

Estrategias para el manejo de heridas crónicas complicadas con biopelícula de bacterias multirresistentes en equinos: revisión bibliográfica, diagnóstico y protocolo de tratamiento

Strategies for the management of chronic wounds complicated by multi-resistant bacterium biofilm in equines: bibliographic review, diagnosis and treatment protocol





Estratégias para o manejo de feridas crônicas complicadas com biofilme de bactérias multirresistentes em equinos: revisão bibliográfica, diagnóstico e protocolo de tratamento

Juan M. Estrada-McDermott¹✉, Yayo Vicente-Salazar², José Vargas-Arrieta³, Adriana Alpízar-Boza⁴, Randall Rubí-Chacón⁵, Edgar Alfaro-Umaña⁶, Tiffany Estrada-Pull⁷, Ernesto Rojas-Sánchez⁸, Rafael Vindas-Bolaños⁹, Elías Barquero-Calvo¹⁰, Lohendy Muñoz-Vargas¹¹, Manuel Estrada-Umaña¹²

- 1 Ministerio de Agricultura y Ganadería, Servicio Nacional de Salud Animal (SENASA), Lagunilla de Ulloa, Heredia, Costa Rica. Correo electrónico: juan.estrada.mcdermott21@alumni.colostate.edu  <https://orcid.org/0000-0002-2140-451X>
- 2 Epidemiólogo, Santa María de Dota, San José, Costa Rica. Correo electrónico: yvicente@gmail.com  <https://orcid.org/0009-0001-6593-5750>
- 3 Universidad Nacional, Escuela de Medicina Veterinaria, Hospital Equino, Lagunilla de Ulloa, Heredia, Costa Rica. Correo electrónico: jose.vargas.arrieta@una.cr  <https://orcid.org/0009-0003-5139-0010>
- 4 Universidad Nacional, Escuela de Medicina Veterinaria, Programa de Investigación en Enfermedades Tropicales, Laboratorio de Salud Pública y Alimentos, Lagunilla de Ulloa, Heredia, Costa Rica. Correo electrónico: adriana.alpizar.boza@gmail.com  <https://orcid.org/0009-0002-7661-1900>
- 5 Universidad Nacional, Escuela de Medicina Veterinaria, Laboratorio de Micología, Lagunilla de Ulloa, Heredia, Costa Rica. Correo electrónico: randall.rubi.chacon@una.cr  <https://orcid.org/0000-0002-6615-6062>
- 6 Universidad Nacional, Escuela de Medicina Veterinaria, Lagunilla de Ulloa, Heredia, Costa Rica. Correo electrónico: edgar.alfaro.umana@est.una.ac.cr  <https://orcid.org/0009-0006-2924-7914>
- 7 Universidad Nacional, Escuela de Medicina Veterinaria, Lagunilla de Ulloa, Heredia, Costa Rica. Correo electrónico: tiffany.estrada.pull@est.una.ac.cr  <https://orcid.org/0009-0000-9160-3760>
- 8 Universidad Nacional, Escuela de Medicina Veterinaria, Programa de Investigación en Enfermedades Tropicales, Laboratorio de Salud Pública y Alimentos, Lagunilla de Ulloa, Heredia, Costa Rica. Correo electrónico: ernesto.rojas.sanchez@una.ac.cr  <https://orcid.org/0000-0003-2380-0281>

✉ Autor de correspondencia: juan.estrada.mcdermott21@alumni.colostate.edu



- 9 Universidad Nacional, Escuela de Medicina Veterinaria, Hospital Equino, Lagunilla de Ulloa, Heredia, Costa Rica. Correo electrónico: rafael.vindas.bolaños@una.cr  <https://orcid.org/0009-0001-9432-0368>
- 10 Universidad Nacional, Escuela de Medicina Veterinaria, Programa de Investigación en Enfermedades Tropicales, Laboratorio de Bacteriología, Lagunilla de Ulloa, Heredia, Costa Rica. Correo electrónico: elias.barquero.calvo@una.cr  <https://orcid.org/0000-0003-4428-3340>
- 11 Universidad Nacional, Escuela de Medicina Veterinaria, Programa de Investigación en Enfermedades Tropicales, Laboratorio de Salud Pública y Alimentos, Lagunilla de Ulloa, Heredia, Costa Rica. Correo electrónico: lohendy.munoz.vargas@una.cr  <https://orcid.org/0000-0001-5129-4879>
- 12 Universidad Nacional, Escuela de Medicina Veterinaria, Hospital Equino, Lagunilla de Ulloa, Heredia, Costa Rica. Correo electrónico: juan.estrada.umana@una.cr  <https://orcid.org/0009-0007-0621-640X>

Recibido: 1 mayo 2023

Corregido: 5 enero 2024

Aceptado: 15 febrero 2024

Resumen

El propósito de este artículo es discutir algunos hechos relevantes hallados en varios casos clínicos de resistencia antibiótica tratados en equinos con la meta de hacer conciencia sobre el problema, revisar la literatura especializada en el tema y proponer alternativas terapéuticas diferentes al uso de los antibióticos disponibles. El tracto fistuloso ejemplifica una herida crónica y se manifiesta como un túnel subcutáneo con egreso a piel que permite la salida de secreción contaminada. Cuando el tracto está infectado con bacterias multirresistentes y presencia de biopelícula entonces el tratamiento médico es bastante más complicado, prolongado en el tiempo y caro debido al costo de procedimientos diagnósticos, manejo veterinario, medicamentos e internamiento hospitalario ocupado en muchos casos, además de que generalmente no se puede efectuar el uso zootécnico esperado para el animal hasta que el mismo sane y su precio se devalúa por la lesión. El rol de las biopelículas bacterianas en heridas con infección crónica es abordado y en vista de la dificultad para identificarlas, se aconseja buscar los signos clínicos específicos sugerentes del problema y aplicar el “Algoritmo Diagnóstico de Percival” para la detección de biopelícula. El tratamiento debería basarse en desbridamiento repetido y aplicación de terapia antimicrobiana tópica, sin recetar antibióticos sistémicos a menos que existan signos de infección generalizada. Se discuten un protocolo de tratamiento para mejorar el manejo de la lesión y la utilización de sustancias antisépticas alternativas a los antibióticos convencionales actuales, además de aplicación de conceptos de UNA SALUD para lidiar con el problema.

Palabras Clave: Heridas crónicas, multirresistencia, biopelícula, antimicrobianos alternativos, equinos

Abstract

The purpose of this article is to discuss some relevant facts found in several clinical cases of antibiotic resistance in equines to raise awareness about the problematic, make a literature review on the topic and propose therapeutical alternatives different to the use antibiotics currently available. The fistulous tract exemplifies a chronic wound that presents itself as a subcutaneous tunnel exiting through the skin with presence of contaminated secretion. When the tract is infected with multi-resistant bacteria and there is biofilm presence, the medical treatment is, therefore, a lot more complicated, prolonged in time and expensive due to the cost of diagnostic procedures, veterinary management, medicines, and hospital boarding, which is often required. In addition, normally, the expected zootechnical use of the animal cannot be carried out until it heals, and its price is devalued due to the injury. The role of bacterial biofilms in chronic infected wounds is addressed and due to the difficulty in identifying them, it is advisable to look for specific clinical signs suggestive of the problem and apply the “Percival’s Diagnostic Algorithm” for the detection of biofilm. Treatment should be based on repeated debridement and the application of topical antimicrobial therapy without prescribing systemic antibiotics unless there are signs of generalized infection. A treatment protocol to improve the



management of the injury and the use of alternative antiseptic substances to current conventional antibiotics are discussed, as well as the application of “ONE HEALTH” concepts to deal with such problem.

Keywords: chronic wounds, multi-resistance, biofilm, alternative antimicrobials, equines

Resumo

O propósito deste artigo é discutir alguns fatos relevantes encontrados em vários casos clínicos de resistência antibiótica tratados em equinos com o objetivo de conscientizar sobre o problema, revisar a literatura especializada no tema e propor alternativas terapêuticas diferentes ao uso dos antibióticos disponíveis. O trato fistuloso exemplifica uma ferida crônica e se manifesta como um túnel subcutâneo com abertura para a pele que permite a saída de secreção contaminada. Quando o trato está infectado com bactérias multirresistentes e apresenta biofilme, o tratamento médico torna-se significativamente mais complexo, prolongado e oneroso. Isso se deve aos custos associados aos procedimentos diagnósticos, ao manejo veterinário, aos medicamentos e ao internamento hospitalar. Além disso, o uso zootécnico esperado do animal geralmente não pode ser realizado até sua completa recuperação. Adicionalmente, o valor do animal tende a depreciar devido à lesão. O papel dos biofilmes bacterianos em feridas com infecção crônica é abordado e, diante da dificuldade para identificá-los, aconselha-se a procurar os sinais clínicos específicos sugestivos do problema e aplicar o “Algoritmo Diagnóstico de Percival” para a detecção de biofilme. O tratamento deveria basear-se em desbridamento repetido e na aplicação de terapia antimicrobiana tópica. Antibióticos sistêmicos não devem ser prescritos, a menos que existam sinais de infecção generalizada. Discute-se um protocolo de tratamento para melhorar o manejo da lesão e a utilização de substâncias antissépticas alternativas aos antibióticos convencionais atuais, além da aplicação de conceitos de “Uma Saúde” para lidar com o problema.

Palavras-chave: Feridas crônicas, multirresistência, biofilme, antimicrobianos alternativos, equinos.

1. Heridas Crónicas con Biopelícula: Revisión General

1.1. Introducción

Las heridas de piel están entre las condiciones más comunes tratadas por veterinarios y tienen un impacto financiero negativo en la industria equina. Un reporte de USDA/APHIS indica que entre 19 y 24% de las eutanasias de caballos en Estados Unidos fueron el resultado de lesiones de piel o trauma (Gillespie et al., 2017).

Para tratar adecuadamente una herida es necesario conocer la estructura y función de la piel (Stick & Prangue, 2019a; Stick & Prangue, 2019b; Theoret & Stashak, 2008). Según Fonder et al. (2008) las heridas crónicas son lesiones de piel que persisten por más de seis semanas, manifestando una alteración de un proceso normal de cicatrización, encontrándose el mismo detenido en la fase inflamatoria (Attinger & Wolcott, 2012). Esto ocurre debido a que contienen bacterias resistentes viviendo dentro de biopelículas (Flemming & Wuertz, 2019) y afectando millones de pacientes anualmente, por lo que reviste de gran importancia para la salud humana y animal (Tremblay et al., 2014).

La biopelícula compromete la cicatrización y sube los costos del tratamiento (Zoutman et al., 1998), agravándose con la resistencia antibiótica (RA) que es una pandemia silenciosa señalada como una de las mayores amenazas mundiales en salud pública (Barrantes et al., 2022; DISARM Act of 2021, 2021; Magiorakos et al., 2012; Ospina, 2021; Vanegas & Jiménez, 2020; Zumbado et al., 2022).



1.2. Manejo Inicial de la Herida

El manejo médico de la herida primaria (Eggleston, 2018; Knottenbelt, 2002) tiene como metas prevenir la infección y crear un ambiente óptimo para la reparación de la lesión, con restablecimiento de la integridad tisular, fuerza y función (Hanson, 2018), siendo necesario entender la patofisiología de la reparación lesional (Theoret, 2005), lo que incluye las anormalidades moleculares y celulares que impiden sanar a la herida.

Es fundamental conocer la importancia de la biopelícula en la cicatrización de la herida, tener opciones de tratamiento no antibiótico, seguir directrices de consenso (Schultz et al., 2017; Weigelt et al., 2021) y usar protocolos específicos contra esta patología (Bianchi et al., 2016; Kamaruzzaman et al., 2018; Kaur et al., 2021; Percival et al., 2019; Rajput et al., 2022).

El cierre por primera intención de la herida, usando técnicas asépticas en los minutos posteriores al accidente, ha sido descrito por diversos autores (Armstrong et al., 2020; Auer & Kummerle, 2019; Hanson, 2018; Hendrickson, 2019; Kamus & Theoret, 2018; Theoret & Schumacher, 2019) y se indican pautas de consenso al respecto existiendo publicaciones para el manejo de diferentes tipos de heridas complicadas, tales como lesiones a estructuras sinoviales (Joyce, 2007) heridas ubicadas en el cráneo (Hunt et al., 1991), tórax (Estrada-McDermott et al., 2016; Laverty et al., 1996), otros órganos (Hendrickson & Virgin, 2005) y en extremidades distales (Jann & Pasquini, 2005), además de heridas por armas de fuego (Munsterman & Reid, 2014; Vatistas et al., 1995).

El manejo inicial es importante para la prevención de la infección bacteriana postoperatoria (Engelke & Oldhafer, 2010). Mientras la mayoría de las heridas sanan rápidamente, otras no progresan a través del proceso de cicatrización normal, resultando en heridas crónicas costosas de tratar y que concluyen de forma considerable en morbilidad (Harries et al., 2016).

1.3. Infección Bacteriana en Heridas de Piel

Ocurre cuando las bacterias invaden tejido sano y se multiplican activamente, sobrepasando la respuesta inmune del huésped (Dow, 2001; Hendrickson, 2019). El retraso en la cicatrización es uno de los primeros signos clínicos de infección en una herida, lo que se traduce en dolor, molestias funcionales y calidad de la cicatriz (Scalise et al., 2015).

El uso de antimicrobianos no debiera reemplazar una meticulosa técnica quirúrgica mínimamente traumática y aséptica, lo que incluye un cuidadoso manejo tisular con aposición exacta, hemostasia, preservación de irrigación sanguínea, mínima tensión sobre el tejido, material de sutura apropiado y obliteración del “espacio muerto” (Brumbaugh, 2005).

