

Efectos antimicrobianos de la unión de bacterias a un apósito recubierto con cloruro de dialquilcarbamoilo: un estudio in vitro

Objetivo: Los apósitos para heridas que inactivan o sequestran microorganismos, como aquellos con una superficie hidrófoba de cloruro de dialquilcarbamoilo (DACC) que se une a las bacterias, pueden reducir el riesgo de infecciones clínicas. Este control «pasivo» de la carga microbiana, que evita la ruptura de la pared celular bacteriana y la consiguiente liberación de endotoxinas bacterianas que agravan la inflamación, resulta ventajoso en heridas de difícil cicatrización. Por lo tanto, es necesario evaluar el alcance completo de los apósitos con DACC, incluyendo el impacto potencial de mayores densidades de inóculo, el aumento de la carga proteica y los diferentes valores de pH sobre la actividad antibacteriana.

Método: Se utilizó la prueba de exposición de la Norma Industrial Japonesa (JIS) L 1902 para evaluar la actividad antimicrobiana del apósito recubierto de DACC frente a varios patógenos de heridas priorizados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (p. ej., *Staphylococcus aureus* resistente a la metilicina, *Enterococcus* resistente a la vancomicina, microorganismos con betalactamasas de espectro ampliado y *Acinetobacter baumannii*), el efecto de la exposición repetida a bacterias en un entorno de herida adverso y el rendimiento antimicrobiano a un pH similar al de la herida.

Resultados: Se confirmó, mediante la norma JIS L 1902, la elevada actividad antibacteriana del apósito recubierto con DACC frente a las cepas bacterianas prioritarias de la OMS, gracias a su unión irreversible y a la inhibición del crecimiento de las bacterias unidas. A densidades de inoculación elevadas, en comparación con las condiciones estándar, el apósito recubierto con DACC siguió logrando efectos antibacterianos de fuertes a significativos. El aumento del contenido proteico del medio también afectó al rendimiento antibacteriano; se observó una reducción de 0,5-1 log en la actividad antibacteriana tras la adición de un 10 % de suero fetal bovino. El pH no influyó en el rendimiento antibacteriano. El apósito recubierto con DACC también mantuvo la actividad antibacteriana durante las etapas de reinfección posteriores.

Conclusión: Se puede suponer que el apósito recubierto con DACC ejerce efectos beneficiosos en el control de la carga microbiana de la herida, reduciendo la demanda general de antibióticos, sin utilizar sustancias antimicrobianas.

Declaración de intereses: Este estudio fue financiado por ABIGO Medical AB. Los autores JH y YBS son empleados de ABIGO Medical AB.

actividad antibacteriana • unión a bacterias • DACC • recubrimiento de cloruro de dialquilcarbamoilo (DACC) • *Pseudomonas aeruginosa* • *Staphylococcus aureus* • patógenos prioritarios de la Organización Mundial de la Salud • patógenos relevantes de la Organización Mundial de la Salud • herida • cuidado de heridas • apósito para heridas • cicatrización de heridas • infección de heridas

Las heridas de difícil cicatrización suponen un importante reto clínico.¹ Un proceso de reparación de la herida alterado puede provocar la propagación de una infección con el consiguiente daño a los tejidos adyacentes o incluso daños sistémicos.¹

Las heridas de pacientes con factores concomitantes, como edad avanzada, mal estado nutricional, comorbilidades o deficiencias inmunitarias, son más susceptibles a la contaminación bacteriana y a la infección, lo que retrasa aún más la cicatrización.²⁻⁴ Por lo tanto, las infecciones de heridas siguen considerándose uno de los principales factores de alta mortalidad y morbilidad.¹ El *Staphylococcus aureus*, el *Staphylococcus aureus* resistente a la metilicina (SARM) y la *Pseudomonas aeruginosa* son las especies microbianas más frecuentes en pacientes con heridas infectadas.¹ Por consiguiente, el tratamiento de las infecciones de las heridas desempeña un papel importante en el manejo de las mismas.

Por lo general, para combatir una carga microbiana elevada se utiliza una combinación de antisépticos tópicos y/o antibióticos sistémicos.¹ Las soluciones antisépticas de polihexanida (PHMB), octenidina, plata o yodo, así como los apósitos para heridas que contienen estos agentes antimicrobianos, son los más utilizados en el ámbito sanitario.⁵⁻⁷ Estos pueden inactivar o eliminar los microorganismos al actuar sobre

múltiples puntos diana de la célula microbiana y, por lo tanto, presentan un menor riesgo de inducir resistencia bacteriana en comparación con los antibióticos tópicos.² Sin embargo, estos antisépticos tópicos no son selectivos y se ha expresado preocupación por sus posibles efectos citotóxicos y dañinos sobre los diversos tipos de células implicadas en la cicatrización de las heridas, lo que podría perjudicar el proceso de cicatrización.² Además, la destrucción de las bacterias mediante un mecanismo «activo» de este tipo provoca la ruptura de la pared celular bacteriana y la posible liberación de endotoxinas bacterianas que actúan como señales de peligro y agravan los procesos inflamatorios en las heridas de difícil cicatrización.^{8,9}

Se ha sugerido el uso de estrategias «pasivas» para el control de la carga microbiana, que se basan en un modo de acción físico que no mata las bacterias de la herida y, por lo tanto, evita la posible liberación de endotoxinas.^{2,10} Por ejemplo, recubrir las fibras con cloruro de dialquilcarbamoilo (DACC), un derivado de los ácidos grasos, confiere una propiedad hidrofóbica

Johanna Husmark,¹ Doctora; Bianka Morgner,² Máster; Yusak Budi Susilo,¹ Doctor; Cornelia Wiegand,² Doctora

*Correo electrónico del autor correspondiente: c.wiegand@med.uni-jena.de

1 ABIGO Medical AB, Ekonomivägen 5, SE-436 33, Askim, Suecia. 2 Departamento de Dermatología, Hospital Universitario de Jena, Erfurter Straße 35, D-07740 Jena, Alemania.

Tabla 1. Comparación de las ventajas y desventajas de los ensayos in vitro antimicrobianos habituales con respecto a la evaluación de los apósitos para heridas

| Método de ensayo | Prueba de difusión en agar | ASTM E2149 | AATCC 100 | JIS L 1902 |
|--|--|---|---|--|
| Descripción | <ul style="list-style-type: none"> Se inoculan placas de agar con el microorganismo de ensayo Las muestras de apósito se colocan sobre la superficie inoculada Evaluación de la formación de una zona de inhibición (ZOI) tras 24 horas | <ul style="list-style-type: none"> Se colocan 50 ml de cultivo microbiano estandarizado en tres recipientes: (1) suspensión solo de bacterias; (2) sustancia antimicrobiana de ensayo; y (3) objeto de control Se cuentan las concentraciones microbianas en el «tiempo cero» Todos los frascos se agitan en un agitador manual durante un tiempo de contacto especificado, normalmente 1 hora Una vez transcurrido el tiempo de contacto especificado, se determina la concentración microbiana en todos los frascos La concentración de microorganismos para el producto antimicrobiano se compara con la suspensión microbiana sola o con el control sin tratar «Antimicrobiano» = producto que produce una reducción sustancial en relación con el inóculo o los controles sin tratar | <ul style="list-style-type: none"> Las muestras de tejido de control y de ensayo se inoculan con microorganismos (la suspensión microbiana solo entra en contacto el tejido) Los niveles de bacterias tanto en los tejidos de control como en los de ensayo se determinan en el «tiempo cero» mediante elución en un gran volumen de caldo neutralizante, seguido de dilución y siembra Se deja incubar los tejidos de control y de ensayo inoculados, sin alterarlos, en frascos sellados, durante 24 horas Tras la incubación, se determinan las concentraciones microbianas Se calcula la reducción de microorganismos en relación con las concentraciones iniciales y el tejido de control (generalmente en %) | <ul style="list-style-type: none"> Los tejidos de control y de ensayo se inoculan con microorganismos por triplicado, asegurándose de que el inóculo solo entre en contacto con los tejidos Las concentraciones microbianas iniciales se determinan en el «tiempo cero» mediante elución, seguida de dilución y siembra de los tejidos de control inmediatamente después de la inoculación Se deja que los tejidos de control y de ensayo inoculados se incuben sin alterarlos en recipientes sellados a temperatura corporal durante 18 horas Tras la incubación, se determinan las concentraciones microbianas Se calcula la reducción de microorganismos con respecto a las concentraciones iniciales y al tejido de control (principalmente en log CFU) |
| Puntos fuertes | <ul style="list-style-type: none"> «Tratamiento» de una superficie Relativamente rápido Fácil de manejar | <ul style="list-style-type: none"> Reproducible Concentraciones microbianas estandarizadas Permite flexibilidad experimental (adaptación a productos de diversas formas y tamaños) | <ul style="list-style-type: none"> Cuantitativo Reproducible Pruebas tanto de propiedades bacteriostáticas como bactericidas Concentraciones microbianas estandarizadas Suministro de nutrientes | <ul style="list-style-type: none"> Cuantitativo Reproducible Pruebas para determinar las propiedades bacteriostáticas y bactericidas Concentraciones microbianas estandarizadas Replicados técnicos Criterios de «aprobado/no aprobado» |
| Puntos débiles | <ul style="list-style-type: none"> Resultado únicamente cualitativo Sin cuantificación Depende del agente difusible | <ul style="list-style-type: none"> No es una situación realista Depende en gran medida del tiempo de contacto No hay criterios claros de éxito Alejado del uso real de la mayoría de los productos antimicrobianos | <ul style="list-style-type: none"> Criterios de éxito vagos («los criterios de éxito deben ser decididos por las partes interesadas») Engorroso si el tejido de prueba no absorbe fácilmente los líquidos (hidrófobo) | <ul style="list-style-type: none"> Por lo general, no aceptado por la Agencia de Protección Ambiental de EE. UU. para las denominadas «declaraciones de propiedades saludables» Los materiales hidrófobos pueden ser difíciles de someter a ensayo |
| <p>AATCC 100 — Asociación Americana de Químicos y Coloristas Textiles (prueba de exposición); ASTM E2149 — Sociedad Americana para Pruebas y Materiales (prueba de suspensión); UFC — unidades formadoras de colonias; JIS L 1902 — prueba de exposición de la Norma Industrial Japonesa; ZOI — zona de inhibición</p> | | | | |

