta terapia es la erradicación de los microorganismo formadores de biofilm en heridas mediante las especies reactivas de oxígeno que se forman, ya que se encargan de debilitar y degradar la sustancia polimérica extracelular a la que se incrustan los microorganismos del biofilm⁴¹.

En la revisión se recogen datos de estudios realizados tanto in vitro como in vivo. En el caso de estudios realizados in vitro, se demuestra la reducción de un biofilm de *P.Aeruginosa* y *Actinobacillus Actinomycetemcomitans* en cifras de 6-7 log 10 UCF. También expone datos de su acción sobre bacterias gram + como son *S. aureus* y *Enterococcus faecalis* donde se obtienen reducciones aproximadas a 6 log 10 UFC. Además, se muestra datos sobre un biofilm de especies mixtas creadas in vitro usando *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus* donde se consiguió la eliminación completa de la biopelícula usando la terapia fotodinámica⁴¹.

Esta revisión además también muestra datos de su eficacia en heridas de pacientes. En un ensayo clínico con 16 pacientes portadores de úlcera crónica en la pierna y 16 pacientes con úlcera diabética se puso en marcha un tratamiento con irradiación durante 15 minutos con luz roja a 50 J/cm² y dos tipos de fotosensibilizadores: fenotiazinio para la úlcera crónica y reftalocianina tetracatiónica para las úlceras diabéticas⁴¹.

Como resultado se obtuvo que el 50% de los pacientes obtuvieron la cicatrización completa en 3 meses mientras que aquellos tratados con placebo sólo un 12 % lograron la cicatrización⁴¹.

Otro ensayo con fase IIa (fase en la que se comprueba si la intervención actúa eficazmente sobre las heridas) aleatorizada, doble ciego y controlado con placebo en 62 pacientes, comprobó que tras la aplicación de tres dosis de reftalocianina tetracatiónica y una irradiación de 1h usando luz roja de 60 J/cm² se consiguió una reducción de 3 log 10 UCF justo después de la irradiación⁴¹.

Esta revisión pone de manifiesto que esta terapia es capaz de erradicar el biofilm total o parcialmente y sin efectos secundarios⁴¹.

Las diferentes terapias presentadas en esta revisión narrativa sobre el tratamiento de biofilm en el que se ha tomado tanto estudios in vitro como in vivo, permite tener una visión más amplia de las diferentes técnicas que se están desarrollando para poder hacer frente a aquellas heridas que presentan esta situación. No obstante, hay que considerar la necesidad de más investigación al respecto y de la formación de los profesionales de enfermería en la aplicación de aquellas que ya se están aplicando en humanos para obtener resultados favorables y poder salvaguardar la seguridad del paciente.

La principal limitación de esta revisión es que se trata de una síntesis narrativa, aunque se ha realizado una búsqueda en las principales bases de datos, hay que tener en cuenta la baja objetividad en el análisis de los resultados y la falta de control de errores y sesgos inherentes al tipo de revisión presentada.

5 CONCLUSIONES

El objetivo de esta revisión es describir las estrategias para el tratamiento del biofilm en heridas crónicas. Tras la búsqueda en las distintas bases de datos se ha analizado: Terapia larval, surfactantes, terapia de presión negativa, desbridamiento ultrasónico de baja frecuencia, cadexómero yodado y terapia fotodinámica. En los distintos estudios encontrados se ha mostrado la eficacia de estas terapias.

En relación a la terapia larval, se ha demostrado con estudios in vitro e in vivo que son una buena opción para desbridar heridas de forma poco traumática además disminuir la inflamación y favorecer la cicatrización. Es recomendable su uso en la práctica clínica a pesar del rechazo que supone para los profesionales sanitarios y para los pacientes su manejo. En los estudios encontrados los pacientes no presentaron efectos secundarios relacionados con las larvas, algunos presentaron molestias relacionadas con la compresión de la venda.