Los factores de riesgo para una infección tisular incluyen contaminación, procedimientos superiores a 60 minutos, profundidades de anestesia que afectan perfusión / oxigenación tisular y presencia de implantes médicos, de acuerdo a Hanson (2018), autor que también menciona que las infecciones agudas y superficiales generalmente son causadas por un microorganismo dominante, mientras que las infecciones crónicas o en heridas profundas son a menudo polimicrobianas, siendo *Staphylococcus* sp. de las bacterias que más comúnmente se presenta en heridas subcutáneas, donde generan una respuesta inflamatoria crónica. Las infecciones traumáticas de estructuras sinoviales generalmente son provocadas por Enterobacterias Gram-negativas, además de *Streptococcus*



y *Staphylococcus*, siendo habitual la infección polimicrobiana (Hanson, 2018), para lo que es importante entender algunas particularidades de la estructura bacteriana (Silhavy et al., 2010).

Existe discusión sobre la prevención de infecciones postoperatorias (Brumbaugh, 2005; Engelke & Oldhafer, 2010) y las causas de infección de la herida quirúrgica (Alverdy et al., 2020; Brumbaugh, 2005). Más opciones descritas para el tratamiento lesional, incluyen el uso de presión negativa (Bischofberger, 2019; Cortell et al., 2019; Kim et al., 2020; Launois et al., 2021); fotobiomodulación con láser (Crespo et al., 2019; Fekrazad et al., 2016) y el potencial uso de Medicina Regenerativa en la reparación lesional (Barrientos et al., 2014; Horsley, 2022).

1.4. Resistencia Bacteriana a los Antibióticos

La resistencia a los antibióticos es la capacidad de una bacteria para sobrevivir en concentraciones de antibiótico que inhiben/matan a otras de la misma especie (Alós, 2015).

Las bacterias responden a estímulos evolutivos tales como presiones ambientales (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica [ANMAT], 2022; Alós, 2015; Sanidad Gobierno Español, 2022), que son causadas por antibióticos presentes en varios nichos ecológicos y factores diseminadores, complicándose por su uso desmedido en medicina humana, veterinaria e industria agropecuaria. También debe incluirse al ambiente como un reservorio para genes de resistencia y bacterias resistentes (Barrantes et al., 2022).

Se tiene una cantidad mucho mayor de microorganismos patógenos resistentes que agentes antimicrobianos disponibles y la desproporción entre ambos grupos aumenta cada vez que aparece una nueva cepa resistente. Para tener una idea de esta adaptación evolutiva, Treepong et al. (2018) mencionan que el clon ST235 de *Pseudomonas aeruginosa* apareció en Europa por 1984, coincidiendo con la introducción de fluoroquinolonas como tratamiento anti *Pseudomonas*, pero datos actuales sugieren que este clon existe en todo el mundo debido a la presión selectiva de las fluoroquinolonas y además gracias a que se hizo resistente a los aminoglicosídicos, β -lactámicos y carbapenémicos, a través de la mutación y porque poblaciones locales alcanzaron elementos de resistencia. De acuerdo con Bobrov et al. (2022), es urgente contar con nuevas terapias contra *P. aeruginosa*.

Para Magiorakos et al. (2012) también otros patógenos bacterianos evolucionaron a resistencia y multiresistencia, concordando con el uso masivo de antibióticos en los últimos 70 años, tal como ocurre con el número actual de beta-lactamasas TEM (187 descritas a la fecha) pues antes de introducirse las cefalosporinas de tercera generación en 1982, solo se conocían TEM-1 y TEM-2 (Alós, 2015). Varios antibióticos perdieron su efectividad contra estafilococos coagulasa negativa (Coraça et al., 2021), generando un reto científico para crear nuevos antibióticos (Zumbado et al., 2022).

Con la aparición del COVID-19 se presenta un aumento en la resistencia antibiótica, relacionado al incremento del uso de antibióticos durante esta pandemia (Centers for Disease Control and Prevention [CDC], 2022; Tacconelli & Pezzani, 2019).

Los mecanismos de resistencia en biopelículas bacterianas son mencionados por Stewart (2002) y más adelante en el punto 1.7.

Varias entidades internacionales promueven el uso responsable de antibióticos, exclusivamente bajo control veterinario, entre ellos la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (Food and



Drug Administration [FDA], 2018), el Ministerio de Sanidad Gobierno Español (2022) y la Agencia Europea de Medicamentos (European Medicines Agency [EMA], 2022), que emite una directriz donde exige contar con prescripción veterinaria para comerciar antibióticos.

La literatura evidencia la inversión millonaria efectuada actualmente para detener estos enemigos bacterianos (AMR Action Fund, 2022; DISARM Act of 2021, 2021; PASTEUR Act of 2021, 2021), sobre todo contra bacterias categorizadas por el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (CDC, 2022) y la Organización Mundial de la Salud (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2016), quienes lo consideran como una prioridad global. La OMS publica la lista de bacterias para las que urgen nuevos antibióticos (OMS, 2017) elaborada por un grupo de expertos internacionales en conjunto con la Universidad de Tübingen en Alemania.

Cuadro 1.

Lista de la Organización Mundial de la Salud de Bacterias Patógenas prioritarias para I+D de nuevos antibióticos.

Prioridad 1: CRÍTICA

- *Acinetobacter baumannii*, resistente a los carbapenémicos
- *Pseudomonas aeruginosa*, resistente a los carbapenémicos
- Enterobacteriaceae, resistentes a los carbapenémicos, productoras de ESBL

Prioridad 2: ELEVADA

- *Enterococcus faecium*, resistente a la vancomicina
 - *Staphylococcus aureus*, resistente a la meticilina, con sensibilidad intermedia y resistencia a la vancomicina
- *Helicobacter pylori*, resistente a la claritromicina
- *Campylobacter* spp., resistente a las fluoroquinolonas
- *Salmonellae*, resistentes a las fluoroquinolonas
- *Neisseria gonorrhoeae*, resistente a la cefalosporina, resistente a las fluoroquinolonas

Prioridad 3: MEDIA

- *Streptococcus pneumoniae*, sin sensibilidad a la penicilina
 - *Haemophilus influenzae*, resistente a la ampicilina
 - *Shigella* spp., resistente a las fluoroquinolonas
-

Fuente: OMS (2017).



1.5. Heridas Crónicas

Las lesiones persistentes, según indica Kane (2001, p.7) son: “síntoma de enfermedades subyacentes que complican el potencial del paciente para sanar” y ante una herida crónica se indica hacer un examen clínico general, ya que estas lesiones actualmente son consideradas de gran importancia, dada su mayor incidencia, morbilidad y la inherente carga socioeconómica (Hendrickson, 2019). Su abordaje ha mejorado con prevención, diagnóstico y tratamiento, siendo los protocolos basados en evidencia los nuevos estándares de terapia (Falanga et al., 2022).

En la literatura hay revisiones sobre la prevalencia de biopelículas en heridas crónicas y estudios de meta-análisis de los datos publicados (Malone et al., 2017), siendo dichas lesiones caracterizadas por bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, con mayor presencia *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus viridans*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y *P. aeruginosa* (Khatoun et al., 2018).

Estudios realizados mediante microscopía electrónica, revelan que entre el 60-80% de heridas crónicas están pobladas con biopelículas bacterianas (James et al., 2008; Parrilli et al., 2022), comprometiendo la cicatrización normal y generando mayores costos (Percival et al., 2015; Westgate et al., 2011).

1.6. Tractos Fistulosos

Se trata de heridas crónicas, con frecuencia hallados en la práctica veterinaria, que se pueden describir como pasajes anormales refractarios a tratamiento, localizados entre un órgano y la piel, cuya causa deriva de una etiología traumática, cuerpos extraños, infección o cirugía, siendo citados por la literatura en varios casos con diferentes etiologías, localizaciones anatómicas y protocolos de terapia (Alverdy et al., 2020; Estrada-McDermott et al., 2016; Farr et al., 2010; Gift & DeBowes, 1989; Hendrickson & Virgin, 2005; Hendrix & Baxter, 2005; Jann & Pasquini, 2005; Laverty et al., 1996; Magee et al., 1997; Münzer & Lubczyk, 1995; Peloso et al., 1991; Rademacher et al., 2006; Schumacher, 2019; Uldahl & Clayton, 2019).

Los granulomas por cuerpo extraño (como las suturas) pueden generar tractos fistulosos con drenaje purulento (Cardona et al., 2016). En equinos ocurre la funiculitis séptica post-castración (cordón cirrótico), donde cicatriza la incisión escrotal, pero los restos del cordón aumentan de tamaño con tejido de granulación y mini-abscesos, los cuales descargan secreción (Schumacher, 2019). Frecuentemente, estos tractos están infectados por bacterias multirresistentes con biopelícula y producen secreción purulenta de cantidad variada que drena por una salida en piel (Hendrickson, 2019) llamada estoma o meato fistuloso, el cual puede eclosionar en variados lugares del paciente (como se muestra en las Figuras 1 y 2).

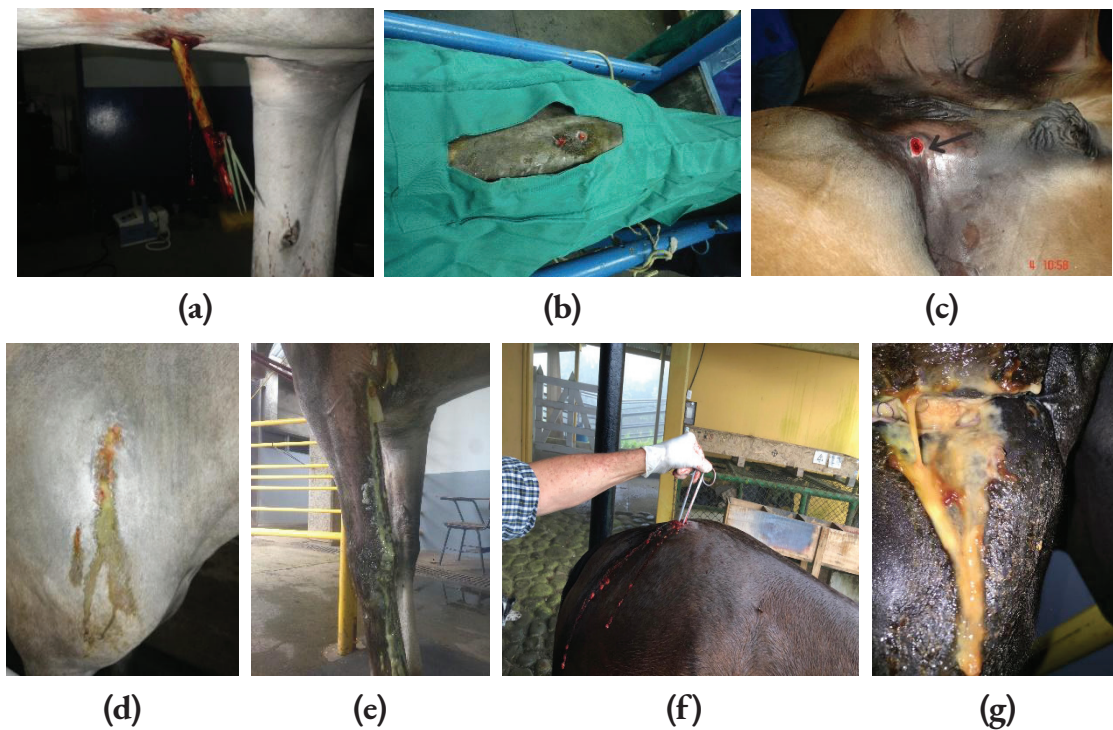


Figura 1. Galería mostrando fotografías con signos clínicos presentados por diferentes caballos atendidos en el Hospital Equino, Escuela de Medicina Veterinaria, UNA.

La figura 1 muestra: (a) Trauma por cuerpo extraño es causa frecuente de heridas infectadas en equinos. Aquí vemos una lesión subcutánea profunda originada por una estaca la cual libera restos de cuerpo extraño causando infección crónica y posterior tracto fistuloso, (b) y (c) son ejemplos del meato ubicado a la salida del tracto, en el primer caso por fractura de un proceso espinoso toracal infectado y en el segundo como secuela de funiculitis séptica post-castración - en ambos pacientes se limpió la secreción para efectos de fotografiar dicho estoma de salida, (d) a (g) muestran abundante secreción purulenta la cual es una característica de esta patología. En animales (d) y (e) se aisló *P. aeruginosa* multirresistente con pus de característico color verdoso.

La disección quirúrgica del estoma y el tracto fistuloso subyacente, muestran las paredes del ducto generalmente recubiertas por una membrana de tejido conectivo, con diferentes cantidades de secreción acumulada (se limpió para efectos de visualizar estoma) y material color café de aspecto gelatinoso al fondo del tracto (Fig. 2), tal y como lo reporta Dalton et al. (2011).