superficie. Las bacterias de la herida, por otro lado, poseen una alta hidrofobicidad de la superficie celular (CSH).¹¹ Cuando la superficie hidrofóbica recubierta de DACC entra en contacto con la superficie bacteriana hidrofóbica, se produce una unión entre ellas a través de la interacción hidrofóbica y la expulsión de moléculas de agua.¹¹ Esto media la unión irreversible de los microorganismos a las superficies recubiertas de DACC.² Durante los cambios de apósito, los microorganismos unidos se eliminan posteriormente.¹¹ Los apósitos recubiertos de DACC se han empleado con éxito en el tratamiento y la prevención de infecciones de heridas, así como en la reducción de la carga microbiana de las heridas, tal y como se describe en numerosos estudios clínicos.^{2,12}

Es difícil demostrar la base mecánica de la actividad antibacteriana, ya que la mayoría de los métodos de ensayo se han desarrollado para agentes liberables. Los ensayos estándar in vitro

permiten comparar directamente los efectos antimicrobianos de los apósitos.¹³ Son sencillas, rápidas, reproducibles, económicas y permiten manejar una amplia gama de cantidades de muestra. Sin embargo, los distintos ensayos varían notablemente en sus propiedades y, en consecuencia, en sus resultados.^{13,14} Los ensayos más utilizados son el ensayo de difusión en agar (ADT), los métodos de suspensión (p. ej., el de la Sociedad Americana para Ensayos y Materiales (ASTM) E2149) y las pruebas de contacto directo, como la Norma Industrial Japonesa (JIS) L 1902 o la de la Asociación Americana de Químicos y Coloristas Textiles (AATCC) 100, todas las cuales tienen fortalezas y debilidades únicas en lo que respecta a la evaluación de los apósitos para heridas (Tabla 1). Los mecanismos pasivos pueden pasarse por alto en entornos que emplean la ADT o pruebas de suspensión, ya que están optimizados para evaluar agentes antimicrobianos «activos». Por el contrario, las pruebas de exposición

(por ejemplo, JIS L 1902, AATCC 100), en las que la difusibilidad del agente antimicrobiano no es un requisito previo y las muestras de apósito entran en contacto directo con los microorganismos, permiten evaluar los efectos basándose en la capacidad de inmovilizar a los microorganismos.¹³

Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue utilizar la prueba de exposición JIS L 1902 para evaluar la actividad antimicrobiana de un apósito recubierto de DACC (Sorbact Compress, ABIGO Medical AB, Suecia) frente a varios patógenos de heridas priorizados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), como el SARM, el *Enterococcus* resistente a la vancomicina (VRE), las betalactamasas de espectro ampliado (BLEA) y *Acinetobacter baumannii*, así como el efecto de la exposición bacteriana repetida en un entorno de herida adverso y el rendimiento a un pH relacionado con la herida.

Métodos

Materiales

El apósito para heridas recubierto con DACC (Sorbact Compress) se adquirió del fabricante ABIGO Medical AB, Suecia. Los apósitos que contienen plata Acticoat Flex 3 y Mepitel Ag se adquirieron de Smith+Nephew, Reino Unido, y Mölnlycke Health Care AB, Suecia, respectivamente. El vendaje de gasa se adquirió de Akla AB, Suecia.

Staphylococcus aureus ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* DSM 11729 (MRSA), *Enterococcus faecium* DSM 17050 (VRE), *Pseudomonas aeruginosa* DSM 24599 (ESBL), *Enterobacter cloacae* DSM 26481 (ESBL) y *Acinetobacter baumannii* DSM 102929 se adquirieron de la Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ), Alemania. *Staphylococcus aureus* CCUG 2354 y CCUG 10778 (correspondientes a ATCC 6538), y *Pseudomonas aeruginosa* CCUG 17619 se adquirieron de la colección de cultivos de la Universidad de Gotemburgo, Suecia. Para el cultivo de bacterias, se adquirieron peptona especial y polvo «lab-lemco» para la preparación de caldo Case-Bouillon a Oxoid, Reino Unido. La solución de cloruro de sodio (NaCl) al 0,9 % se obtuvo de Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Alemania, y el Tween 20 se adquirió a Roth, Alemania. El agar sangre de caballo (HB), el agar Sabouraud, el agar Mueller-Hinton ajustado en cationes y la solución salina tamponada con fosfato (PBS) se adquirieron en el Departamento de Sustratos del Hospital Universitario Sahlgrenska, Suecia.

Prueba de difusión en agar (ADT)

Para investigar el efecto de diversos apósitos sobre la viabilidad de las células bacterianas, se realizó un ensayo antimicrobiano basado en la zona de inhibición (ZOI) en una placa de agar, de acuerdo con el protocolo de la prueba de sensibilidad por difusión en disco de Kirby-Bauer.¹⁵ Se extendió uniformemente sobre agar Mueller-Hinton ajustado con cationes, mediante un bastoncillo de algodón, una alícuota de 100 µl de una suspensión de aproximadamente 10^8 unidades formadoras de colonias (UFC)/ml de *Staphylococcus aureus* CCUG 2354 o *Pseudomonas aeruginosa* CCUG 17619. Todos los materiales de apósito para heridas se cortaron en discos circulares (14 mm de diámetro) y se colocaron sobre el

Placa de agar Mueller-Hinton. A continuación, la placa de agar se incubó durante 18-24 horas a 37 °C antes de fotografiar la zona de inhibición (ZOI). La ZOI se midió con una regla estándar.

Imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM)

Se inocularon 8×10^7 UFC/muestra de *Staphylococcus aureus* en discos circulares de 14 mm de diámetro de un apósito recubierto de DACC y se incubaron en tubos tapados durante 24 horas a 37 °C en condiciones aeróbicas. La mitad de las muestras se fijaron inmediatamente en glutaraldehído al 2,5 % (EMSdiasm, EE. UU.) en tampón de piperazina-N,N'-bis(ácido 2-etanosulfónico) (PIPES), y la otra mitad se lavó en 8 ml de solución de NaCl al 0,9 % con Tween 80 (Merck, Alemania) mediante agitación en vórtex a velocidad máxima durante 5×5 segundos antes de la fijación. Las muestras se procesaron posteriormente lavándolas varias veces con PIPES 0,1 M, y la posfijación se llevó a cabo en tetróxido de osmio al 1 % (OsO₄) (EMSdiasm, EE. UU.) en PIPES 0,1 M durante 1,5 horas a 4 °C; a continuación, las muestras se lavaron varias veces con agua Milli-Q (Merck, Alemania) y se deshidrataron a temperatura ambiente en una serie graduada de etanol (Solveco AB, Suecia) (30, 50, 70, 85, 95 y 4×100 %). Posteriormente, el etanol al 100 % se sustituyó por hexametildisilazano (HMDS, Supelco n.º 52619, Merck KG, Alemania), que se retiró tras una incubación de tres minutos. Las muestras se secaron al aire durante la noche, se montaron en soportes de aluminio utilizando pegamento de plata (Pelco #16062, Ted Pella Inc., EE. UU.) y se recubrieron con 20 nm de oro (Quorum Technologies, Reino Unido) al día siguiente. Las imágenes SEM se obtuvieron con un ZEISS Gemini II 450 (Carl Zeiss Microscopy, Alemania) a una tensión de funcionamiento de 2 kV.