La función de los surfactantes en las heridas se debe a la capacidad de reducir la tensión entre dos compuestos permitiendo así el desbridamiento autolítico de las heridas mediante la formación de micelas que atrapan microorganismo. Se ha demostrado la eficacia de esta terapia in vitro pero debido a que es un descubrimiento reciente existen pocos estudios in vivo, lo que

hace necesario fomentar su investigación. En cuanto a los efectos adversos, en el único estudio realizado in vivo no se encontraron efectos adversos en el grupo experimental.

La terapia de presión negativa es una de la que más opciones ofrece ya que se puede usar sola o combinarse con irrigación de diferentes antimicrobianos, presenta numerosas ventajas y su uso puede estar indicado en heridas altamente exudativas ya que se encarga de disminuirlo favoreciendo el tejido de granulación y sin producir efectos adversos.

Otra de las opciones descritas es el cadexómero yodado, es una opción fuerte en el tratamiento de las heridas crónicas gracias a su capacidad de no crear resistencias en la herida. Diversos estudios tanto in vivo como in vitro demuestran su eficacia en los que recomiendan su uso en la práctica clínica. No podemos concluir nada acerca de los efectos adversos ya que los estudios encontrados han sido realizados in vitro o sobre animales, lo que pone de manifiesto la necesidad de más investigación al respecto.

En cuanto al desbridamiento ultrasónico de baja frecuencia y la terapia fotodinámica no podemos afirmar su eficacia rotundamente debido a la escasa investigación encontrada durante la búsqueda. En la revisión encontrada sobre la terapia fotodinámica se pone de manifiesto su capacidad de reducir el biofilm total o parcialmente y sin efectos secundarios.

No podemos afirmar que terapia es mejor que otra ya que no existen estudios donde se comparen todas las terapias entre sí. La clave no está en quedarnos con una sola terapia si no combinarlas entre sí o con otras opciones de tratamiento, para aumentar su efecto antibiofilm.

6. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Sen CK, Gordillo GM, Roy S, Kirsner R, Lambert L, Hunt TK, Gottrup F, Gurtner GC, Longaker MT. Human skin wounds: a major and snowballing threat to public health and the economy. *Wound Repair Regen.* 2009 Nov-Dec;17(6):763-71. doi: 10.1111/j.1524-475X.2009.00543.x. PMID: 19903300; PMCID: PMC2810192.
- (2) Salenius, J.E, Sunttila, M, Ahti, T, Huhtala, H, Vaalasti, A, Salmi, T.T, Kimpimäki, T. Long-term Mortality among Patients with Chronic Ulcers. *Acta Derm. Venereol.* 2021;101(5)
- (3) Bowers, S.; Franco, E. Chronic Wounds: Evaluation and Management. *Am. Fam. Physician.* 2020;101(3):159–166.
- (4) Sorg H, Tilkorn DJ, Hager S, Hauser J, Mirastschijski U. Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts. *Eur Surg Res.* 2017; 58 (1-2):81-94. Pubmed PMID: 27974711
- (5) Guarín-Corredor C, Quiroga-Santamaría, P, Landínez-Parra N. S. Proceso de Cicatrización de heridas de piel, campos endógenos y su relación con las heridas crónicas. *Rev Fac Med.* 2013; 61(4): 441-448.
- (6) Demidova-Rice TN, Hamblin MR, Herman IM. Acute and Impaired Wound Healing: Pathophysiology and Current Methods for Drug Delivery, Part 1: Normal and Chronic Wounds: Biology, Causes, and Approaches to Care. *Adv Skin Wound Care.* 2012; 25(7):304-314.
- (7) García-Fernández, FP; Soldevilla-Ágreda, JJ; Pancorbo-Hidalgo, PL; Verdú Soriano, J; López-Casanova, P; Rodríguez-Palma, M; Segovia Gómez, T. Manejo Local de úlceras Y heridas. Serie Documentos Técnicos GNEAUPP nºIII. Grupo Nacional para el Estudio y Asesoramiento en Úlceras por Presión y Heridas Crónicas. Logroño. 2018.