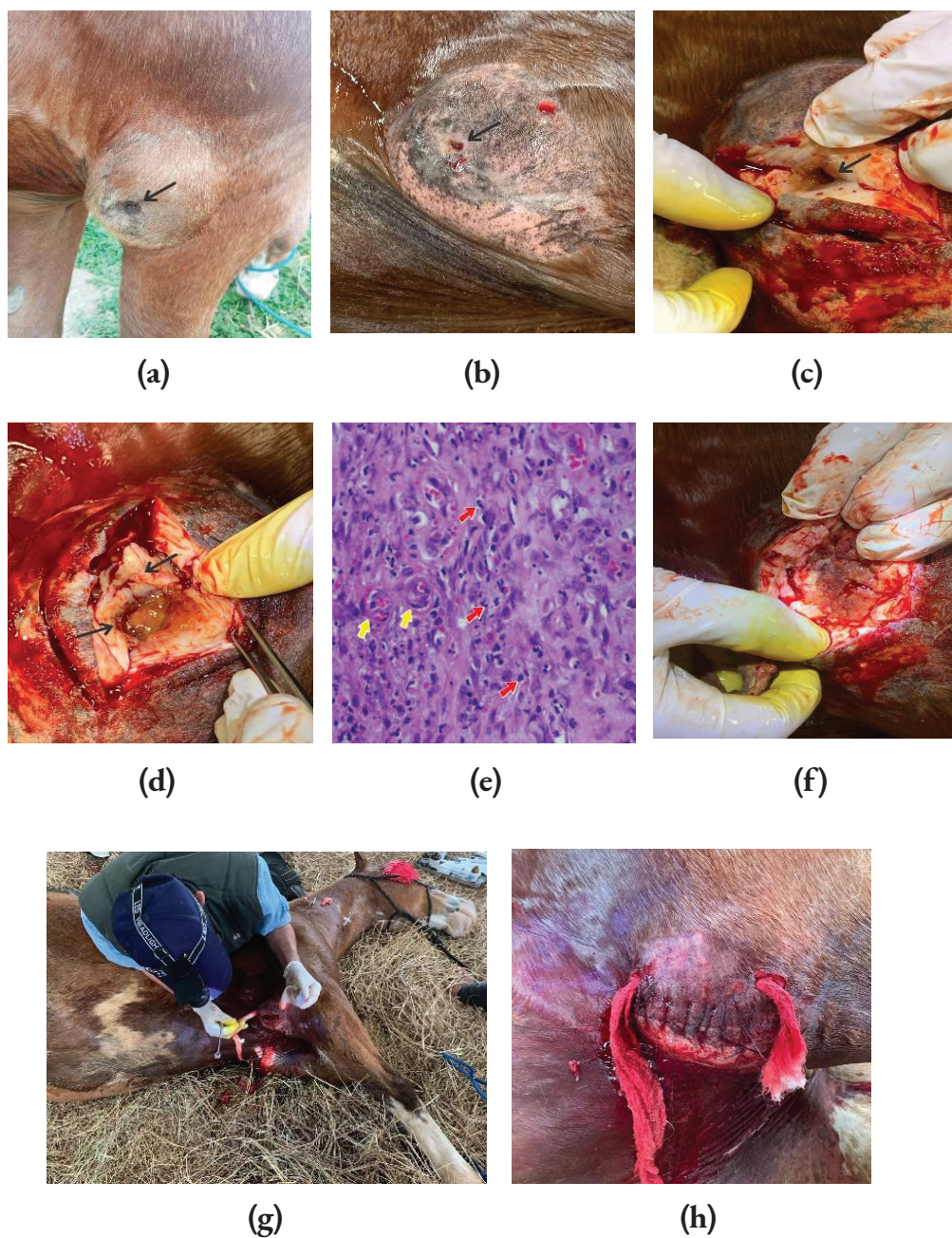


Figura 2. Galería de fotografías en paciente equino infectado con *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*.



La Figura 2 muestra: a) Vista externa del meato (señalado por flecha). Secreción se limpió para visualizar el estoma, b) Lesión depilada y limpia para mostrar la salida del ducto, c) Disección quirúrgica del tracto, d) Pared del tracto conformado por estructura membranosa de tejido conectivo con material de aspecto gelatinoso color café al fondo de la herida, e) La histopatología (Exp. B1107-22, Dpto. Patología, EMV/UNA) de esa membrana reporta una “proliferación de tejido conectivo reactivo con angiogénesis, asociada con un infiltrado inflamatorio (macrófagos, neutrófilos degenerados y linfocitos) que tiene una distribución multifocal con hemorragias y tractos fistulosos señalado con las flechas. Tejido de granulación con inflamación piogranulomatosa crónica de etiología bacteriana” (tinción H&E, 40x), f) Misma lesión después del desbridamiento quirúrgico y curetaje respectivo restaurando una base viable de la herida, g) y h) Muestran la cirugía en campo bajo anestesia intravenosa (i.v.) (en inglés: total intravenous anesthesia [TIVA]) para hacer los procedimientos anteriores y técnica correcta para empacar la cavidad usando una mecha de gasa impregnada con polihexametileno biguanida o polihexanida (PHMB), la cual sirve en este paciente también como drenaje a la cavidad.

Para tratar los tractos fistulosos, primero se debe identificar su recorrido (Inceoglu & Gencosmanoglu, 2003) siendo el paso de una sonda o instrumento, manipulado de externo a interno dentro del ducto la técnica más confiable para valorar su curso, pudiendo complementarse este diagnóstico con el uso de imágenes médicas como rayos X (Butler et al., 2017), fistulografía con medio contraste (Estrada-McDermott & Estrada-Umaña, 2020) y ultrasonido (Cartee & Rumph, 1984, Münzer & Lubczyk, 1992).

1.7. Biopelícula

La biopelícula es la forma de vida más antigua, exitosa y distribuida ampliamente en el planeta Tierra (Westall et al., 2001), con una excelente estrategia de adaptación a condiciones extremas (Parilli et al., 2022) e incluso estas estructuras pueden ser 1000 veces más resistentes a los agentes antimicrobianos que los organismos de vida libre (Wei et al., 2019).

Las biopelículas se definen como comunidades de microorganismos que se adhieren, se adaptan a las superficies (Tolker-Nielsen, 2015), y crecen incrustados en una matriz autoproducida de sustancias poliméricas extracelulares (Flemming & Wingender, 2010). Es discutido el rol de las biopelículas en el microambiente y la microbiología de las heridas en piel (Scalise et al., 2015), así como la forma de explicar la patogénesis de la biopelícula (Wu et al., 2019). Se menciona el impacto de las biopelículas microbianas en áreas médicas (Ortega-Peña et al., 2018). Menciona Westgate et al. (2011) que, específicamente en heridas equinas, se reportan biopelículas bacterianas.

Es importante recordar que las bacterias presentan dos formas de vida: 1) Células independientes (planctónicas) productoras de infecciones agudas generalmente tratables con antibióticos y 2) Agregados sésiles o fenotipo de crecimiento con biopelículas que producen lesiones crónicas resistentes a terapia (Bjarnsholt, 2013; Bjarnsholt et al., 2013; Dawgul et al., 2014), considerando además la importancia de las biopelículas fúngicas (Short et al., 2023).

Por otro lado, también se describe el rol del tejido muerto y de la biopelícula retrasando la cicatrización de lesiones crónicas (Newton et al., 2017; Zhao et al., 2012), lo que aumenta el interés científico en la formación de la biopelícula y su correcto abordaje médico (Jones, 2012; Newton et al., 2017). Algunos autores opinan que la investigación sobre biopelículas está limitada por la falta de modelos estandarizados que reproduzcan el microambiente de la herida (Weigelt et al., 2021), aunque otros, como Diban et al. (2023), recomiendan el uso del modelo *in vitro* de Lubbock para biopelículas de heridas crónicas. Se reporta un modelo *ex vivo* de piel para la evaluación de biopelículas bacterianas maduras (Yang et al., 2013).



Se menciona (Khatoon et al., 2018) que bacterias Gram-positivas y Gram-negativas pueden formar biopelícula, pero las más comunes probablemente son *E. faecalis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. viridans*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* y *P. aeruginosa*. Manifiesta Banerjee et al (2015) que la biopelícula de *P. aeruginosa* se encuentra comúnmente en heridas crónicas.

Una biopelícula se forma por un agregado de microorganismos que se asocia con superficies bióticas o abióticas (Asma et al., 2022; Das Ghatak et al., 2018; Percival et al., 2015; Scalise et al., 2015; Vert et al., 2012) y su formación depende, en parte, de una forma de comunicación interbacteriana conocida en idioma Inglés como “Quorum Sensing” (QS), en la cual, pequeñas moléculas difusibles llamadas “autoinductores” regulan la expresión genética y permiten que las poblaciones bacterianas pasen de forma planctónica a biopelícula, funcionando como una entidad multicelular (Cos et al., 2010; Donné & Dewilde, 2015; Parsek & Greenberg, 2005; Stewart, 2002). El agregado se mantiene agrupado por una sustancia polimérica extracelular (SPE) viscosa, segregada por las bacterias y formada por polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos y lípidos que estabilizan mecánicamente la biopelícula, facilitando su adherencia a superficies y formando una red 3D que transitoriamente interconecta, inmoviliza y protege las bacterias dentro de la biopelícula, sirviendo como barrera defensiva contra antimicrobianos y anticuerpos (Flemming et al., 2016; Flemming & Wuertz, 2019; James et al., 2008; Singh et al., 2010; Tremblay et al., 2014). Diferentes abordajes terapéuticos contra las biopelículas son mencionados (Asma et al., 2022; Jørgensen et al., 2021; Rybtke et al., 2015; Saeed et al., 2019; Tolker-Nielsen, 2014).

2. Diagnóstico de Herida Crónica y Biopelícula

2.1. Detección de la Biopelícula

Además de la valoración médica del tracto fistuloso antes descrita (ver punto 1.6), ciertos indicadores clínicos permiten sospechar la presencia de la biopelícula (Harries et al., 2016; Keast et al., 2014). Se puede encontrar consenso sobre pautas para la identificación de la biopelícula en heridas crónicas (Høiby et al., 2015; Schultz et al., 2017).

El diagnóstico en estas lesiones se debe iniciar basado en anamnesis y signos clínicos, pues las infecciones presentes por más de un mes, sin respuesta a la antibioterapia, con retardo en cicatrización, con tejido de granulación débil y sin epitelización, con aparición de un material gelatinoso en el fondo de la herida, el cual surge nuevamente, aunque se limpie y presencia de secreción purulenta (ver Fig. 2), son sugestivos de biopelícula (Dalton et al., 2011). El siguiente paso es continuar con el cultivo bacteriano de la secreción y respectivo PSA. Soriano-García (2010) refiere que: “el conocimiento de los parámetros farmacocinéticos de cada antimicrobiano permite aproximaciones farmacodinámicas predictivas del éxito o fracaso del antibiótico ante una determinada infección y conocer esta susceptibilidad es importante en casos de bacteriemia o septicemia cuando se requiere usar antibiótico sistémico”.

Las biopelículas son difíciles de identificar con técnicas diagnósticas de rutina (Harries et al., 2016; Jørgensen et al., 2021; Weigelt et al., 2020), aún si se utilizan agentes reveladores para biopelículas (como son: fucsina o fluoresceína), existe una gran posibilidad que las mismas no se observen en la biopsia, dando un resultado falso negativo (Høiby et al., 2015). Esto ocurre debido a que la biopelícula crece sobre la superficie biológica en “parches no confluentes” lo que hace probable que no venga en la muestra tomada con la biopsia, por lo



que la detección de la biopelícula dentro de heridas necesita el uso de técnicas avanzadas que todavía no están disponibles dentro de un diagnóstico rutinario, tales como el microscopio electrónico (Iliescu et al., 2019).

En ese contexto, se propone un “Algoritmo Diagnóstico para Detección de la Biopelícula”, el cual no requiere toma de biopsia y determina la presencia de biopelícula en una herida, permitiendo al clínico enfocarse en la estrategia del manejo inmediato (Percival et al., 2015). El desarrollo de técnicas no invasivas para cuantificar biopelículas aumentará la facilidad para su investigación y terapia en heridas (Weigelt et al., 2021).

Recientes investigaciones reportan dos pruebas que detectan inflamación crónica, conocidas en idioma inglés como “Elevated neutrophil derived Protease Activity” (EPA) y otra basada en la patogénesis bacterial denominada “Bacterial protease activity” (BPA) (Armstrong et al., 2020; Serena et al., 2021; Serena et al., 2022). Comenta Armstrong et al. (2020) que un panel de expertos consensuó que el clínico debe investigar BPA primero, debido al riesgo de infección invasiva producto de las bacterias patógenas presentes y, si el resultado es negativo, se recomienda entonces medir EPA.

Rajput et al (2022) reportan una plataforma para predecir inhibidores de biopelícula. Diferentes opciones diagnósticas en sensores para biopelícula y nuevos materiales que ofrecen mejor detección, especificidad química y biocompatibilidad, actualmente se encuentran disponibles (Darvishi et al., 2022). También se citan en la literatura otros abordajes biotecnológicos innovadores tales como análisis del exudado o análisis transcriptómicos (Wu et al., 2019).

3. Tratamiento de Herida Crónica y Biopelícula

3.1. Nuevas Estrategias de Manejo Terapéutico

Debido al desarrollo de la resistencia antibiótica, se sugieren algunos novedosos y diversos protocolos terapéuticos, que incluyen el uso de surfactantes y agentes activos antisépticos sin resistencia reportada (Babalska et al., 2021; Bianchi et al., 2016; Falanga et al., 2022; Hanson, 2018; Kamaruzzaman et al., 2018; Kaur et al., 2021; Kramer et al., 2018; Malone et al., 2017; Sionov & Steinberg, 2022), así como técnicas para dispersión de la biopelícula (Rumbaugh & Sauer, 2020).

Es importante mencionar que la biopelícula resiste terapia desde 48-96 horas después de desarrollada, pero se dispersa atacándola repetidamente con un esquema regular de tratamiento (Baker et al., 2016), obligándola a reformarse y reagruparse, tiempo durante el cual es susceptible a los antibacterianos y defensas del huésped (Attinger & Wolcott, 2012). Ante sospecha de biopelícula en cualquier herida, se ocupa un tratamiento agresivo con remoción física de la misma y del tejido no saludable adyacente, lo que se logra por desbridamiento más aplicación local de antimicrobianos para eliminar restos persistentes (Jørgensen et al., 2021). Para Nusbaum et al. (2012), los tratamientos deberían enfocarse hacia la disrupción de la biopelícula, prevenir su formación y reformación.

La dispersión de biopelícula con biosurfactantes es citada por Banat et al. (2014), aunque se reporta un posible efecto citotóxico (Rodríguez-López et al., 2020). Varios autores recomiendan terapia de presión negativa con instilación, para el tratamiento de heridas infectadas (Cortell et al., 2019; Launois et al., 2021), además, se discuten tecnologías con nuevos materiales para erradicar biopelículas, incluyendo “microburbujas” inducidas



por ultrasonido y nanomateriales, que penetran la biopelícula acarreado simultáneamente antimicrobianos activos (Darvishi et al., 2022).