Ensayo de la actividad antimicrobiana según la norma JIS L 1902. La actividad antibacteriana se determinó de acuerdo con la Norma Industrial Japonesa (JIS L 1902:2008, «Método de ensayo de la actividad antibacteriana de los textiles»), tal y como se ha descrito anteriormente.^{16,17} En resumen, se inoculó un medio de cultivo adecuado con los microbios de ensayo y se cultivó durante 24 horas a 37 °C en condiciones aeróbicas. Para los experimentos, se incubaron muestras de 400 mg de los apósitos para heridas con 200 µl de cada solución de microbios de ensayo (10^5 UFC/ml) durante 24 horas a 37 °C en condiciones aeróbicas. Para densidades de inóculo más altas, las concentraciones de microorganismos se elevaron a 10^6 , 10^7 y 10^8 UFC/ml. Los experimentos con mayor contenido proteico se realizaron utilizando un medio de cultivo que contenía un 10 % y un 50 % de suero fetal bovino (FCS; Promocell, Alemania). Para evaluar el impacto del pH, el medio de cultivo (aproximadamente pH 7) se ajustó a pH 6 con ácido clorhídrico 0,1 M (HCl, Roth, Alemania), y a pH 8 y pH 9 utilizando hidróxido de sodio 0,1 M (NaOH, Roth, Alemania). Se utilizó poliéster (TITK, Alemania) como material de referencia, ya que también es hidrófobo. Para la determinación del recuento bacteriano, las muestras incubadas se extrajeron en 10 ml de solución de NaCl al 0,9 % con Tween 20. Se realizaron diluciones seriadas en placas de agar Columbia (BioMerieux, Francia), se incubaron durante 24 horas a 37 °C y posteriormente se contaron las colonias. El

Se calcularon el valor de UFC/ml y el recuento microbiano total de las muestras (en UFC). La reducción del crecimiento en comparación con el valor inicial se determinó mediante la siguiente ecuación y se clasificó según la norma JIS L 1902:2008:

$$\text{reducción del crecimiento} [\log \text{ UFC}] = \log(24^{\text{h}} \text{ MW} [\text{UFC}]_{\text{control(poliéster)}}) - \log(24^{\text{h}} \text{ MW} [\text{UFC}]_{\text{muestra}})$$

donde la reducción del crecimiento se expresa como la diferencia logarítmica de los valores medios (MW) de UFC a las 24 horas.

Clasificación:

- sin actividad antimicrobiana = <0,5 log de reducción del crecimiento microbiano
- actividad antimicrobiana leve = 0,5–1 log de reducción del crecimiento microbiano
- actividad antimicrobiana significativa => 1–≤3 log de reducción del crecimiento microbiano
- fuerte actividad antimicrobiana => reducción del crecimiento microbiano de 3 log

Investigación del efecto antimicrobiano sostenido de los apósitos recubiertos con DACC

Se investigó el efecto antimicrobiano sostenido del apósito recubierto con DACC durante siete días mediante un método de incubación directa con reinoculación repetida del material. Por lo tanto, se inoculó caldo Casio con *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y se cultivó durante 24 horas a 37 °C en condiciones aeróbicas. Para los experimentos, se incubaron muestras de 400 mg de los apósitos para heridas con 200 µl de la suspensión preparada de *Staphylococcus aureus*, de acuerdo con la norma JIS L 1902, a 37 °C en condiciones aeróbicas. Se utilizó poliéster como material de referencia. La etapa de inoculación se repitió cada día durante un total de siete días. Las muestras de ensayo inoculadas se mantuvieron a 37 °C en una atmósfera humidificada. Tras 24 horas (día 1), 48 horas (día 2), 72 horas (día 3), 96 horas (día 4), 120 horas (día 5), 144 horas (día 6) y 168 horas (día 7) de incubación, se extrajeron muestras de los aderezos en 10 ml de solución de NaCl al 0,9 % con Tween 20 para determinar el recuento bacteriano. Se realizaron diluciones seriadas en placas de agar Columbia, se incubaron durante 24 horas a 37 °C y, posteriormente, se contaron las colonias. Se calcularon el valor de UFC/ml y el recuento microbiano total de las muestras (en UFC).

Análisis estadístico

En todos los casos se realizaron dos experimentos independientes, cada uno de ellos con tres réplicas técnicas. Todos los valores se expresaron como media ± desviación estándar (DE). Se llevó a cabo un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) para determinar la significación estadística (Excel 2000, Microsoft Corp., EE. UU.). Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas a un nivel de $p < 0,05$.

Resultados

Actividad antimicrobiana ejercida por la unión de bacterias
La prueba de difusión en agar « » demostró que la

El apósito para heridas recubierto con DACC no contenía ningún agente antimicrobiano liberable (Fig. 1a, b). Mientras que una muestra de apósito que contenía plata mostró una formación clara de una zona de inhibición (ZOI), no se observó ninguna ZOI en el apósito para heridas con recubrimiento de DACC ni en el tejido de control. No obstante, se observó una actividad antimicrobiana significativa en pruebas de contacto, como la JIS L 1902 contra *Staphylococcus aureus* (Fig. 1c) y *Pseudomonas aeruginosa* (Fig. 1d), lo que indica eficacia a través de un mecanismo de unión. La unión de las bacterias al apósito recubierto con DACC fue tan fuerte que no se liberaron bacterias detectables ni siquiera tras un lavado exhaustivo en presencia de un tensioactivo. Las imágenes de SEM tras el lavado verifican la presencia de bacterias en las fibras recubiertas de DACC del apósito (Fig. 2). Además, se observaron puntos de anclaje entre las bacterias y la superficie de la fibra, lo que indica una fuerte unión a esta última. Se descubrió además que las bacterias unidas seguían siendo viables, tal y como confirmó la tinción con bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT), pero parecían tener impedida la reproducción, ya que no se observó multiplicación de las bacterias unidas.

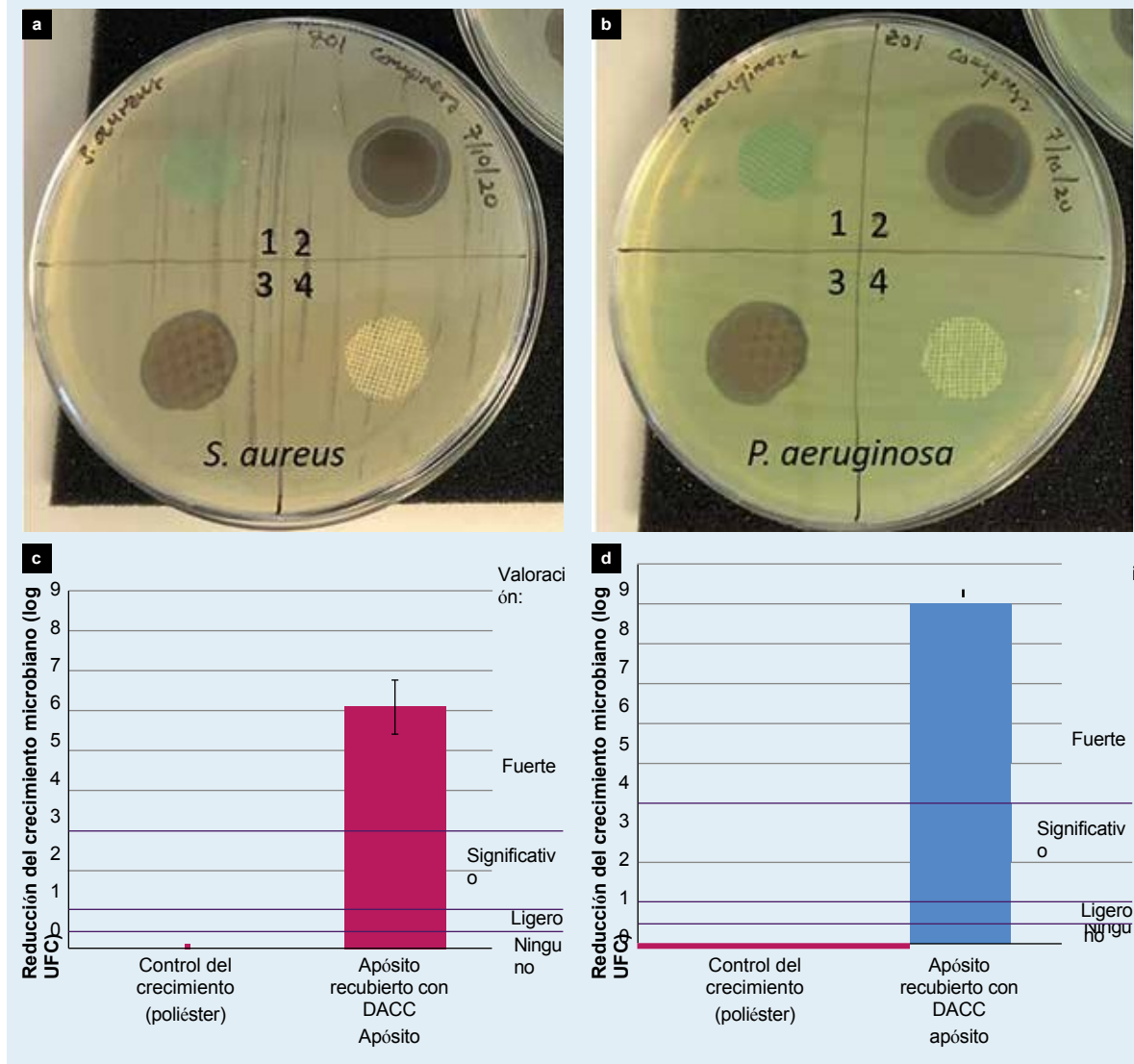
Actividad antimicrobiana contra patógenos prioritarios de la OMS