- (8) Murray RZ, West ZE, McGuiness W. The multifactorial formation of chronic wounds. *Wound Practice & Research: Journal of the Australian Wound Management Association*. 2021 Nov; 26(1): 38-46
- (9) Temprano-Andrés AS, Martínez-Antón S. Aproximación a la importancia del biofilm en las heridas crónicas. *Revisión bibliográfica. Enfermería dermatológica*. 2020;14(39):23-28.
- (10) Percival SL, Vuotto C, Donelli G, Lipsky BA. Biofilms and Wounds: An Identification Algorithm and Potential Treatment Options. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2015; 4(7):389-397.
- (11) Høiby N, Bjarnsholt T, Moser C, Bassi GL, Coenye T, Donelli G, et al. ESCMID guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014. *Clinical Microbiology and Infection*. 2015; 21:S1-S25.
- (12) Mihai MM, Preda M, Lungu I, Gestal MC, Popa MI, Holban AM. Nanocoatings for Chronic Wound Repair—Modulation of Microbial Colonization and Biofilm Formation. *Int J Mol Sci* 2018;19(4): 1179
- (13) Kalan L, Grice EA. Fungi in the Wound Microbiome. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2018; 7(7): 247-255.
- (14) Chellan G, Shivaprakash S, Karimassery Ramaiyar S, et al. . Espectro y prevalencia de hongos que infectan tejidos profundos de heridas en miembros inferiores en pacientes con diabetes tipo 2. *J Clin Microbiol* 2010; 48 :2097–2102
- (15) Leaper DJ, Schultz G, Carville K, Fletcher J, Swanson T, Drake R. Extending the TIME concept: what have we learned in the past 10 years?. *Int Wound J*. 2012; 9:1–19.
- (16) European Wound Management Association (EWMA). Position Document: Wound Bed Preparation in Practice. London: MEP Ltd, 2004
- (17) Manna B, Nahirniak F, Morrison CA. Wound Debridement. Stat Pearls Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. PMID:29939659

- (18) Daeschlein G. Antimicrobial and antiseptic strategies in wound management. *Int Wound J.* 2013; 10 Suppl 1:9-14.
- (19) Schultz G, Bjarnsholt T, James GA, Leaper DJ, McBain AJ, Malone M, et al. Consensus guidelines for the identification and treatment of biofilms in chronic nonhealing wounds. *Wound Repair & Regeneration.* 2017;25(5):744-757.
- (20) Attinger C, Wolcott R. Clinically Addressing Biofilm in Chronic Wounds. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2012;1(3):127-132.
- (21) Unión Mundial de Sociedades de Cicatrización de Heridas (World Union of Wound Healing Societies, WUWHS) Congreso de Florencia. Documento de Posición. Tratamiento del biofilm. *Wounds International.* 2016.
- (22) Cabello, J.B. por CASPe. Plantilla para ayudarte a entender una Revisión Sistemática. En: CASPe. *Guías CASPe de Lectura Crítica de la Literatura Médica.* Alicante: CASPe; 2005. Cuaderno I. p. 5-8/13-17.
- (23) González de Dios J, Buñuela Álvarez JC, González Rodríguez MP. Listas guía de comprobación de intervenciones no aleatorizadas: declaración TREND. *Evid Pediatr.* 2013; 9:14
- (24) Rafter L. Larval therapy applied to a large arterial ulcer: an effective outcome. *British Journal of Nursing.* 2013; 22(6).
- (25) Sig AK, Koru O, Araz E. Maggot debridement therapy: Utility in chronic wounds and a perspective beyond. *Wound Practice & Research.* 2018;26(3).
- (26) Bohova J, Majtan J, Majtan V, Takac P. Selective Antibiofilm Effects of *Lucilia sericata* Larvae Secretions/Excretions against Wound Pathogens. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2014;2014.