La inhibición del QS tiene un efecto anti-biopelícula (Brackman & Coenye, 2015; Hernando et al., 2020; Jakobsen et al., 2013; Sionov & Steinberg, 2022). Soto (2013) describe el efecto de las bombas de flujo sobre la resistencia antimicrobiana en la biopelícula. Kaur et al. (2021) mencionan que la inhibición dual de QS y las bombas de flujo bacterianas, son un mecanismo contra la multiresistencia. Se diserta sobre dispersión de la biopelícula, diferenciando este activo y regulado proceso de otros procesos pasivos como desorción y desapego (Petrova & Sauer, 2016; Rumbaugh & Sauer, 2020). Wolcott et al. (2010) proponen manejar la herida crónica a partir del control de la biopelícula.

3.2. Manejo Terapéutico de la Herida

3.2.1. “WBP” & “TIME”.

El concepto de “preparación del lecho de la herida” (“Wound Bed Preparation” o WBP) es publicado por Schultz et al. (2003), sirviendo como guía estructurada para el manejo de la herida que evoluciona hasta un abordaje removedor de las barreras que impiden la curación natural de estas lesiones, aumentando los efectos positivos de las terapias usadas. Posteriormente se propone el acrónimo “TIME” (Schultz et al., 2004) que describe cuatro aspectos indispensables en la WBP y que son: “**T**issue Inflammation / infección”, “**M**oisture imbalance” y “**E**pithelial edge advancement”, que se traducen al español como tejido, inflamación/infección, desbalance de humedad y borde epitelial, los cuales deben abordarse para que la curación de la herida sea efectiva. Este acrónimo ha sido ampliamente aceptado en la práctica clínica para valorar y manejar heridas crónicas, según lo indica Harries et al. (2016) y debe ser aplicado cuanto antes pues la posibilidad del cierre lesional exitoso disminuye cuánto más tiempo transcurra desde el trauma inicial (Bosanquet & Harding, 2014).

El concepto TIME se aplica así: “**T**” implica valorar la herida por presencia de tejido desvitalizado, necrótico o esfacelado, cuerpos extraños, exudado o biopelícula. La intervención consiste en la limpieza y desbridamiento de la herida. La “**I**” se refiere a evaluar la etiología y tratamiento de la infección o de la inflamación no relacionada a dicha infección. La intervención incluye el uso de antimicrobianos tópicos y en algunos casos de antibióticos más antiinflamatorios sistémicos. La “**M**” implica la valoración y el manejo de los exudados producidos por la herida. Para terminar la “**E**” recuerda examinar el avance del epitelio y la condición de la piel circundante. Estos protocolos son un abordaje sistemático para evaluar la evolución de las heridas y todos sus componentes deben ser contemplados para mejorar las posibilidades de una curación exitosa (Harries et al., 2016), facilitando la aplicación de medidas terapéuticas posteriores (Ovens & Irving, 2018; Pilcher, 2016), lo que incluye el uso correcto de los apósitos (Stashak et al., 2004).

3.2.2. Limpieza de la Herida

El concepto se refiere a remover, de la lesión y piel contigua, todos los contaminantes presentes, incluyendo cuerpos extraños, detritos, tejido necrosado, microbios, biopelícula y restos de apósitos previos (Harries et al., 2016; Pilcher, 2016; Wolcott & Fletcher, 2014).



Se usan productos para limpieza de la herida (Mangkorntongsakul & Oarkley, 2019), los mismos se aplican antes o junto con agentes desbridantes para remover dichos contaminantes físico-químicos que impiden la cicatrización y generalmente sus mecanismos dependen del poder limpiador de surfactantes incorporados para remover los detritos (Das Ghatak et al., 2018).

El agua y la solución salina se utilizan como agentes limpiadores, pero no promueven la cicatrización de heridas crónicas mientras que el yodo y peróxido son considerados citotóxicos, especialmente para el nuevo epitelio.

El polihexametileno biguanida o polihexanida (PHMB) no presenta resistencia y usándolo combinado con el surfactante betaína, elimina microbios de la herida e impide la recontaminación (Collier & Hofer, 2017); esta combinación ofrece una limpieza de la herida muy efectiva (Ovens & Irving, 2018).

Para Anglen et al. (2003) la mayoría de los surfactantes (algunos incorporados a jabones líquidos antibacterianos comerciales), son empleados como soluciones limpiadoras y exfoliantes para las heridas. En opinión de Ousey y McIntosh (2010), la irrigación remueve contaminantes bacterianos de la herida y los surfactantes rompen las uniones entre bacterias y herida.

3.2.3 Surfactantes

También son llamados tensoactivos porque disminuyen la tensión superficial entre dos líquidos o entre un líquido y un sólido. Se denominan “anfifílicos” (hidrofilicos en un extremo e hidrofóbicos en el otro) y se adsorben en la interfase entre dos sustancias (como por ejemplo agua y aceite), decreciendo la tensión superficial (Vert et al., 2012). Emulsificante es un surfactante que estabiliza emulsiones, pues cubre gotas y partículas pequeñas impidiendo coalescencia de estas (Rebello et al., 2013). Detergente es un surfactante con propiedades limpiadoras en soluciones diluidas (Cassiday, 2021).

Aspectos fisiológicos de los surfactantes en microbiología y biotecnología son tratados por Van Hamme et al. (2006). Percival et al. (2017) habla sobre el rol de tensoactivos en el manejo de la biopelícula y Percival et al. (2019) se refiere al comportamiento celular.

La aplicación de surfactantes (ver Fig. 3d) para eliminar tejido necrótico, provee una alternativa que disminuye la cantidad de desbridamiento quirúrgico por realizar, lo cual se asocia con dolor, anestesia, altos costos y la necesidad de un cirujano entrenado para efectuar el procedimiento, por lo que usar surfactantes como exfoliantes y soluciones limpiadoras de heridas es una alternativa que ha sido propuesta (Das Ghatak et al., 2018).

Yang et al. (2017) observa que tanto surfactantes sintéticos como naturales previenen y remueven biopelículas. Marchant y Banat (2012) realiza una publicación en la que refiere que los “Biosurfactantes” son un reemplazo sustentable para los surfactantes químicos, pero la evidencia clínica favorece el uso de opciones sintéticas (poloxómeros y betaínas, entre otras), como una solución promisoría para tratar las heridas crónicas (Percival et al., 2018). Das Gathak et al. (2018) mencionan el potencial del Poloxomer como agente transportador para antimicrobianos.

Para Rumbaugh y Sauer (2020) debido a que el estado planctónico bacteriano es más vulnerable, se considera la dispersión una avenida promisoría para controlar biopelícula.

El uso de tensoactivos para irrigación de la herida (Gabriel, 2022) como “agentes anti-biopelícula”, ha ganado interés en sectores médicos debido a su potencial antimicrobiano pues dispersan la SPE de biopelículas recalcitrantes que previenen el cierre de la herida (Percival & Suleman, 2015; Singh et al., 2007; Van Hamme et al., 2006).



Algunos surfactantes orgánicos usados comercialmente en jabones líquidos son la Cocamidopropyl PG-Dimonium Chloride Phosphate en concentraciones de 0,5 hasta 5% o la Cocamidopropyl Betaine (Käser, 2016), ambos derivados del aceite de coco. El ácido etilendiaminotetracético (EDTA) penetra microbios aumentando la susceptibilidad a los antimicrobianos (Kite et al., 2004; Percival et al., 2014).

Yang et al. (2017) y Das Ghatak et al. (2018), manifiestan que los apósitos comerciales impregnados con surfactantes, como el Prontosan™ (PHMB + Betaína) de B. Braun Labs., tratan heridas crónicas con biopelícula. Además, se menciona sobre el uso de un apósito surfactante polimérico no-iónico (acrónimo inglés es “SPD” para “Surfactant Polymer Dressing”) con nombre comercial PluroGel® (Medline Industries Inc.). También se reporta un biosurfactante lipopeptídico llamado Viscosin® que dispersa efectivamente la biopelícula de *P. fluorescens* SBW25 (Bonnichsen et al., 2015).

El efecto citotóxico de algunos surfactantes es citado por Rodríguez-López et al. (2020), y Rebello et al. (2013) se refieren a su rol contaminando el medio ambiente.

3.2.4. Desbridamiento

Manifiesta Steed (2004) que este procedimiento es clave en el manejo de las heridas crónicas y, de acuerdo a la Real Academia Española (s.f., definición 2), desbridar significa “separar las bridas o filamentos que atraviesan una llaga y estorban la libre salida del pus”. El procedimiento consiste en remover de la herida el tejido muerto o infectado para mejorar la cicatrización (ver Figuras 2c, 2d, 3e y 3f).

En el caso de los tractos fistulosos primero se ubica anatómicamente la estructura (Figuras 3a a 3c). Posteriormente se remueve el tejido necrótico o desvitalizado, cuerpos extraños, biopelículas, células senescentes y enzimas inflamatorias que impiden la correcta cicatrización de la herida, restaurando una base viable en la lesión con una matriz extracelular funcional (ver Fig. 2f). Al remover la carga necrótica las heridas crónicas se convierten en agudas (Percival & Suleman, 2015), pues el tejido desvitalizado prolonga el estado inflamatorio y es reservorio para biopelícula (Newton et al., 2017).

La forma directa para efectuar el desbridamiento es la excisión quirúrgica (Wolcott et al., 2010), sin embargo, otras técnicas pueden ser utilizadas en pobres candidatos para cirugía o con acceso limitado a cirujanos calificados (Steed, 2004). Los tratamientos deben causar disrupción de la biopelícula además de prevenir su formación y reformación (Nusbaum et al., 2012), siendo clave el desbridamiento regular de las heridas crónicas para remover la biopelícula (Cowan, 2015; Grothier, 2015; Wolcott et al., 2010) y dispersarla en los exudados promoviendo la cicatrización normal (Newton et al., 2017). Estas bacterias podrían volver a adherirse formando nueva biopelícula, lo que refuerza la idea de aplicar surfactantes y antisépticos locales regularmente a la herida para reducir la carga microbiana (Babalska et al., 2021; Chindera et al., 2016; Dart et al., 2016; Hübner et al., 2010b), asegurando que las condiciones locales sean desfavorables para que la biopelícula se vuelva a formar.

Varios antisépticos tópicos pueden emplearse tales como apósitos que secuestran e inmovilizan microbios, enzimas y toxinas, incluyendo PHMB, cloruro de benzalconio, yodo, clorhexidina y bismuto (Serena et al., 2007; Wild et al., 2016) y plata, pero se reporta que existe insuficiente evidencia para recomendar el uso de plata en forma de apósitos o agentes tópicos para el tratamiento de heridas crónicas infectadas (Vermeulen et al., 2007).



Otros autores recomiendan combinar desbridamiento con identificación del microorganismo involucrado, permitiendo terapias específicas (antibióticos o biocidas) enfocadas en eliminar esa biopelícula particular y aumentar la efectividad del desbridamiento (Attinger & Wolcott, 2012).

Una herida puede desbridarse con procedimientos quirúrgicos, agentes autolíticos, enzimas, químicos, ultrasonido e irrigación con soluciones limpiadoras (Leaper, 2002). También se pueden utilizar métodos mecánicos como Prontosan Debridement PadTM de Labs. B. Braun, el cual es un apósito hecho con microfibras (1/100 de un cabello humano) que se adhieren al lecho de la herida, absorben exudado, atrapan células y tejido muerto sacando todos los detritos de la herida cuando es retirado el apósito, al cual se adhiere el material necrótico. Otro apósito monofilamento con similar función ha sido reportado por Schultz et al. (2018), siendo el uso de estas técnicas mecánicas menos riesgoso para el paciente y lecho de la herida.

El desbridamiento autolítico es mencionado por Atkin y Rippon (2016) como forma de remover el tejido desvitalizado. Biocirugía usando larvas estériles de la mosca *Lucilia sericata* se menciona para debridar y controlar la infección bacteriana en heridas crónicas, pues dichas larvas se alimentan solamente del tejido muerto y estimulan la cicatrización, mencionándose en la literatura diferentes protocolos para esta terapia (Bexfield et al., 2008; Daeschlein et al., 2017; Flores da Silva & Teixeira, 2013; King, 2020; Margolin & Gialanella, 2010; Sherman, 2014; Smith et al., 2008; Steenvoorde & Jukema, 2004; Whitaker et al., 2007), aunque no se encontró reporte de su aplicación en el tratamiento de tractos fistulosos.

3.2.5. Antiséptico

De acuerdo con Kramer et al. (2018), se trata de una “sustancia química aplicable tópicamente sobre algunos tejidos vivos (piel, mucosas, heridas) sin afectarlos, con el fin de reducir o eliminar la población de microorganismos”, siendo estos fármacos muy importantes para controlar bacterias multirresistentes.

Las heridas crónicas infectadas con biopelícula son un reto médico complicado y la aplicación de soluciones antisépticas contra dicha infección ha ganado interés entre los científicos (Krasowski et al., 2021), siendo estos medicamentos usados para lavado, limpieza y tratamiento de heridas. Percival et al. (2016) reportan la alta eficacia de los antisépticos contra las biopelículas y el efecto sobre el pH.

Un antiséptico debe tener amplia actividad antimicrobiana (virus, hongos y bacterias); poder ser usado por largos periodos y ser seguro; no causar reacciones alérgicas ni dolor; no ser tóxico, carcinogénico ni mutagénico; tener sabor, olor, color y consistencia apropiadas; no interferir con cicatrización y presentar actividad contra la biopelícula bacteriana (Babalska et al., 2021).