Se exploraron diferentes aspectos de la actividad antimicrobiana basada en la unión del apósito recubierto con DACC. Se comprobó que el apósito DACC inhibía eficazmente el crecimiento de diversas especies bacterianas. Las pruebas de actividad antibacteriana mostraron una fuerte reducción de todas las cepas bacterianas resistentes priorizadas por la OMS sometidas a ensayo, de acuerdo con la norma JIS L 1902 (Fig. 3). Además, el apósito recubierto de DACC fue capaz de inhibir completamente el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* y *Acinetobacter baumannii* en la prueba. Se confirmó que el apósito recubierto de DACC ejercía este elevado efecto antibacteriano durante un periodo prolongado de tiempo a pesar de la inoculación repetida en el experimento in vitro (Fig. 4).

Impacto de los factores ambientales en la actividad antimicrobiana

Para evaluar si la eficacia del apósito recubierto con DACC frente a las bacterias se veía influida por tres factores que normalmente no se tienen en cuenta en los métodos de ensayo estándar, se investigó el posible impacto de mayores densidades de inóculo, una mayor carga proteica y diferentes valores de pH sobre la actividad antibacteriana. Las densidades de inóculo más altas provocaron una reducción de la eficacia antimicrobiana en la prueba de contacto (fig. 5a). No obstante, con una densidad de inoculación diez veces mayor, el apósito recubierto con DACC siguió logrando una reducción >3 log de las bacterias, y un aumento de 100 veces siguió ejerciendo un fuerte efecto sobre *Pseudomonas aeruginosa* y un efecto significativo sobre *Staphylococcus aureus* según la norma JIS L 1902. Además, el aumento del contenido proteico del medio afectó al rendimiento antibacteriano del apósito recubierto de DACC frente tanto a *Staphylococcus aureus* como a *Pseudomonas aeruginosa* en la prueba de contacto (Fig. 5b). Tras la adición

Fig. 1. Prueba de difusión en agar que muestra la zona de inhibición de diferentes apósitos para heridas frente a las dos cepas de microorganismos *Staphylococcus aureus* (a) y *Pseudomonas aeruginosa* (b). Las muestras mostradas son: (1) Sorbact Compress; (2) Acticoat Flex 3; (3) Mepitel Ag; y (4) vendaje de gasa. Las pruebas realizadas con el apósito recubierto de cloruro de dialquilarbamoilo Sorbact Compress, de acuerdo con la norma JIS L 1902, revelaron una fuerte actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* (c) y *Pseudomonas aeruginosa* (d). UFC: unidades formadoras de colonias



En una solución de suero fetal bovino (FCS) al 10 %, se observó una actividad antibacteriana con una reducción de 0,5 a 1 log. Se observó la formación de aglomerados bacterianos en las rejillas de fibra en condiciones de mayor contenido proteico inducido experimentalmente, fácilmente perceptibles en las muestras sin tratar (fig. 5c). El lavado de las muestras dio lugar a una disminución observable de los aglomerados bacterianos en las rejillas. Tras un agitado intenso (tal y como exige la norma JIS L 1902), no se encontraron bacterias en las rejillas de la muestra agitada, aunque eran evidentes en las fibras del apósito. Esto indicaba que, en condiciones de mayor contenido proteico, las bacterias liberadas en el medio de extracción procedían de aglomerados atrapados en las rejillas, mientras que aquellas unidas directamente a las fibras recubiertas de DACC estaban firmemente adheridas y no se liberaban. Además, el recubrimiento de DACC apósito

Fig. 2. Imágenes de microscopía electrónica de barrido de *Staphylococcus aureus* adherido a fibras recubiertas con cloruro de dialquilarbamoilo. Las muestras mostradas son: sin lavar (a) y lavadas con NaCl al 0,9 % con Tween 20 (b), incluyendo un aumento mayor de la muestra lavada (c). Tensión de alta tensión electrónica (EHT): 2,5 kV; aumento 2500× (a, b), 100 000× (c); distancia de trabajo: 7,2 mm

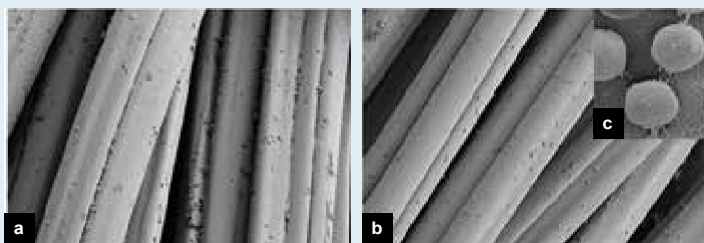


Fig. 3. Las pruebas de la actividad antibacteriana del apósito recubierto con cloruro de dialquilcarbamoilo, realizadas según la norma JIS L 1902, mostraron una fuerte actividad antibacteriana contra las cepas bacterianas prioritarias de la OMS. UFC: unidades formadoras de colonias; *S. aureus*: *Staphylococcus aureus*; *P. aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa*; *E. cloacae*: *Enterococcus cloacae*; *A. baumannii*: *Acinetobacter baumannii*; ESBL: beta-lactamasa de espectro ampliado; MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina; VRE: *Enterococcus* resistente a la vancomicina

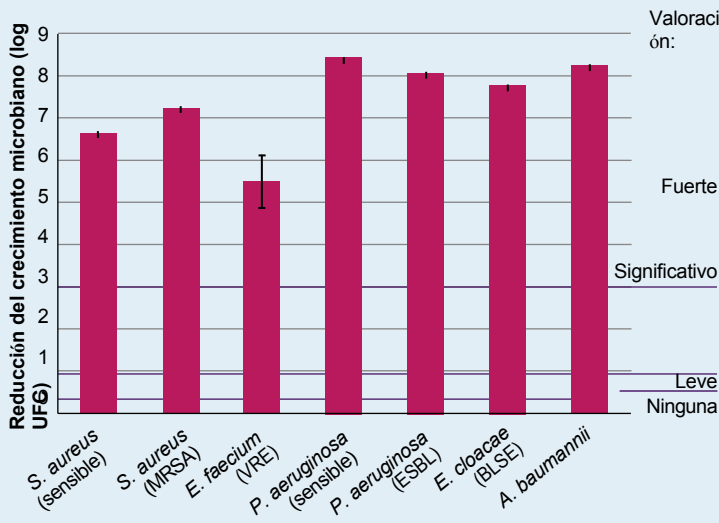
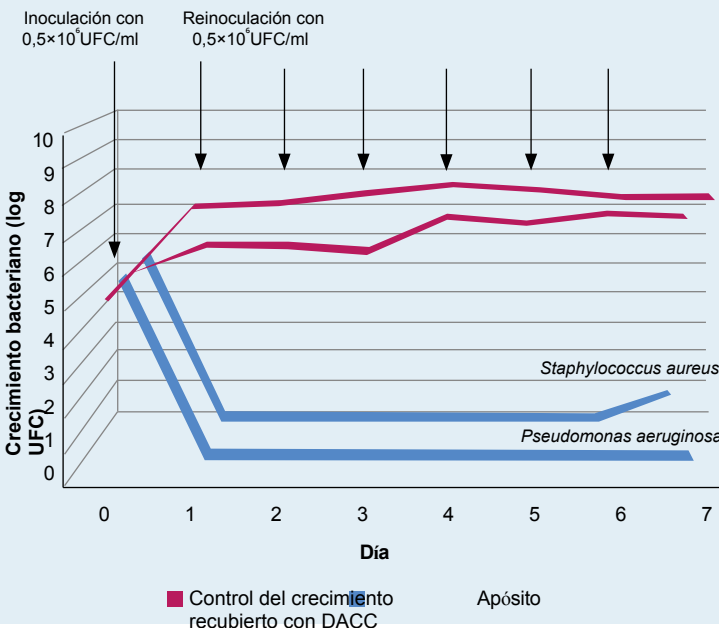