- (27) Davies CE, Woolfrey G, Hogg N, Dyer J, Cooper A, Waldron J, et al. Maggots as a wound debridement agent for chronic venous leg ulcers under graduated compression bandages: A randomised controlled trial. *Phlebology*. 2015; 30(10):693-699.
- (28) Percival SL, Chen R, Mayer D, Salisbury A. Mode of action of poloxamer-based surfactants in wound care and efficacy on biofilms. *Int Wound J*. 2018; 15(5):749-755.
- (29) Percival SL, Mayer D, Kirsner RS, Schultz G, Weir D, Roy S, et al. Surfactants: Role in biofilm management and cellular behaviour. *Int Wound J*. 2019; 16(3):753-760.
- (30) Percival SL, Mayer D, Salisbury AM. Efficacy of a Surfactant-based Wound Dressing on Biofilm Control. *Wound Rep and Reg*. 2017; 25(5): 767-773.
- (31) Das Ghatak P, Mathew-Steiner SS, Pandey P, Roy S, Sen CK. A surfactant polymer dressing potentiates antimicrobial efficacy in biofilm disruption. *SCient Rep*. 2018; 8(1): 873.
- (32) Kim D, Namen W, Moore J, Buchanan M, Hayes V, Myntti MF, et al. Clinical assessment of a biofilm-disrupting agent for the management of chronic wounds compared with standard of care: A therapeutic approach. *Wounds*. 2018; 30(5): 120- 130.
- (33) Valente PMD, Deva A, Ngo Q, Vickery K. The increased killing of biofilms in vitro by combining topical silver dressings with topical negative pressure in chronic wounds. *Int Wound J*. 2016;13(1):130-136.
- (34) Jeong HS, Lee BH, Lee HK, Kim HS, Moon MS, Suh IS. Negative pressure wound therapy of chronically infected wounds using 1% acetic Acid irrigation. *Arch Plast Surg*. 2015;42(1):59-67.
- (35) Tahir S, Malone M, Hu H, Deva A, Vickery K. The Effect of Negative Pressure Wound Therapy with and without Instillation on Mature Biofilms In Vitro. *Materials (Basel)*. 2018;11(5).

- (36) Yang C, Goss SG, Alcantara S, Schultz G, Lantis Ii JC. Effect of Negative Pressure Wound Therapy With Instillation on Bioburden in Chronically Infected Wounds. *Wounds* 2017;29(8):240-246.
- (37) Chang YR, Perry J, Cross K. Low-Frequency Ultrasound Debridement in Chronic Wound Healing: A Systematic Review of Current Evidence. *Plast Surg (Oakv)*.2017; 25(1):21-26.
- (38) Seth AK, Nguyen KT, Geringer MR, Hong SJ, Leung KP, Mustoe TA, et al. Noncontact, low-frequency ultrasound as an effective therapy against *Pseudomonas aeruginosa*-infected biofilm wounds. *Wound Repair Regen*. 2013;21(2):266-274.
- (39) Roche ED, Woodmansey EJ, Yang Q, Gibson DJ, Zhang H, Schultz GS. Cadexomer iodine effectively reduces bacterial biofilm in porcine wounds ex vivo and in vivo. *Int Wound J*. 2019; 16(3):674-683.
- (40) Fitzgerald DJ, Renick PJ, Forrest EC, Tetens SP, Earnest DN, McMillan J, et al. Cadexomer iodine provides superior efficacy against bacterial wound biofilms in vitro and in vivo. *Wound repair and regeneration*. 2016 Nov;25(1):13-24.
- (41) Hamblin MR, Wang X, Wang Y, Huang Y, Hu X. Antimicrobial Photodynamic Therapy to Control Clinically Relevant Biofilm Infections. *Frontiers in Microbiology*. 2018; 1:9.