Los antisépticos más empleados por décadas han sido alcohol etílico, yodóforos y clorhexidina (McDonnell & Russell, 1999), pero el grupo médico llamado “Sociedad Polaca para Tratamiento de Heridas y Consenso Alemán sobre Antisepsia en Heridas”, citado por Babalska et al. (2021), dice que solamente debemos usar octenidina (OCT), polihexanida (PHMB), yodo povidona (PVP-I), hipoclorito de sodio y nanoplata, también recomendados por otros autores (Hübner et al., 2010a; Junka et al., 2014; Kaehn, 2010; Krasowski et al., 2021; Muller & Kramer, 2008).

Los hidrogeles antimicrobianos son de gran valor en el tratamiento de heridas (Maliha et al., 2021). El PHMB es un antiséptico catiónico de amplio espectro antimicrobiano, sin resistencia conocida, no citotóxico, con



excelente tolerancia, perfil de bajo riesgo, que trabaja en lesiones secas o húmedas y efectivo hasta por siete días. Su acción fisicoquímica sobre el envoltorio bacteriano impide el desarrollo de cepas bacterianas resistentes (Kaehn, 2010).

Mientras el PHMB comparte atributos con otros agentes catiónicos, también tiene otras acciones que lo hacen único en este grupo y tiene un efecto bactericida (Gilbert & Moore, 2005; Krasowski et al., 2021; Weigelt et al., 2021), debido a su mecanismo de acción diferente, pues esta droga traspasa la membrana fosfolipídica externa bacteriana, entra a la célula y se dirige al núcleo donde alcanza los cromosomas a los que condensa selectivamente, deteniendo la división celular y formando focos intracelulares inservibles de ADN, lo que produce colapso y muerte de la célula bacteriana sin dejar residuos que puedan mutar o replicarse (Chindera et al., 2016), además de ser efectivo contra la biopelícula de *P. aeruginosa* (Hübner et al., 2010a; Percival et al., 2014).

La resistencia bacteriana adquirida no ha sido reportada para el PHMB y esta condensación selectiva de los cromosomas bacterianos ofrece un paradigma anticipado de acción antimicrobiana que eventualmente no sucumbirá a la RA (Chindera et al., 2016).

El principal uso del PHMB es para el tratamiento de heridas, especialmente crónicas y se contraindica en lavados peritoneales, del sistema nervioso central y cartílago (solamente en concentración < 0.005%) según instrucciones del fabricante. Se presenta comercialmente como apósitos de gasa impregnados (Ej. Kerlix[®], Labs. Covidien) - ver Figs. 2h y 3h. La forma líquida (ver Fig. 3i) generalmente se prescribe como preparación magistral y se usa para la irrigación de la herida (Gabriel, 2022). Otros antisépticos contienen elementos metálicos como plata (Babalska et al., 2021; Gillespie et al., 2017) y yodo povidona (Iliescu et al., 2019).

El bismuto usado en heridas crónicas es un biocida para considerar en esta era de emergencia microbiana por la RA (Hernández et al., 2012; Iliescu et al., 2019; Malpass et al., 2003; Serena et al., 2007; Wild et al., 2016). Se reporta (Maliha et al., 2021) un hidrogel de nano celulosa combinado con el antimicrobiano fenil *bis*-fosfinato de bismuto (III), el cual a concentración de 9 µg/g mostró actividad bactericida contra *A. baumannii* y *P. aeruginosa*, además de un efecto bacteriostático contra *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) y *Enterococcus* resistente a la vancomicina (VRE), sin presentar efectos tóxicos en los fibroblastos de mamíferos. Serena et al. (2007) menciona el uso del subgalato de bismuto. El tribromofenato de bismuto (BTP) al 3% (como Xeroform[®] de Laboratorios Covidien Inc., entre otros), es un biocida bastante eficiente para controlar infección y secreción (Wild et al., 2016). Maillard et al. (2021) indican la necesidad de monitorear posible desarrollo de RA en algunos de estos compuestos. Hendrickson (2019), describe los usos correctos y diferentes tipos de apósitos.

Müller y Kramer (2008) publica un “Índice de Biocompatibilidad de Agentes Antisépticos” por evaluación paralela de actividad antimicrobiana y citotoxicidad celular. Una prueba para identificar la eficacia de antisépticos contra la biopelícula de *P. aeruginosa* y *S. aureus* es propuesta por Junka et al. (2014).

En resumen, si se sospecha de una infección con biopelícula, se indica un tratamiento agresivo de la herida incluyendo surfactante, remoción física de la biopelícula y el tejido enfermo por desbridamiento más la aplicación inmediata del antiséptico para matar las bacterias remanentes, lo que suprime crecimiento de la nueva biopelícula y además se complementa con irrigación terapéutica regular (Schultz et al., 2017; Weigelt et al., 2021; Wolcott & Cox, 2013).



3.2.6. Otros Protocolos Terapéuticos Descritos

Para eliminar las infecciones con biopelículas, otras líneas de terapia han sido descritas incluyendo alternativas a los antibióticos (Ghosh et al., 2019), inhibidores del QS (Jakobsen et al, 2013), ácidos grasos Omega-3 (Coraça et al., 2021), péptidos y lipopéptidos antimicrobianos (Chung & Khanum, 2017; Dawgul et al., 2014; Pletzer et al., 2016; Sánchez-Gómez et al., 2015) EPA (ácido eicosapentaenoico) y DHA (ácido docosahexaenoico) (Sun et al., 2016) y los lineamientos indicados por un importante grupo de expertos en reparación tisular (Armstrong et al, 2020).

Louis et al. (2022) reportan usar la hormona humana péptido natriurético atrial (hANP) para prevenir formación de la biopelícula de *P. aeruginosa* y dispersar la existente. El hANP requiere en la bacteria presencia de sensores/receptores AmiC y AmiR para actuar, por lo que activar las rutas Ami es un poderoso mecanismo potencial para dispersar la biopelícula.

Diferentes autores reportan más alternativas a los antibióticos convencionales, incluyendo desde el uso de bacteriófagos hasta sistemas CRISPR-Cas (Cheng et al., 2021; Ghosh et al., 2019; Lima et al., 2019). En idioma inglés el acrónimo CRISPR significa “Cluster Regularly Interspace Short Palindromic Repeats” y es un sistema inmune bacteriano adaptado que puede ser reutilizado para destruir selectivamente genomas bacterianos, ofreciendo una interesante opción para la nueva generación de antimicrobianos.

Se reporta el efecto antibiopelícula de los ácidos grasos omega-3 poli-insaturados, tales como DHA y EPA que muestran acción contra *S. aureus*, *S. epidermidis* y *P. aeruginosa*, así como para *S. aureus* multirresistente (Coraca et al., 2021).

Las enzimas biosintéticas glucósido hidrolasas degradan selectivamente los exopolisacáridos de la matriz en la biopelícula de *P. aeruginosa* (Baker et al., 2016).

La “Electrocéutica” incluye el uso terapéutico de corrientes eléctricas y la FDA de Estados Unidos, aprobó un apósito denominado en idioma inglés como “Wireless Electroceutical Dressing” (WED) el cual en presencia del exudado conductor de la herida se activa y genera un campo eléctrico (0.3-0.9V) que afecta marcadamente el crecimiento de *P. aeruginosa* cepa PAO1 en medio LB, disminuyendo el grosor de la biopelícula y el número de bacterias vivas (Banerjee et al., 2015).

Se reporta la importancia de las conexiones entre el “Quorum Sensing” y las biopelículas (Ortega-Peña & Hernández-Zamora, 2018; Parsek & Greenberg, 2005; Rezaie et al., 2018), mencionándose que la inhibición de esta comunicación tiene un efecto anti-biopelícula (Brackman & Coenye, 2015; Jakobsen et al., 2013; Sionov & Steinberg, 2022).

3.2.7. Diferentes Técnicas Antibacterianas Usadas en Nanomedicina

El uso de Nanotecnología abre un importante horizonte en la lucha contra la resistencia bacteriana y diversas aplicaciones terapéuticas son reportadas en la literatura, tales como mecanismos de actividad antimicrobiana (Shaikh et al., 2019; Wang & Shao, 2017), uso y seguridad de las nanopartículas (Gupta & Xie, 2018; Wolfram et al., 2015), tratamientos contra bacterias multirresistentes (Gupta et al., 2018; Huh & Kwon, 2011; Lee et al., 2019; Vallet-Regí et al., 2019) y algunas nano estrategias o nanosistemas sugeridos para las infecciones resistentes (Baptista et al., 2018; Bianchera et al., 2020; Dos Santos et al., 2014).



3.2.8. Uso de Antibióticos

La meta de esta terapia es administrar el régimen farmacológico apropiado para que los patógenos mueran o disminuyan su número hasta ser eliminados por el sistema inmune del huésped y que no afecten la cicatrización normal de la herida (Brumbaugh, 2005).

La droga adecuada se determina por identificación de los principales patógenos en la herida y la sensibilidad antibiótica respectiva (Harries et al., 2016; Percival et al., 2014). El uso inapropiado de antibióticos es posiblemente la mayor causa de diseminación de bacterias patogénicas resistentes.

Se recomienda no usar antibióticos tópicos o sistémicos en estas lesiones, pues se consideran de poca utilidad en el manejo de la herida crónica debido a: 1) La pobre penetración de la biopelícula por parte de los antibióticos, 2) La perfusión alterada en la base o lecho de la herida crónica y 3) El riesgo de resistencia bacteriana. Por estas razones el tratamiento sistémico con antibióticos no se propone en infecciones crónicas, ya que la limpieza de la herida, el desbridamiento y los antimicrobianos tópicos, controlan la carga bacteriana (Harries et al., 2016; Percival et al., 2014).

Si el paciente presenta signos de infección generalizada (ver punto 6 - “Protocolo para diagnóstico y tratamiento del caso clínico”), entonces el manejo sí debe combinarse con un antibiótico sistémico basado en identificación bacteriana y PSA (Harries et al., 2016).

Norman et al. (2016) dan recomendaciones para el uso de antibióticos y antisépticos en heridas que cicatrizan por segunda intención. Las técnicas de perfusión regional e intraósea maximizan la eficacia de los antibióticos, al promover un aumento en la gradiente de concentración dentro de un área confinada (Hanson, 2018; Stewart & Richardson, 2019).

Una estrategia farmacológica propuesta para combatir la resistencia antimicrobiana es tratar las infecciones con grupos de antibióticos en vez de usar solamente una droga individual (Fischbach, 2011), pero Tamma et al. (2012) mencionan que continuar con una terapia combinada luego de que un organismo es aislado y la susceptibilidad antibiótica ya es conocida, es controversial, lo que también es reiterado por Boyd y Nailor (2011) quienes afirman que regresar a un solo antibiótico cuando se conocen las susceptibilidades, es lo recomendado para la mayoría de pacientes y patógenos.

4. Enfoque “UNA SALUD” y la Resistencia a los Antibióticos

El patólogo alemán Rudolph Virchow hizo aportes fundamentales en el camino de la construcción conceptual de “UNA SALUD” ya que, además de acuñar el término “zoonosis”, fue uno de los primeros profesionales médicos en conectar la salud humana y animal, argumentando en 1856 que no existe ni debería existir línea divisoria entre ambas (Klauder, 1958), pues, aunque el objeto es diferente la experiencia obtenida constituye la base de toda medicina (Zunino, 2018). “UNA SALUD” es un término contemporáneo que describe la colaboración de varias disciplinas científicas en busca de una mejor salud para todos: personas, animales y ecosistemas.

El concepto reconoce que la salud humana y animal son interdependientes y ligados a la salud del ecosistema en cual coexisten. Esta interconexión favorece la transmisión de agentes infecciosos y elementos genéticos que contienen genes de resistencia antibiótica, lo cual se complica cuando las bacterias patogénicas tienen



la habilidad de establecerse como biopelículas. Por lo tanto, debemos entender las características y el comportamiento de los microorganismos, en estados planctónicos y biopelícula de los más diversos nichos ambientales para mitigar la emergencia y diseminación de resistencia (Dias et al., 2018).

La RA es un problema de salud pública que afecta las áreas ambiental, política, social y económica pues las bacterias resistentes se encuentran en humanos, animales, alimentos y ambiente (Barrantes et al., 2022; Dias et al., 2018; Flemming & Wuertz, 2019; Ramón et al., 2018; Tremblay et al., 2014). Debido a que la RA existe globalmente se ocupa un trabajo interdisciplinario, internacional e interinstitucional para su control, por lo que la OMS, junto con la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA), desarrollaron el “Plan de Acción Mundial en Resistencia a los Antimicrobianos” bajo la perspectiva “UNA SALUD” (OMS, 2016). Este enfoque reconoce que la salud humana y animal, junto con la creciente contaminación del ambiente, se ubican en un escenario común muy complejo ya que el cambio climático, la intensificación de la producción pecuaria y agrícola, el aumento de la población mundial, la ruptura de los ecosistemas, la globalización del comercio y el tránsito humano, entre otros, hacen necesaria la revisión de las estrategias tradicionales en salud (Zunino, 2018).

De tal manera, “UNA SALUD” es un abordaje multisectorial e interdisciplinario para enfrentar los desafíos planteados en la actualidad sobre la promoción de la salud a nivel global (OMS, 2016; Zunino, 2018) y poner en marcha programas, políticas, legislación e investigaciones para lograr mejores resultados de salud pública. La falta de agua limpia y condiciones sanitarias mínimas fomentan la propagación de microbios.