Fig. 4. El apósito recubierto de cloruro de dialquilcarbamoilo (DACC) demostró un efecto antibacteriano prolongado y estadísticamente significativo ($p < 0,001$) contra *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* durante siete días, según la norma JIS L 1902, con inoculaciones repetidas durante el experimento. UFC: unidades formadoras de colonias



mostró el mismo fuerte efecto antibacteriano contra el microorganismo modelo *Staphylococcus aureus* según la norma JIS L 1902 a pH 6, así como a pH 8 y pH 9, siendo el rango alcalino típico de las heridas de difícil cicatrización (Fig. 5d).

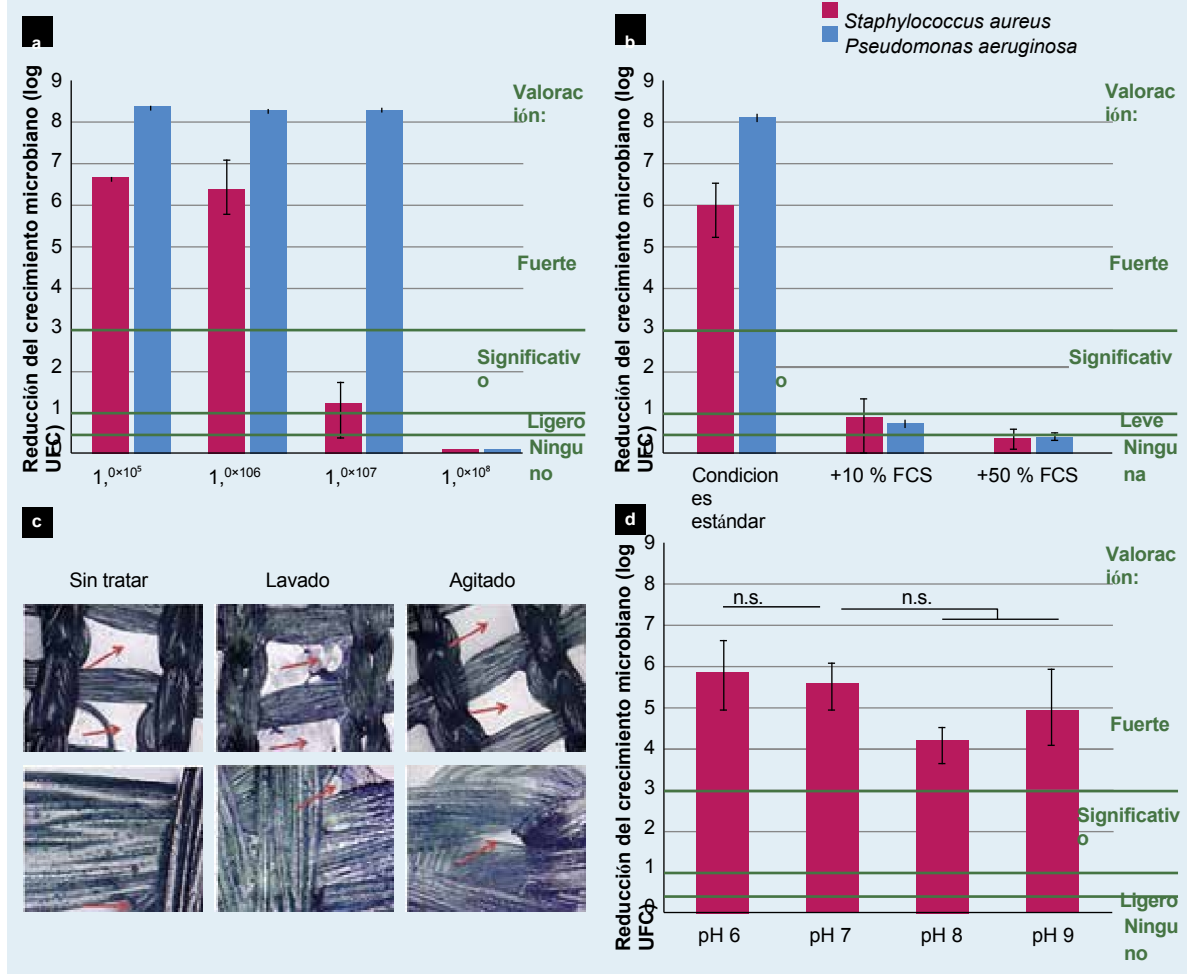
Discusión

En diversos estudios clínicos, los apósitos recubiertos con DACC han mostrado resultados prometedores tanto en la prevención como en el tratamiento de las infecciones de heridas, a menudo acompañados de una mejora en la cicatrización o una reducción del tamaño de la herida.^{5,18-26} La experiencia clínica con los apósitos recubiertos con DACC también se ha resumido recientemente en dos revisiones, en las que se ha demostrado su utilidad en el tratamiento de diversas heridas agudas y de difícil cicatrización.^{2,12} Por ejemplo, los apósitos recubiertos con DACC reducen el riesgo de infecciones quirúrgicas secundarias,^{21,22} siendo más eficaces en el periodo postoperatorio temprano al impedir el acceso de las bacterias a la herida.^{2,19} Además, la infección en pacientes de alto riesgo se pudo prevenir eficazmente utilizando este apósito que se adhiere a las bacterias.²³ Además, la reducción de la carga bacteriana contribuyó al éxito del tratamiento de heridas infectadas de difícil cicatrización mediante el uso de apósitos recubiertos de DACC.^{5,27} También hay evidencia que respalda el uso de apósitos recubiertos de DACC como enfoque alternativo para prevenir y/o tratar la infección tanto en heridas agudas como de difícil cicatrización, al no exacerbar la resistencia a los antimicrobianos (RAM) y apoyar la gestión de antimicrobianos (AMS).¹⁰ El DACC confiere propiedades de unión microbiana principalmente a través de interacciones hidrofóbicas.²⁷ El primer paso es inicialmente inespecífico e implica el recubrimiento hidrofóbico de DACC y la superficie hidrofóbica de los microorganismos.¹¹ En este estudio, se confirmó la presencia de bacterias en las fibras recubiertas de DACC del apósito mediante imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM). En la segunda etapa, se cree que las interacciones entre las proteínas de adhesión bacterianas y la superficie del DACC pasan a ser predominantes.^{11,27} En consecuencia, se observaron puntos de anclaje entre las bacterias y la superficie de la fibra en las imágenes de SEM, lo que sugiere una fuerte unión de las bacterias a las fibras recubiertas de DACC. Además, se observó una actividad antimicrobiana significativa contra *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* según la norma JIS L 1902, lo que indica eficacia a través de un mecanismo de unión y, por lo tanto, el control de la carga microbiana global. Esto podría explicar la reducción de la carga microbiana y la mejora en la cicatrización de las heridas^{5,18-26} observadas en la práctica clínica con apósitos recubiertos de DACC.