5. Materiales y Métodos

- Se incluye información obtenida en casos clínicos de caballos atendidos (N=19) por los autores en su práctica privada y en el Hospital Equino, Escuela de Medicina Veterinaria, UNA, debido a tractos fistulosos infectados por bacterias resistentes productoras de biopelícula y su manejo con el protocolo aquí propuesto. Todas las fotografías son propiedad de los autores y en este artículo presentamos nuestra experiencia en el manejo de dichas lesiones.
- Para la revisión bibliográfica se consultaron 214 publicaciones científicas obtenidas en bases de datos relacionadas con el área de la Salud, principalmente PubMed, usando términos de búsqueda como “heridas crónicas”, “multirresistencia”, “biopelícula (biofilm)”, “surfactantes”, “antimicrobianos alternativos” y “antisépticos”, además de textos usados en los cursos regulares de la Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica. Otros criterios para inclusión como referencia fueron que solamente se consultaron documentos con acceso a texto completo, escritos en español o inglés (con dos excepciones en idioma alemán) e identificados con DOI.
- Con recomendaciones emanadas de la revisión anterior se diseñaron los protocolos adjuntos para diagnóstico y tratamiento lesional (Punto 6).
- Los cultivos, PSA e histopatología en su mayoría se efectuaron en la Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, pero ocasionalmente durante los recesos institucionales se usaron laboratorios privados. Se hizo biopsia para efectos ilustrativos en un caso (Exp. B1107-22, Dpto. Patología, EMV/UNA).



- El instrumental quirúrgico requerido durante los tratamientos fue aportado por los autores, además de sedativos, anestésico local, jeringas, catéteres i.v. y Foley, insumos ocupados para anestesia local o T.I.V.A. y otros materiales (tales como jabón líquido, H₂O₂, gasa, algodón).
- Se usaron como surfactantes jabones líquidos comerciales con cocamidina o betaína. El PHMB (Kerlix™) y el BTP 3% (Xeroform™), ambos de Labs. Covidien Inc., en forma de apósitos de gasa impregnados con el medicamento (Figs. 2h y 3h), se compraron a Biomur S.A., Costa Rica. El PHMB líquido (0,1%) fue formulado por una farmacia de preparaciones magistrales (info@premafarma.com).

6. Protocolos para el Diagnóstico y Tratamiento del Caso Clínico

Se propone la siguiente guía (ver Fig. 3) para el abordaje integral:

- (a)- El diagnóstico se basa en anamnesis y detección de signos clínicos específicos sugestivos de esta patología (Dalton et al., 2011; Harries et al., 2016; Keast et al., 2014; Schultz et al., 2017), los que frecuentemente incluyen una herida con dificultad para cicatrizar y abundante secreción (ver Fig. 1), más los resultados del cultivo y PSA. Finalmente se aplica el “Algoritmo Diagnóstico” (Percival et al., 2015) para determinar presencia o no de biopelícula.
- (b)- A discreción del veterinario se puede prescribir un tratamiento de 5-7 días con el antibiótico sistémico indicado por el antibiograma (Percival et al., 2014) si el paciente presenta signos de infección generalizada (como fiebre, depresión, anorexia, edema ventral a herida, enfisema regional, oliguria /anuria, membranas mucosas toxémicas, aumento frecuencia cardiaca, dolor severo, sudoración, bacteriemia, signos de infección en radiografías o ultrasonido, leucocitosis o leucopenia, trombocitopenia secundaria a infección, hipotensión arterial, problemas de coagulación, desbalances electrolíticos, hipoxemia, hiperlactatemia, hiperfibrinogenemia y problemas renales y/o hepáticos, entre otros).
- (c)- Se identifican, ubican y valoran clínicamente, incluyendo imágenes médicas en caso necesario, los tractos involucrados (Figs. 1f, 3a, 3b y 3c).
- (d)- Para la limpieza e irrigación inicial se aplica un surfactante dentro de los tractos (como jabón líquido con cocamidina o betaína), el cual tiene función exfoliante y remueve contaminantes, además de romper las uniones entre bacteria y herida (Anglen et al., 2003; Ousey & McIntosh, 2010) (Fig. 3d), lo que contribuye a dispersar la biopelícula.
- (e)- Se hace desbridamiento quirúrgico y/o curetaje (Figs. 2c, 2d, 2f, 3e y 3f) con el paciente generalmente bajo sedación y bloqueo anestésico local, pero se usa anestesia general i.v. (TIVA) cuando se considera necesario (Fig. 2g).
- (f)- Lavado exhaustivo (“flushing”) del área desbridada se efectúa con agua oxigenada 2% para sacar detritos con la espuma producida, pues la presión generada por las burbujas puede penetrar la mayor parte del tracto y luego se hace enjuague de la cavidad con una solución isotónica como lactato de Ringer o cloruro de sodio al 0,9% (Fig. 3g).
- (g)- Se aplican antimicrobianos no antibióticos, preferible antisépticos, en forma de gasa medicada empacando el tracto. Entre ellos: PHMB (Kerlix™) o bismuto (Xeroform™) (Figs. 2h y 3h).



- (h)- Ocasionalmente en tractos muy largos, bifurcados o verticales (incómodos para empacar con gasa), entonces con ayuda de una jeringa se inyecta a presión una solución 0,1 % de PHMB dentro del ducto y sellamos la salida de este con el “manguito” inflado de un catéter Foley, esto para mantener el medicamento actuando un tiempo más prolongado sobre las paredes del tracto (Fig. 3i). Con ambos antisépticos se logra eliminar la infección y se consigue la cicatrización de la herida.
- (i)- Se inyectan 6.000 UI de antitoxina tetánica subcutáneamente.
- (j)- Monitoreo Médico Veterinario de la lesión es obligatorio hasta epitelización.
- (k)- La eliminación de posibles fuentes ambientales del agente etiológico resistente, según principios de “UNA SALUD”, para prevenir recontaminación, es fundamental.

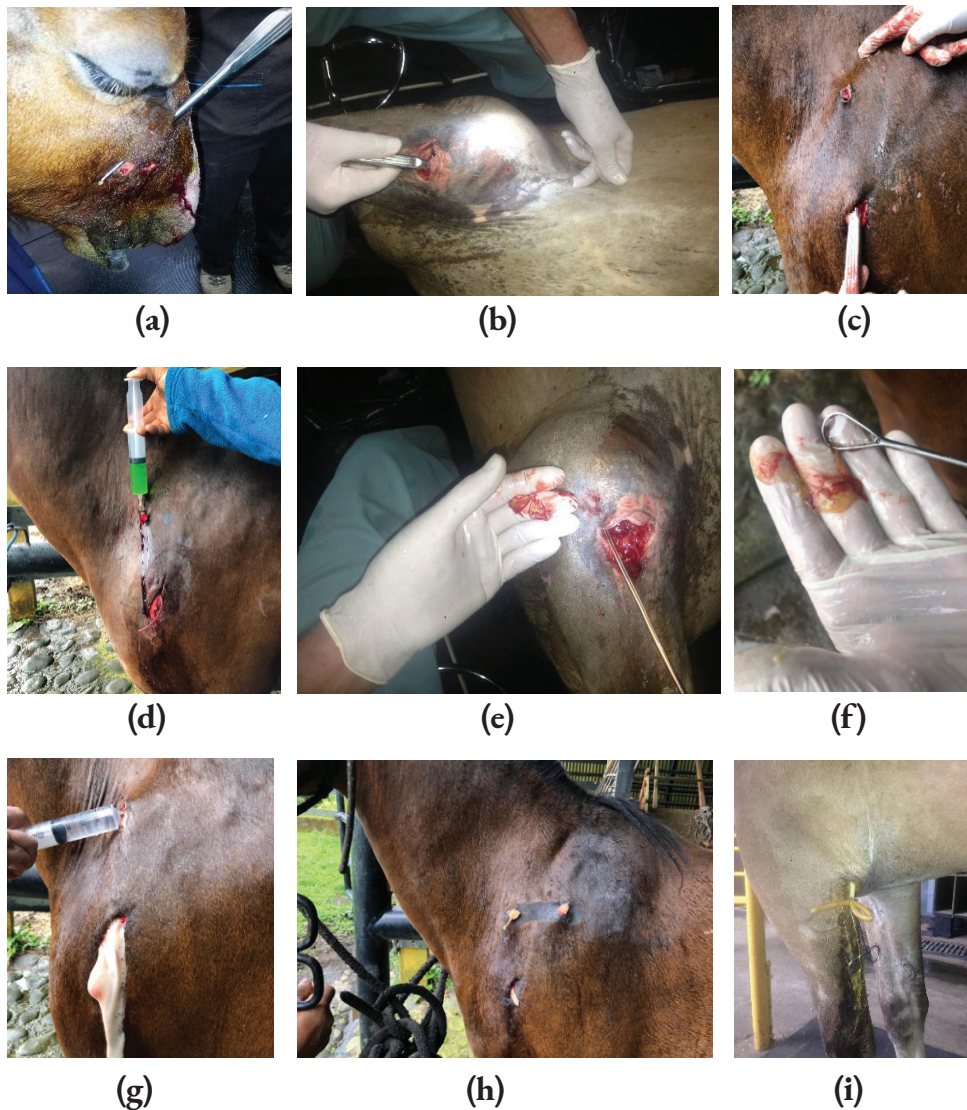


Figura 3. Algunos pasos del protocolo.



En la figura 3 se muestra: (a), (b) y (c) se ubica el trayecto del tracto con la ayuda de un catéter rígido o instrumento metálico y palpación externa, (d) se aplica un surfactante para comenzar a disgregar la biopelícula, (e) y (f) muestran debridamiento por curetaje, (g) enjuague del tracto desbridado con agua oxigenada para sacar detritos con la espuma producida y posterior lavado con solución isotónica, (h) tractos fistulosos empacados con gasa impregnada de PMHB, (i) tracto vertical muy largo y bifurcado (en este caso egresando por la axila), se irriga con solución 0,1% de PHMB con ayuda de un catéter Foley (el “manguito” inflado sella la salida del tracto manteniendo el antimicrobiano dentro del mismo y prolongando su efecto biocida).

7. Conclusiones y Recomendaciones

- La resistencia antibiótica es una de las mayores amenazas mundiales, tiene la posibilidad de acabar con décadas de avances médicos dificultando el tratamiento de algunas infecciones y es uno de los retos científicos del siglo.
- Este fenómeno supera a la sociedad pues, debido al uso indiscriminado de antibióticos, las bacterias no son afectadas por los fármacos a los cuales eran sensibles anteriormente, además de la complicación que se presenta con la inexistencia de nuevas moléculas antibióticas, producto de que la investigación y desarrollo de estas es excesivamente caro y poco atractivo para las compañías farmacéuticas.
- Para combatir dicha resistencia, se debe educar a la población, autoridades y público en general, sobre el uso y manejo correcto de los antibióticos (Brumbaugh, 2005) y detener el problema antes de que sea más tarde (Zumbado et al., 2022).
- En la prevención y tratamiento de la infección en la herida, el clínico siempre se debe preguntar si existe otra alternativa al uso de los antibióticos (Cheng et al., 2021; Ghosh et al., 2019; Lima et al., 2019).
- De lo anterior se desprende la necesidad de fomentar estas ideas en las universidades que tienen programas en Ciencias de la Salud, para que autoridades y estudiantes se sensibilicen con la problemática de la resistencia bacteriana a los antibióticos, promoviendo un uso racional de estos medicamentos basado en estrategias de UNA SALUD e impulsando la investigación y desarrollo de protocolos antimicrobianos alternativos a los antibióticos.
- Es importante entender el rol como reservorios que tienen los animales domésticos y silvestres en el fenómeno de la resistencia antibiótica, pues muchos patógenos están en propietarios y animales, quienes se pueden transmitir mutuamente el germen, causando problemas en ambas especies. En el mismo sentido, la contaminación del ambiente juega un papel preponderante.
- Entidades gremiales veterinarias y gobiernos nacionales, deben emitir directrices donde se exija prescripción veterinaria para la comercialización de antibióticos.
- El abordaje inicial de la herida aguda por parte de un médico veterinario calificado es de fundamental importancia para prevenir la aparición de infecciones crónicas.
- Para que el manejo clínico de estas heridas crónicas sea exitoso, se debe eliminar también la biopelícula (Percival et al., 2019).
- La resistencia antibiótica, así como la tolerancia de las biopelículas, debe considerarse una amenaza combinada al tratar una infección crónica (Bowler, 2018).



- El tratamiento debe incluir limpieza inicial de la herida usando surfactante, seguir con desbridamiento periódico y un antimicrobiano, lo cual parece ser efectivo para remover las biopelículas patológicas (Percival et al., 2015).
- El desbridamiento es un procedimiento doloroso que por razones éticas, legales y prácticas debe ser efectuado únicamente por un médico veterinario con el paciente bajo sedación y anestesia.
- El material necrótico lesional es un “biorreactor” que disemina microbios, por lo que su remoción por curetaje se hace antes de emplear los antimicrobianos.
- Esta revisión bibliográfica, más las descripciones gráficas de los casos clínicos tratados por los autores, pretende proporcionar al clínico herramientas para identificar y manejar exitosamente las biopelículas.

Agradecimientos

A la Dra. Mariana Guevara González, Cátedra de Patología, EMV/UNA, Costa Rica, por su amable colaboración con la interpretación de las biopsias.

Declaración

Los autores no tienen relación financiera o personal alguna con individuos y entidades que puedan incorrectamente parcializar el contenido de este artículo.

Referencias

- Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. (2022). *Resistencia Antibacteriana*. <https://www.argentina.gob.ar/anmat/ram/organismos>
- Alós, J. I. (2015). Resistencia bacteriana a los antibióticos: Una crisis global [Antibiotic resistance: A global crisis]. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 33(10), 692–699. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.10.004>
- Alverdy J.C., Hyman, N., & Gilbert, J. (2020). Re-examining causes of surgical site infections following elective surgery in the era of asepsis. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(3), e38-e43. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(19\)30756-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30756-X)
- AMR Action Fund. (2022). *Next Generation Antibiotics*. <https://www.amractionfund.com/amr-innovation-challenge>
- Anglen, J., Gainor, B., Simpson, W., & Christensen, G. (2003). The use of detergent irrigation for musculoskeletal wounds. *International Orthopaedics*, 27(1), 40-46. <https://doi.org/10.1007/s00264-002-0398-5>
- Armstrong, D., Bauer, K., Greg Bohn, G., Carter, M., Snyder, R., & Serena, T. (2020). Principles of best diagnostic practice in tissue repair and wound healing: an expert consensus. *Diagnostics*, 11(1), 50. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11010050>



- Attinger, C., & Wolcott, R. (2012). Clinically addressing Biofilm in Chronic Wounds. *Advances in Wound Care (New Rochelle)*, 1(3), 127-132. <https://doi.org/10.1089/wound.2011.0333>
- Atkin, L., & Rippon, M. (2016). Autolysis: mechanisms of action in the removal of devitalised tissue. *British Journal of Nursing*, 25(Supl. 20), S40-S47. <https://doi.org/10.12968/bjon.2016.25.20.S40>
- Asma, S.T., Imre, K., Morar, A., Herman, V., Acaroz, U., Mukhtar, H., Arslan, D., Shah, S., & Gerlach, R. (2022). An Overview of Biofilm formation-combatin strategies and mechanisms of action of antibiofilm agents. *Life*, 12(8), 1110. <https://doi.org/10.3390/life12081110>
- Auer, J.A., & Kummerle, J.A. (2019). Surgical Methods. En Auer, Stick, Kummerle & Prange (Eds.), *Equine Surgery* (5ta ed., pp. 123-300). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2015-0-05672-6>
- Babalska, Z., Korbecka, M., & Karpiński, T. (2021). Wound Antiseptics and European Guidelines for Antiseptic Application in Wound Treatment. *Pharmaceuticals*, 14(12), 1253. <https://doi.org/10.3390/ph14121253>
- Baker, P., Hill, P., Snarr, B., Alnabelseya, N., Pestrak, M., Lee, M., Jennings, L., Tam, J., Melnyk, R., Parsek, M., Sheppard, D., Wozniak, D., & Howell, L. (2016). Exopolysaccharide biosynthetic glycoside hydrolases can be utilized to disrupt and prevent *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Science Advances*, 2(5), e1501632. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1501632>
- Banat, I.M., De Rienzo, M.A.D. & Quinn, G.A. (2014). Microbial biofilms: biosurfactants as antibiofilm agents. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98, 9915–9929. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6169-6>
- Banerjee, J., Das Ghatak, P., Roy, S., Khanna, S., Hemann, C., Deng, B., Das, A., Zweier, J., Wozniak, D., & Sen, C.K. (2015). Silver-Zinc Redox-Coupled Electroceutical Wound Dressing Disrupts Bacterial Biofilm. *PLOS ONE*, 10(3), e0119531. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119531>
- Baptista, P. V., McCusker, M. P., Carvalho, A., Ferreira, D. A., Mohan, N. M., Martins, M., & Fernandes, A. R. (2018). Nano-Strategies to Fight Multidrug Resistant Bacteria - “A Battle of the Titans”. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01441>
- Barrantes, K., Chacón, L., & Arias, M. (2022). El impacto de la resistencia a los antibióticos en el desarrollo sostenible. *Población y Salud en Mesoamérica*, 19(2), 321-345. <https://doi.org/10.15517/psm.v0i19.47590>
- Barrientos, S., Brem, H., Stojadinovic, O., & Tomic-Canic, M. (2014). Clinical application of growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 22(5), 569-578. <https://doi.org/10.1111/wrr.12205>
- Bexfield, A., Bond, E., Roberts, E., Dudley, E., Nigam, Y., Thomas, S., Newton, R., & Ratcliffe, N. (2008). The antibacterial activity against MRSA strains and other bacteria of a <500Da fraction from maggot excretions/secretions of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Microbes and Infection*, 10(4), 325-333. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2007.12.011>
- Bianchera, A., Buttini, F., & Bettini, R. (2020). Micro/nanosystems and biomaterials for controlled delivery of antimicrobial and anti-biofilm agents. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 30(12),



983-1000. <https://doi.org/10.1080/13543776.2020.1839415>

- Bianchi, T., Wolcott, R., Peghetti, A., Leaper, D., Cutting, K., Polignano, R., Rosa Rita, Z., Moscatelli, A., Greco, A., Romanelli, M., Pancani, S., Bellingeri, A., Ruggeri, V., Postacchini, L., Tedesco, S., Manfredi, L., Camerlingo, M., Rowan, S., Gabrielli, A., & Pomponio, G. (2016). Recommendations for the management of biofilm: a consensus document. *Journal of Wound Care*, 25(6), 305-17. <https://doi.org/10.12968/jowc.2016.25.6.305>
- Bischofberger, A.S. (2019). Drains, Bandages and External Coaptation. En Auer, Stick, Kummerle & Prange (Eds.), *Equine Surgery* (5ta ed., pp. 280-300). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-48420-6.00017-X>
- Bjarnsholt, T. (2013). The role of bacterial biofilms in chronic infections. *APMIS*, 121(Supl. 136), 1-51. <https://doi.org/10.1111/apm.12099>
- Bjarnsholt, T., Alhede, M., Eickhardt, S., Moser, C., Kühl, M., Østrup, P., & Høiby, N. (2013). The in vivo biofilm. *Trends in Microbiology*, 21(9), 466-474. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2013.06.002>
- Bobrov, A.G., Getnet, D., Swierczewski, B., Jacobs, A., Medina, M., Tyner, S., Watters, C., & Antonic, V. (2022). Evaluation of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis and therapeutics in military-relevant animal infection models. *APMIS*, 130(7), 436-457. <https://doi.org/10.1111/apm.13119>
- Bonnichsen, L., Svenningsen, N., Rybtke, M., de Bruijn, I., Raaijmakers, J., Tolker, T., & Nybroe, O. (2015). Lipopeptide biosurfactant viscosin enhances dispersal of *Pseudomonas fluorescens* SBW25 biofilms. *Microbiology (Reading)*, 161(12), 2289-2297. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000191>
- Bosanquet, D.C., & Harding, K.G. (2014). Wound duration and healing rates: cause or effect? *Wound Repair and Regeneration*, 22(2), 143-50. <https://doi.org/10.1111/wrr.12149>
- Bowler, P. G. (2018). Antibiotic resistance and biofilm tolerance: a combined threat in the treatment of chronic infections. *Journal of Wound Care*, 27(5), 273-277. <https://doi.org/10.12968/jowc.2018.27.5.273>
- Boyd, N., & Nailor, M. (2011). Combination antibiotic therapy for empiric and definitive treatment of gram-negative infections: insights from the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Pharmacotherapy*, 31(11), 1073-84. <https://doi.org/10.1592/phco.31.11.1073>
- Brackman, G., & Coenye, T. (2015). Quorum sensing inhibitors as anti-biofilm agents. *Current Pharmaceutical Design*, 21(1), 5-11. <https://doi.org/10.2174/1381612820666140905114627>
- Brumbaugh, G.W. (2005). Use of antimicrobials in wound management. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 21(1), 63-75. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2004.11.012>
- Butler, J.A., Colles, C.M., Dyson, S.J., Kold, S.E., & Poulos, P.W. (2017). *Clinical Radiology of the Horse* (2da ed.). John Wiley & Sons, Ames.
- Cardona, M.A., Enríquez, J., Ramos, A., Padilla, C., & Vidal, A. (2016). Fístula cutánea y granuloma a cuerpo extraño por material de sutura. Presentación de un caso. *Revista del Centro Dermatológico Pascua*, 25(2), 53-57. <https://www.medigraphic.com/pdfs/derma/cd-2016/cd162b.pdf>



- Cartee, R. E., & Rumph, P. F. (1984). Ultrasonographic detection of fistulous tracts and foreign objects in muscles of horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 184(9), 1127-32. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6725130/N>
- Cassiday, L. (2021). Emulsions: making oil and water mix. *The American Oil Chemists' Society (AOCS) Magazine*. <https://www.aocs.org/stay-informed/inform-magazine/featured-articles/emulsions-making-oil-and-water-mix-april-2014?SSO=True#:~:text=Surfactant>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2022). *COVID-19: U.S. Impact on Antimicrobial Resistance*. Special Report 2022. <https://dx.doi.org/10.15620/cdc:117915>
- Cheng, D., Lian-Hui, Z., & Zeling, X. (2021). Harnessing the CRISPR-Cas Systems to Combat Antimicrobial Resistance. *Frontiers in Microbiology*, 12, 716064. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.716064>
- Chindera, K., Mahato, M., Sharma, A.K., Horsley, H., Kloc-Muniak, K., Kamaruzzaman, N.F., Kumar, S., McFarlane, A., Stach, J., Bentin, T., & Good, L. (2016). The antimicrobial polymer PHMB enters cells and selectively condenses bacterial chromosomes. *Nature Scientific Reports*, 6, 23121. <https://doi.org/10.1038/srep23121>
- Chung, P.Y., & Khanum, R.J. (2017). Antimicrobial peptides as potential anti-biofilm agents against multidrug-resistant bacteria. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 50(4), 405-410. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2016.12.005>
- Collier, M., & Hofer, P. (2017) Taking wound cleansing seriously to minimize risk. *Wounds UK*, 13(1), 58–64. <https://www.wounds-uk.com/journals/issue/51/article-details/taking-wound-cleansing-seriously-to-minimise-risk>
- Coraça, D.C., Steixner, S., Wurm, A., & Nogler, M. (2021). Antibacterial and Anti-Biofilm Activity of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids against Periprosthetic Joint Infections-Isolated Multi-Drug Resistant Strains. *Biomedicines*, 9(4), 334. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9040334>
- Cortell, C., Gaspar, M., Achau, R., Delgado, T., & Hortelano, A. (2019). Terapia de presión negativa con instilación para el tratamiento de heridas infectadas: recomendaciones de utilización basadas en la evidencia. *Farmacia Hospitalaria*, 43(1), 6-12. <https://dx.doi.org/10.7399/fh.11011>
- Cos, P., Toté, K., Horemans, T., & Maes, L. (2010). Biofilms: an extra hurdle for effective antimicrobial therapy. *Current Pharmaceutical Design*, 16(20), 2279-2295. <https://doi.org/10.2174/138161210791792868>
- Cowan, T. (2015). Is there a difference between debridement and desloughing? *British Journal of Nursing*, 24(Supl. 15). <https://doi.org/10.12968/bjon.2015.24.Sup15.S18>
- Crespo, R., Ong, A., Albasha, O., Bass, K., & Arany, P. (2019). Photobiomodulation Therapy for Wound Care: A Potent, Noninvasive, Photoceutical Approach. *Advances In Skin & Wound Care*, 32(4), 157-167. <https://doi.org/10.1097/01.ASW.0000553600.97572.d2>
- Daeschlein, G., Napp, M., Assadian, O., Von Podewils, S., Reese, K., Hinz, P., Matiasek, J., Spitzmueller, R., Humphreys, P., Jünger, M., & Kramer, A. (2017). Viability of *Lucilia sericata* maggots after



exposure to wound antiseptics. International Wound Journal, 14(3), 512-515. <https://doi.org/10.1111/iwj.12637>

- Dalton, T., Dowd S., Wolcott, R.D., Sun, Yan, Watters, C., Griswold, J., & Rumbaugh, K. (2011). An *in vivo* polymicrobial biofilm wound infection model to study interspecies interactions. *PLOS One*, 6(11), e27317. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027317>
- Dart, A.J., Sole, A., & Stashak, T.S. (2016). Management Practices that Influence Wound Infection and Healing. En Theoret, C., & Schumacher, J. (Eds.), *Equine Wound Management* (3ra ed., pp. 47-74). Wiley Online Library. <https://doi.org/10.1002/9781118999219.ch4>
- Darvishi, S., Tavakoli, Sh., Kharaziha, M., Girault, H., Kaminski, C., & Mela, I. (2022). Advances in the Sensing and Treatment of Wound Biofilms. *Angewandte Chemie*, 61(13), e202112218. <https://doi.org/10.1002/anie.202112218>
- Das Ghatak, P., Mathew, S., Pandey, P. Roy, S., & Sen, C.K. (2018). A surfactant polymer dressing potentiates antimicrobial efficacy in biofilm disruption. *Scientific Reports*, 8, 873. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19175-7>
- Dawgul, M., Maciejewska, M., Jaskiewicz, M., Karafova, A., & Kamysz, W. (2014). Antimicrobial peptides as potential tool to fight bacterial biofilm. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 71(1), 39-47. https://www.ptfarm.pl/pub/File/Acta_Poloniae/2014/1/039.pdf
- Dias, D., Borges, A., Oliveira, D., Martínez, A., Saavedra, M., & Simões, M. (2018). Biofilms and antibiotic susceptibility of multidrug-resistant bacteria from wild animals. *PeerJ*, 6, e4974. <https://doi.org/10.7717/peerj.4974>
- Diban, F., Di Lodovico, S., Di Fermo, P., D'Ercole, S., D'Arcangelo, S., Di Giulio, M., & Cellini, L. (2023). Biofilms in Chronic Wound Infections: Innovative Antimicrobial Approaches Using the In Vitro Lubbock Chronic Wound Biofilm Model. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2), 1004. <https://doi.org/10.3390/ijms24021004>
- DISARM Act of 2021, H.R.4127, 117th Congress (2021). <https://www.congress.gov/bill/117th-congress/house-bill/4127/text>
- Donné, J. & Dewilde, S. (2015). The Challenging World of Biofilm Physiology. *Advances in Microbial Physiology*, 67, 235-92. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.ampbs.2015.09.003>
- Dos Santos, C. A., Seckler, M. M., Ingle, A. P., Gupta, I., Galdiero, S., Galdiero, M., & Rai, M. (2014). Silver Nanoparticles: Therapeutical Uses, Toxicity, and Safety Issues. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103(7), 1931-1944. <https://doi.org/10.1002/jps.24001>
- Dow, G. (2001). Infection in chronic wounds. En Kraner, D., Rodeheaver, G.T., & Sibbald, R.G. (Eds.), *Chronic Wound Care: A Clinical Source Book for Healthcare Professionals*. (3ra ed., p. 343). Wayne, PA. H.M. Communications.
- Eggleston, R. B. (2018). Wound Management: Wounds with Special Challenges. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 34(3), 511-538. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2018.07.003>
- Engelke, K., & Oldhafer, K.J. (2010). Prevention of postoperative wound infections. *Der Chirurg*, 81(6), 577-85. <https://doi.org/10.1007/s00104-009-1860-3>