Descubrimos que un requisito previo para la actividad antibacteriana

es el contacto cercano de las bacterias con el apósito recubierto de DACC. El apósito recubierto de DACC no libera sustancias químicas ni farmacológicamente activas.² Esto se verificó mediante la prueba de difusión en agar, en la que no se observó zona de inhibición (ZOI) para el apósito con recubrimiento de DACC, mientras que una muestra de apósito que contenía plata mostró una formación clara de una ZOI. Se considera ventajoso el mecanismo de unión exclusivamente físico, ya que cabe esperar que el apósito no afecte negativamente al lecho de la herida ni a las células implicadas en el proceso de cicatrización,² y los estudios clínicos han confirmado un excelente perfil de seguridad para el apósito recubierto de DACC.^{2,5} Por el contrario, la plata puede ejercer un efecto citotóxico local sobre los fibroblastos y los queratinocitos a concentraciones más elevadas,

Fig. 5. Evaluación de la influencia de mayores densidades de inóculo (a) y de una mayor carga proteica (b) sobre la actividad antibacteriana del apósito recubierto con DACC según la norma JIS L 1902 frente a *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Se encontraron aglomerados de bacterias teñidos con MTT en las rejillas de fibra en condiciones de aumento experimental de proteínas, los cuales disminuyeron con el lavado de las muestras y se eliminaron tras la agitación en vórtex (c). Los diferentes valores de pH no afectaron a la actividad antibacteriana del apósito recubierto con DACC según la norma JIS L 1902 frente a *Staphylococcus aureus* (d). UFC: unidades formadoras de colonias; DACC: cloruro de dialquilcarbamoilo; FCS: suero fetal de ternera; MTT: bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio; n.s.: no significativo



lo que provoca un retraso en la cicatrización.^{17,28} Además, se ha descrito anteriormente la resistencia bacteriana a la plata^{29,30} y se ha podido inducir experimentalmente en *Staphylococcus aureus*.³¹ Debido al mecanismo antibacteriano «pasivo» del recubrimiento de DACC, basado en una simple interacción hidrofóbica, es poco probable que se desarrolle resistencia.² No obstante, cabe señalar que las bacterias podrían adaptarse mediante cambios en la hidrofobicidad de la superficie. Larkó et al.,³² consideraron que esto podría suponer una limitación en infecciones causadas por bacterias que expresan una superficie celular hidrófila, lo que observaron en su cepa de *Staphylococcus aureus*.

En este estudio no se observó una reducción clara de la eficacia antimicrobiana frente al *Staphylococcus aureus*. Esto también se refleja en los estudios de Ljungh et al.,¹¹ quienes demostraron que la mayoría de los patógenos de las heridas tienden a expresar un mayor nivel de CSH en las heridas y en heridas simuladas

entornos que en el cultivo in vitro convencional. Además, varios estudios señalaron un aumento de la CSH en cepas bacterianas resistentes, ya que este factor, junto con la expresión de pigmentos, hemolisina, lipasa, proteasa, gelatinasa y ramnolípidos, así como la formación de biopelículas, constituye los factores de virulencia.³³⁻³⁵ En consecuencia, se observó que el apósito recubierto de DACC puede inhibir eficazmente el crecimiento de diversas especies bacterianas, incluidas las cepas bacterianas resistentes priorizadas por la OMS analizadas en este estudio según la norma JIS L 1902. Es importante destacar que la unión física de las bacterias a la superficie del DACC implica que las paredes celulares bacterianas permanecen intactas, lo que evita la liberación de endotoxinas² que posteriormente actúan como factores agravantes de la inflamación de la herida.^{36,37}

Cada vez está más claro que las condiciones de ensayo estándar podrían no reflejar adecuadamente el entorno de la herida, donde los apósitos pueden verse sometidos a

mayores cargas bacterianas, un contenido elevado de proteínas y un pH alcalino. Por lo tanto, en este estudio investigamos cómo las densidades de inóculo más altas, el aumento de la carga proteica y los diferentes valores de pH afectan a la actividad antibacteriana del apósito recubierto con DACC según la norma JIS L 1902. Larkö et al.³² informaron de una posible saturación de la superficie recubierta con DACC por bacterias, lo que permitió que *las Pseudomonas aeruginosa* no unidas restantes se multiplicaran. Por el contrario, Ljungh et al.¹¹ demostraron capacidades de unión de los apósitos recubiertos de DACC mucho mayores para bacterias en el rango de 10^8 UFC/ml, $5,01 \times 10^6$ UFC/ml, 10^6 UFC/ml y $3,16 \times 10^7$ UFC/ml para *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacteroides fragilis* y *Fusobacterium nucleatum*, respectivamente. Es probable que esta diferencia esté relacionada con los distintos diseños experimentales de los dos estudios. En nuestro estudio, también observamos una reducción de la eficacia antimicrobiana en la prueba de contacto con densidades de inóculo más altas debido al crecimiento excesivo de las muestras durante el periodo de incubación. Por el contrario, cuando las muestras fueron expuestas repetidamente a bajas cantidades de microorganismos, se observó una actividad antibacteriana consistentemente alta. El crecimiento excesivo, lo que significa que las bacterias que no están en contacto directo y cercano con la superficie del DACC conservan su capacidad de proliferar, probablemente conduce a la deposición de proteínas y a la formación de biopelículas alrededor de las fibras. El aumento del contenido proteico de los medios también afectó al rendimiento antibacteriano del apósito recubierto con DACC frente a *Staphylococcus aureus*, así como frente a *Pseudomonas aeruginosa*. Se observó la formación de aglomerados de bacterias en las rejillas de fibras en estas condiciones. El lavado redujo los aglomerados de bacterias en las rejillas, mientras que la agitación intensa, tal y como exige la norma JIS L 1902, los eliminó por completo. Por el contrario, las bacterias unidas directamente a las fibras recubiertas de DACC estaban firmemente adheridas y no pudieron liberarse durante el procedimiento de elución.

Estos resultados plantearon dos preguntas:

- i. ¿Cómo se traduce el término «unión irreversible» en la práctica diaria y en el manejo de los apósitos?
- ii. ¿Qué contenido proteico se necesita para reflejar el estado de una herida difícil de curar?

Cooper et al.³⁸ demostraron que las muestras de apósitos recubiertos con DACC

expuestas a la biopelícula de *Pseudomonas aeruginosa* retenían rápida y ampliamente la biopelícula, que posteriormente podía eliminarse eficazmente de la superficie. Ljungh et al.¹¹ también utilizaron un procedimiento relativamente suave para el recuento de las bacterias unidas a la superficie de DACC. Del mismo modo, cabe esperar que las bacterias permanezcan adheridas al apósito al retirarlo de la herida, lo que contribuye a la reducción de la carga microbiana. Por lo tanto, estos estudios demuestran la alta capacidad de retención. Por el contrario, el proceso de recuento de la norma JIS L 1902 es claramente más agresivo, lo que da lugar a la pérdida de todas las bacterias que solo están adheridas de forma laxa a la superficie del DACC (posiblemente en la segunda o tercera capa), así como de las bacterias que solo han sido absorbidas por el material. Por el contrario, las bacterias en contacto directo con la superficie del DACC se unen de forma irreversible. Sin embargo, debe reconocerse que el término «irreversible» también es dinámico, ya que Sjollem et

al.³⁹ por ejemplo, describen la adherencia bacteriana a las superficies del sustrato como múltiples uniones reversibles que se desprenden y se vuelven a unir sucesivamente sin desprenderse nunca todas a la vez, lo que da lugar a una adhesión bacteriana irreversible.

En general, se ha descrito que el contenido total de proteínas en las heridas de difícil cicatrización oscila entre 10 mg/ml y aproximadamente 55 mg/ml,^{40,41} siendo 40 mg/ml el valor más ampliamente aceptado.⁴² Recientemente hemos realizado un estudio sobre las heridas de difícil cicatrización atendidas en la clínica de heridas del Departamento de Dermatología de Jena, y hemos encontrado un contenido de proteínas de 0,2 a 4600 µg/ml en un total de 303 heridas, con un valor mediano de 242 µg/ml y un valor medio de 428 ± 573 µg/ml (datos no publicados). Estos resultados concuerdan con un estudio de Moseley et al.⁴³ que muestra una concentración media de proteínas en los fluidos de heridas de difícil cicatrización de $0,644 \pm 0,153$ mg/ml. Las discrepancias pueden explicarse por las diferentes técnicas de muestreo; mientras que los estudios anteriores utilizaron líquido de la herida aspirado tras su recogida bajo apósitos de película hermética,⁴⁰⁻⁴² nosotros tomamos muestras de la superficie de la herida mediante un procedimiento de lavado, mientras que Moseley et al.,⁴³ extrajeron la proteína de filtros tras colocarlos sobre la superficie de la herida. Broszczak et al.,⁴⁴ obtuvieron resultados similares al emplear ambos métodos. Las diferentes cargas de proteína utilizadas en esta prueba reflejan los distintos niveles potenciales de proteína en heridas de difícil cicatrización. La condición estándar arrojó una carga proteica de 265 ± 7 µg/ml, lo que representaba la cantidad de proteína más baja posible; la adición de un 10 % de FCS correspondió a 2463 ± 77 µg/ml, lo que representaba el rango medio, mientras que la suplementación con un 50 % de FCS, con 14183 ± 1330 µg/ml de proteína, tenía por objeto conferir la alta carga proteica que se encuentra en algunas heridas. En estas últimas condiciones, observamos la formación de aglomerados de bacterias en las rejillas de fibra, que se desprendían durante la agitación en el procedimiento de elución estándar de la prueba. Por el contrario, en condiciones de baja proteína, las bacterias se unían firmemente a las fibras recubiertas de DACC y no podían liberarse.

Braunwarth et al.,⁴⁵ demostraron que los apósitos que contienen plata poseían efectos bacteriostáticos similares en un rango de pH de 5,5 a 9,0. Otro estudio sobre el rendimiento de soluciones antisépticas a diferentes pH demostró que la clorhexidina y la octenidina presentan una actividad bactericida principalmente independiente del pH; por el contrario, el PHMB mostró una mayor eficacia, mientras que la povidona yodada mostró una reducción notable del efecto antibacteriano en un rango de pH de 5,0 a 9,0.⁴⁶ En este estudio se demostró que el apósito recubierto de DACC presentaba efectos antibacterianos comparables contra el microorganismo modelo *Staphylococcus aureus*, de acuerdo con la norma JIS L 1902, a diferentes valores de pH.

Las heridas de difícil cicatrización suelen presentar un pH comprendido entre 6,5 y 8,5, y en casos concretos se han observado valores de pH aún más elevados.^{47,48} Se cree que este «desplazamiento hacia el lado alcalino» en las heridas de difícil cicatrización, en comparación con las heridas agudas, se debe a la necrosis tisular, así como a la presencia de microorganismos.^{47,48} Por lo tanto, se puede

concluir que los apósitos recubiertos con DACC ejercerán actividad antibacteriana independientemente del pH de la herida de difícil cicatrización tratada.

Limitaciones

El efecto antibacteriano del apósito recubierto con DACC se evaluó mediante un método de ensayo in vitro estándar y se investigó su efecto sobre varias especies de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Aunque la selección se basó en patógenos de heridas relevantes, no se incluyeron todas las especies detectadas en las heridas. Además, las especies de levaduras no se incluyeron en el estudio y no se pueden extraer conclusiones sobre el efecto del apósito recubierto con DACC sobre las levaduras a partir de estos resultados.

Este estudio se centró además en dilucidar el mecanismo de unión de las bacterias al apósito recubierto con DACC, sin que se llevara a cabo ningún estudio clínico. Intentamos recrear in vitro las condiciones propias de las heridas de difícil cicatrización —como el pH, el aumento del contenido proteico y la elevada carga bacteriana— para poder trasladar los resultados a la práctica clínica.

Conclusiones

Estudios clínicos previos han demostrado que los apósitos recubiertos con DACC pueden ayudar a reducir la carga bacteriana en heridas con colonización crítica o infección local (según la revisión de Chadwick et al.,²). En este estudio, se confirmó el efecto antibacteriano mediante la unión irreversible y la inhibición del crecimiento de las bacterias unidas utilizando un método de ensayo in

Preguntas para la reflexión

- ¿Por qué es importante evaluar con precisión los diferentes mecanismos de la actividad antibacteriana?
- ¿Qué muestra este estudio con respecto a la versatilidad de los apósitos recubiertos con cloruro de dialquilcarbamoilo en el tratamiento de heridas?
- ¿Cómo pueden los apósitos con mecanismos de inactivación pasiva ayudar a reducir la propagación de bacterias resistentes?

, la norma JIS L 1902. El rendimiento antibacteriano del apósito recubierto con DACC no se vio afectado en el rango de pH típico de las heridas de difícil cicatrización, y se mantuvo durante las etapas posteriores de reinfección.

En conclusión, se puede suponer, por lo tanto, que este tipo de apósito es beneficioso para controlar la carga microbiana de la herida. También existe un creciente conjunto de pruebas clínicas que ilustran que los apósitos recubiertos de DACC pueden utilizarse con éxito para prevenir y tratar las infecciones de heridas, reduciendo el consumo global de antibióticos.¹⁰ De este modo, los apósitos recubiertos de DACC contribuyen a respaldar la estrategia AMS. JWC

Agradecimientos

Los autores desean agradecer a Martina Grebner su excelente apoyo técnico y a Grazyna Söderbom, de Klipspringer AB, su apoyo editorial.

Referencias

- 1 Negut I, Grumezescu V, Grumezescu A. Estrategias de tratamiento para heridas infectadas. *Molecules* 2018; 23(9):2392. <https://doi.org/10.3390/molecules23092392>
- 2 Chadwick P, Ousey K. Apósitos que capturan bacterias en el tratamiento de la cicatrización de heridas y la prevención de infecciones: una revisión narrativa. *J Wound Care* 2019; 28(6):370–382. <https://doi.org/10.12968/jowc.2019.28.6.370>
- 3 Cutting K, McGuire J. Control seguro y a largo plazo de la carga microbiana que ayuda a promover la cicatrización. Revisión de la evidencia de la tecnología DACC. *J Wound Care* 2015; 24(Sup5a Suppl):S3–S5. <https://doi.org/10.12968/jowc.2015.24.Sup5a.S3>
- 4 Powell G. Evaluación de Cutimed Sorbact: enfoque basado en un estudio de caso. *Br J Nurs* 2009; 18(15):S30–S36
- 5 Mosti G, Magliaro A, Mattaliano V et al. Estudio comparativo de dos apósitos antimicrobianos en úlceras de pierna infectadas: un estudio piloto. *J Wound Care* 2015; 24(3):121–127. <https://doi.org/10.12968/jowc.2015.24.3.121>
- 6 White RJ, Cutting K, Kingsley A. Antimicrobianos tópicos en el control de la carga microbiana de las heridas. *Ostomy Wound Manage* 2006; 52(8):26–58
- 7 McDonnell G, Russell AD. Antisépticos y desinfectantes: actividad, acción y resistencia. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12(1):147–179. <https://doi.org/10.1128/CMR.12.1.147>
- 8 Kohanski MA, Dwyer DJ, Collins JJ. Cómo matan las bacterias los antibióticos: de los objetivos a las redes. *Nat Rev Microbiol* 2010; 8(6):423–435. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2333>
- 9 D'Arpa P, Leung KP. Señalización de los receptores Toll-like en la cicatrización de quemaduras y la formación de cicatrices. *Adv Wound Care* 2017; 6(10):330–343. <https://doi.org/10.1089/wound.2017.0733>
- 10 Rippon MG, Rogers AA, Ousey K. Estrategias de gestión de antimicrobianos en el cuidado de heridas: evidencia que respalda el uso de apósitos recubiertos con cloruro de dialquilcarbamoilo (DACC). *J Wound Care* 2021; 30(4):284–296. <https://doi.org/10.12968/jowc.2021.30.4.284>
- 11 Ljungh A, Yanagisawa N, Wadström T. Uso del principio de interacción hidrofóbica para unir y eliminar las bacterias de las heridas. *J Wound Care* 2006; 15(4):175–180. <https://doi.org/10.12968/jowc.2006.15.4.26901>
- 12 Totty JP, Bua N, Smith GE et al. Apósitos recubiertos con cloruro de dialquilcarbamoilo (DACC) en el tratamiento y la prevención de la infección de heridas: una revisión sistemática. *J Wound Care* 2017; 26(3):107–114. <https://doi.org/10.12968/jowc.2017.26.3.107>

- 13 Wiegand C, Abel M, Ruth P et al. Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana de los apósitos para heridas: influencia del método de ensayo seleccionado e impacto del pH. *J Mater Sci Mater Med* 2015; 26(1):18. <https://doi.org/10.1007/s10856-014-5343-9>
- 14 Klančnik A, Piskernik S, Jeršek B, Možina SS. Evaluación de métodos de difusión y dilución para determinar la actividad antibacteriana de extractos vegetales. *J Microbiol Methods* 2010; 81(2):121–126. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2010.02.004>
- 15 Sociedad Americana de Microbiología. Protocolo de la prueba de sensibilidad por difusión en disco de Kirby-Bauer. 2009. <https://tinyurl.com/2bthp6x2> (consultado el 15 de junio de 2022)
- 16 Wiegand C, Abel M, Ruth P, Hipler UC. Los apósitos para heridas que contienen polímeros superabsorbentes tienen un efecto beneficioso en la cicatrización de las heridas al reducir la concentración de elastasa de los PMN e inhibir el crecimiento microbiano. *J Mater Sci Mater Med* 2011; 22(11):2583–2590. <https://doi.org/10.1007/s10856-011-4423-3>
- 17 Wiegand C, Heinze T, Hipler UC. Estudio comparativo in vitro sobre la citotoxicidad, la actividad antimicrobiana y la capacidad de unión de factores fisiopatológicos en heridas crónicas del alginato y el alginato que contiene plata. *Wound Repair Regen* 2009; 17(4):511–521. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2009.00503.x>
- 18 Totty JP, Hitchman LH, Cai PL et al. Ensayo clínico aleatorizado piloto de viabilidad que compara los apósitos recubiertos de cloruro de dialquilcarbamoilo con la atención estándar para la prevención primaria de la infección del sitio quirúrgico. *Int Wound J* 2019; 16(4):883–890. <https://doi.org/10.1111/iwj.13113>
- 19 Bua N, Smith GE, Totty JP et al. Apósitos con cloruro de dialquilcarbamoilo en la prevención de infecciones del sitio quirúrgico tras cirugía vascular sin implantes. *Ann Vasc Surg* 2017; 44:387–392. <https://doi.org/10.1016/j.avsg.2017.03.198>
- 20 Ciliberti M, De Lara F, Serra G et al. El efecto de un apósito de malla que retiene bacterias y hongos sobre la carga bacteriana de las úlceras por presión tratadas con terapia de presión negativa: un estudio piloto. *Wounds* 2016; 28(11):408–420
- 21 Stanirowski PJ, Bizoń M, Cendrowski K, Sawicki W. que evalúa los apósitos impregnados con cloruro de dialquilcarbamoilo

- para la prevención de infecciones del sitio quirúrgico en mujeres adultas sometidas a cesárea. *Surg Infect (Larchmt)* 2016; 17(4):427–435. <https://doi.org/10.1089/sur.2015.223>
- 22** Stanirowski PJ, Kociszewska A, Cendrowski K, Sawicki W. Apósito impregnado con cloruro de dialquilcarbamoilo para la prevención de la infección del sitio quirúrgico en mujeres sometidas a cesárea: un estudio piloto. *Arch Med Sci* 2016; 5(5):1036–1042. <https://doi.org/10.5114/aoms.2015.47654>
- 23** Grothier L, Stephenson J. Una auditoría para determinar la eficacia clínica de un protocolo para el tratamiento de la infección de heridas. *Wounds UK* 2015; 11(2):32–40
- 24** Gentili V, Giancesini S, Balboni PG et al. PCR panbacteriana en tiempo real para evaluar la carga bacteriana en heridas crónicas tratadas con Cutimed Sorbact. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; 31(7):1523–1529. <https://doi.org/10.1007/s10096-011-1473-x>
- 25** Kammerlander G, Locher E, Suess-Burghart A et al. Estudio de Cutimed Sorbact como alternativa antimicrobiana en el tratamiento de heridas. *Wounds UK* 2008; 4(2):10–18
- 26** Friman G. Un nuevo apósito hidrofobizado (Sorbact 105) para el tratamiento de heridas infectadas. *Curr Therap Res* 1987;42:88–93
- 27** Rönner AC, Curtin J, Karami N, Rönner U. Adhesión del *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina a apósitos recubiertos de DACC. *J Wound Care* 2014; 23(10):484–488. <https://doi.org/10.12968/jowc.2014.23.10.484>
- 28** Burd A, Kwok CH, Hung SC et al. Estudio comparativo de la citotoxicidad de los apósitos a base de plata en modelos de células monocapa, explantes de tejido y animales. *Wound Repair Regen* 2007; 15(1):94–104. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2006.00190.x>
- 29** Warriner R, Burrell R. Infección y la herida crónica: enfoque en la plata. *Adv Skin Wound Care* 2005; 18(Suplemento 1):2–12. <https://doi.org/10.1097/00129334-200510001-00001>
- 30** Silver S. Resistencia bacteriana a la plata: biología molecular y usos y abusos de los compuestos de plata. *FEMS Microbiol Rev* 2003; 27(2-3):341–353. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(03\)00047-0](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00047-0)
- 31** Wiegand C, Abel M, Ruth P, Hipler UC. Análisis de la capacidad de adaptación del *Staphylococcus aureus* a los antisépticos de uso común mediante nefelometría láser en microplacas. *Skin Pharmacol Physiol* 2012; 25(6):288–297. <https://doi.org/10.1159/000341222>
- 32** Larkó E, Persson A, Blom K. Efecto de los apósitos superabsorbentes en un modelo de tejido acelular 3D de biopelícula de *Pseudomonas aeruginosa*. *J Wound Care* 2015; 24(5):204–210. <https://doi.org/10.12968/jowc.2015.24.5.204>
- 33** Kitagawa H, Izutani N, Kitagawa R et al. Evolución de la resistencia a los biocidas catiónicos en *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*. *J Dent* 2016; 47:18–22. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2016.02.008>
- 34** Khalil MA, Ibrahim Sonbol F, Mohamed AF, Ali SS. Estudio comparativo de los factores de virulencia entre cepas clínicas de *Pseudomonas aeruginosa* productoras y no productoras de ESBL. *Turk J Med Sci* 2015; 45(1):60–69. <https://doi.org/10.3906/sag-1311-102>
- 35** Onyango AO, Kenya EU, Mbithi JJ, Ng'ayo MO. *Escherichia coli* patógena y manipuladores de alimentos en hoteles de lujo de Nairobi, Kenia. *Travel Med Infect Dis* 2009; 7(6):359–366. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2009.07.005>
- 36** Dasu MR, Rivkah Isseroff R. Receptores Toll-like en la cicatrización de heridas: ubicación, accesibilidad y momento. *J Invest Dermatol* 2012; 132(8):1955–1958. <https://doi.org/10.1038/jid.2012.208>
- 37** Strömdahl AC, Ignatowicz L, Petruk G et al. El material de poliuretano recubierto de péptidos reduce la infección y la inflamación de las heridas. *Acta Biomater* 2021; 128:314–331. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.04.045>
- 38** Cooper R, Jenkins L. Adhesión de dos biopelículas bacterianas a apósitos recubiertos de cloruro de dialquilcarbamoilo (DACC) in vitro. *J Wound Care* 2016; 25(2):76–82. <https://doi.org/10.12968/jowc.2016.25.2.76>
- 39** Sjollem J, van der Mei HC, Hall CL et al. El desprendimiento y la sucesiva readhesión de múltiples uniones reversibles dan lugar a una adhesión bacteriana irreversible a las superficies. *Sci Rep* 2017; 7(1):4369. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04703-8>
- 40** Iizaka S, Sanada H, Minematsu T et al. ¿Reflejan los marcadores nutricionales en el líquido de la herida el estado de las úlceras por presión? *Wound Repair Regen* 2010; 18(1):31–37. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2009.00564.x>
- 41** Schmidtchen A. Úlceras crónicas: un método para el muestreo y análisis del líquido de la herida. *Acta Derm Venereol* 1999; 79(4):291–295. <https://doi.org/10.1080/000155599750010698>
- 42** Trengove NJ, Langton SR, Stacey MC. Análisis bioquímico del líquido de la herida en úlceras crónicas de la pierna que no cicatrizan y en las que sí cicatrizan. *Wound Repair Regen* 1996; 4(2):234–239. <https://doi.org/10.1046/j.1524-475X.1996.40211.x>
- 43** Moseley R, Hilton JR, Waddington RJ et al. Comparación de los perfiles de biomarcadores de estrés oxidativo entre entornos de heridas agudas y crónicas. *Wound Repair Regen* 2004; 12(4):419–429. <https://doi.org/10.1111/j.1067-1927.2004.12406.x>
- 44** Broszczak D, Stupar D, Compay AL et al. Perfil bioquímico de proteínas y metabolitos en el exudado de heridas crónicas. *Wound Prac Res* 2012; 22(2):62–72
- 45** Braunwarth H, Brill FH, Brill H. Resultados de ensayos in vitro de apósitos con liberación sostenida de polihexanida (PHMB) e iones de plata a diferentes valores de pH. *Wund Manage* 2011; 3:119–125
- 46** Wiegand C, Abel M, Ruth P et al. Influencia del pH en la eficacia antibacteriana de sustancias antisépticas comunes. *Skin Pharmacol Physiol* 2015; 28(3):147–158. <https://doi.org/10.1159/000367632>
- 47** Eberlein T. [Determinación del pH en heridas crónicas y relevancia clínica] [En alemán]. Presentado en la conferencia de la Deutsche Gesellschaft Für Wundheilung und Wundbehandlung (DGfW; en alemán: Asociación Alemana para las Heridas y la Cicatrización), Friburgo, Alemania, 17-19 de junio de 2010
- 48** Dissemund J, Witthoff M, Brauns TC et al. [pH del medio de las heridas crónicas] [En alemán]. *Hautarzt* 2003; 54(10):959-965. <https://doi.org/10.1007/s00105-003-0554-x>