- Estrada-McDermott, J., Montero, J., Vargas, J., & Estrada-Umaña, M. (2016). Trauma de la pared torácica y manejo del neumotórax en equinos: reporte de un caso clínico atendido bajo condiciones de campo. *Ciencias Veterinarias*, 33(2), 67-79. <https://doi.org/10.15359/rcv.33-2.2>
- Estrada-McDermott, J. & Estrada-Umaña, M. (2020). *Manual de Introducción a la Radiología Equina*. Primera Edición. Programa de Publicaciones Universidad Nacional, Costa Rica (Cod: 1865-20-P.UNA). <https://repositorio.una.ac.cr/bitstream/handle/11056/23798/ManualRadiologiaEquina.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- European Medicines Agency. (2022). Guideline on the application of Article 34 of Regulation 5 (EU) 2019/6. Classification of veterinary medicinal products (prescription status) – Draft. *Committee for Veterinary Medicinal Products*. https://www.ema.europa.eu/en/documents/regulatory-procedural-guideline/draft-guideline-application-article-34-regulation-eu-2019/6-classification-veterinary-medicinal-products-prescription-status_en.pdf
- Falanga, V., Isseroff, R.R., Soulika, A.M., Romanelli, M., Margolis, D., Kapp, S., Granick, M., & Harding, K. (2022). Chronic wounds. *Nature reviews. Disease primers*, 8(1), 50. <https://doi.org/10.1038/s41572-022-00377-3>
- Farr, A.C., Hawkins, J.F., Baird, D.K., & Moore, G.E. (2010). Wooden, metallic, hair, bone, and plant foreign bodies in horses: 37 cases (1990–2005). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 237(10), 1173–1179. <https://doi.org/10.2460/javma.237.10.1173>
- Fekrazad, R., Asefi, S., Allahdadi, M., & Kalhori, K. (2016). Effect of Photobiomodulation on Mesenchymal Stem Cells. *Photomedicine and laser surgery*, 34(11), 533–542. <https://doi.org/10.1089/pho.2015.4029>
- Fischbach, M. A. (2011). Combination therapies for combating antimicrobial resistance. *Current Opinions on Microbiology*, 14(5): 519-523. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.08.003>
- Flemming, H., & Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 8(9): 623-633. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2415>
- Flemming, H.C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S.A., & Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 563-75. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.94>
- Flemming, H.C., & Wuertz, S. (2019). Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, 17, 247-260. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0158-9>
- Flores da Silva, K., & Teixeira, M. (2013). Unveiled the larval therapy as alternative in the treatment of skin lesions: An integrative review. *Revista de Pesquisa Cuidado é Fundamental Online*, 5(3), 66-74. <https://doi.org/10.9789/2175-5361>
- Fonder, M.A., Lazarus, G.S., Cowan, D.A., Aronson-Cook, B., Kohli, A.R., & Mamelak, A.J. (2008). Treating the chronic wound: a practical approach to the care of nonhealing wounds and wound care dressings. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 58(2), 185–206. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2007.08.048>



- Food and Drug Administration. (2018). Tecnología avanzada esclarece la resistencia a los antibióticos. <https://www.fda.gov/consumers/articulos-para-el-consumidor-en-espanol/fda-tecnologia-avanzada-esclarece-la-resistencia-los-antibioticos>
- Gabriel, A. (2022). *Wound irrigation*. Medscape. <https://emedicine.medscape.com/article/1895071-overview>
- Gift, L. J., & DeBowes, R. M. (1989). Wounds associated with osseous sequestration and penetrating foreign bodies. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 5(3), 695-708. [https://doi.org/10.1016/s0749-0739\(17\)30583-7](https://doi.org/10.1016/s0749-0739(17)30583-7)
- Gilbert, P., & Moore, L.E. (2005). Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. *Journal of Applied Microbiology*, 99, 703-715. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02664.x>
- Gillespie, C., Hawkins, J., J. Li, Connell, S., Miller, M., Saenger, M., & Freeman, L. (2017). Effects of topical application of silver sulfadiazine cream, triple antimicrobial ointment, or hyperosmolar nanoemulsion on wound healing, bacterial load, and exuberant granulation tissue formation in bandaged full-thickness equine skin wounds. *American journal of veterinary research*, 78(5), 638–646. <https://doi.org/10.2460/ajvr.78.5.638>
- Ghosh, Ch., Paramita, S., Issa, R., & Haldar, J. (2019). Alternatives to Conventional Antibiotics in the Era of Antimicrobial Resistance. *Review Special Issue: Antimicrobial Resistance and Novel Therapeutics*, 27(4), 323-338. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.12.010>
- Grothier, L. (2015). Improving clinical outcomes and patient experience through the use of desloughing. *British journal of community nursing, Supl. Wound Care*, S25–S31. <https://doi.org/10.12968/bjcn.2015.20.Sup9.S25>
- Gupta, A., Mumtaz, S., Li, C.-H., Hussain, I., & Rotello, V. M. (2018). Combatting antibiotic-resistant bacteria using nanomaterials. *Chemical Society Reviews*, 48(2), 415-427. <https://doi.org/10.1039/c7cs00748e>
- Gupta, R., & Xie, H. (2018). Nanoparticles in Daily Life: Applications, Toxicity and Regulations. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 37(3), 209– 230. <https://doi.org/10.1615/jenvironpatholtoxicoloncol.2018026009>
- Hanson, R.R. (2018). Medical Therapy in Equine Wound Management. *The Veterinary clinics of North America. Equine practice*, 34(3), 591–603. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2018.07.008>
- Harries, R., Bosanquet, D., & Harding, K. (2016). Wound bed preparation: TIME for an update. *International wound journal*, 13(Supl. 3), 8–14. <https://doi.org/10.1111/iwj.12662>
- Hendrickson, D.A. (2019). Management of Superficial Wounds, Deep and Chronic Wounds, Sinus Tracts, and Fistula. En Auer, Stick, Kummerle & Prange (Eds.), *Equine Surgery*, (5ta ed., pp.403-425). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-48420-6.00027-2>
- Hendrickson, D.A., & Virgin, J. (2005). Factors that affect equine wound repair. *The Veterinary clinics of North America. Equine practice*, 21, 33-44. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2004.11.002>
- Hendrix, S.M., & Baxter, G.M. (2005). Management of complicated wounds. *The Veterinary clinics of North America. Equine practice*, 21(1), 217-30. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2004.11.011>



- Hernández, R., Velasco, D., Diaz, D., Arevalo, K., Garza, M., de la Garza, M., & Cabral, C. (2012). Zerovalent bismuth nanoparticles inhibit *Streptococcus mutans* growth and formation of biofilm. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 2109-2013. <https://doi.org/10.2147/IJN.S29854>
- Hernando, S., Alcalde, M., Gil, T., Valverde, J., & Martínez, J. (2020). Inhibition of the *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing Response Is Based on its Time-Dependent Competition with N-(3-Oxo-dodecanoyl)-L-homoserine Lactone for LasR Binding. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 7, 25. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.00025>
- Horsley, V. (2022). Adipocyte plasticity in tissue regeneration, repair, and disease. *Current Opinion in Genetics & Development*, 76, 101968. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2022.101968>
- Høiby, N., Bjarnsholt, T., Moser, C., Bassi, G.L., Coenye, T., Donelli, G., Hall-Stoodley, L., Holá, V., Imbert, C., Kirketerp-Møller, K., Lebeaux, D., Oliver, A., Ullmann, A.J., Williams, C., & ESCMID Study Group for Biofilms and Consulting External Expert Werner Zimmerli. (2015). ESCMID guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 21 Supl. 1, S1–S25. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2014.10.024>
- Huang, Y., Cambre, M., & Lee, H. (2017). The Toxicity of Nanoparticles Depends on Multiple Molecular and Physicochemical Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(12), 2702. <https://doi.org/10.3390/ijms18122702>
- Hübner, N.O., Matthes, R., & Koban, I. (2010a). Efficacy of chlorhexidine, polihexanide and tissue-tolerable plasma against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms grown in polystyrene and silicone materials. *Skin pharmacology and physiology, Supl.* 23, 28–34. <https://doi.org/10.1159/000318265>
- Hübner, N., Siebert, J., & Kramer, A. (2010b). Octenidine Dihydrochloride, a Modern Antiseptic for Skin, Mucous Membranes and Wounds. *Skin pharmacology and physiology*, 23, 244–258. <https://doi.org/10.1159/000314699>
- Huh, A. J., & Kwon, Y. J. (2011). “Nanoantibiotics”: A new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *Journal of Controlled Release*, 156 (2), 128-145. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.07.002>
- Hunt, R. J., Allen, D., & Mueller, P.O. (1991). Intracranial trauma associated with extraction of a temporal ear tooth (dentigerous cyst) in a horse. *The Cornell veterinarian*, 81(2), 103–108. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2029835/>
- Iliescu, M., Paek, L., Dao, L., Rouchet, N., Efanov, J.I., Édouard, C., & Danino, M.A. (2019). In-situ characterization of the bacterial biofilm associated with Xeroform™ and Kaltostat™ dressings and evaluation of their effectiveness on thin skin engraftment donor sites in burn patients. *Burns*, 45(5), 1122-1130. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2019.02.024>
- Inceoglu, R., & Gencosmanoglu, R. (2003). Fistulotomy and drainage of deep postanal space abscess in the treatment of posterior horseshoe fistula. *BMC Surgery*, 3(10). <https://doi.org/10.1186/1471-2482-3-10>



- Jakobsen, T.H., Bjarnsholt, T., Jensen, P.Ø., Givskov, M., & Høiby, N. (2013). Targeting quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: current and emerging inhibitors. *Future microbiology*, 8(7), 901–921. <https://doi.org/10.2217/fmb.13.57>
- James, G.A., Swogger, E., Wolcott, R., Pulcini, E., Secor, P., Sestrich, J., Costerton, J.W., & Stewart, P.S. (2008). Biofilms in chronic wounds. *Wound repair and regeneration*, 16(1), 37-44. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2007.00321.x>
- Jann, H., & Pasquini, C. (2005). Wounds of the distal limb complicated by involvement of deep structures. *The Veterinary clinics of North America. Equine practice*, 21(1), 145-65. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2004.11.008>
- Jones, S. (2012). Engineering control in biofilms. *Nature Biotechnology*, 30, 251. <https://doi.org/10.1038/nbt.2162>
- Jørgensen, E., Bjarnsholt, T., & Jacobsen, S. (2021). Biofilm and Equine Limb Wounds. *Animals*, 11(10), 2825. <https://doi.org/10.3390/ani11102825>
- Joyce, J.L. (2007). Injury to synovial structures. *The Veterinary clinics of North America. Equine practice*, 23(1), 103-16. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2006.12.001>
- Junka, A., Bartoszewicz, M., Smutnicka, D., Secewicz, A., & Szymczyk, P. (2014). Efficacy of Antiseptics Containing Povidone-Iodine, Octenidine Dihydrochloride and Ethacridine Lactate against Biofilm Formed by *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* Measured with the Novel Biofilm-Oriented Antiseptics Test. *International Wound Journal*, 11(6), 730-734. <https://doi.org/10.1111/iwj.12057>
- Kaehn, K. (2010). Polihexanide: a safe and highly effective biocide. *Skin pharmacology and physiology, Supl.* 23, 7-16. <https://doi.org/10.1159/000318237>
- Kamaruzzaman, N., Tan, L., Mat, K., Saeed, Sh., Hamdan, R., Choong, S., Wong, W., Chivu, A., & Gibson, A. (2018). Targeting the Bacterial Protective Armour; Challenges and Novel Strategies in the Treatment of Microbial Biofilm. *Materials*, 11(9), 1705. <https://doi.org/10.3390/ma11091705>
- Kamus, L., & Theoret, Ch. (2018). Choosing the Best Approach to Wound Management and Closure. *The Veterinary clinics of North America. Equine practice*, 34(3), 499-509. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2018.07.005>
- Kane, D.P. (2001). Chronic wound healing and chronic wound management. En Krasner, D.L, Rodeheaver, G.T., & Sibbald, R.G. (Eds.), *Chronic Wound Care*. (3ta ed., p.7). Wayne Pa. HMP Communications.
- Käser, H. (2016). *Naturkosmetische Rohstoffe: Wirkung, Verarbeitung, kosmetischer Einsatz*. Ed. Freya Verlag (office@freya.at), Berlin. ISBN 10: 3990250124
- Kaur, B., Gupta, J., Sharma, S., Sharma, D., & Sharma, S. (2021). Focused review on dual inhibition of quorum sensing and efflux pumps: A potential way to combat multi drug resistant *Staphylococcus aureus* infections. *International journal of biological macromolecules*, 190, 33–43. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.08.199>



- Keast, D., Swanson, T., Carville, K., Fletcher, J., Schultz, G., & Black, J. (2014). Ten top tips. Understanding and managing wound biofilm. *Wounds International*, 5, 22-4. <https://www.woundsinternational.com/resources/details/ten-top-tips-understanding-and-managing-wound-biofilm>
- Khatoon, Z. , Christopher D. McTiernan, C.D. , Erik J. Suuronen, E.J., Thien-Fah Mah , & Alarcón, E.I. (2018). Formación de biopelículas bacterianas en dispositivos implantables y enfoques para su tratamiento y prevención. *Heliyon*, 4(12), e01067. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e01067>
- Kim, P.J., Attinger, C.E., Constantine, T., Crist, B.D., Faust, E., Hirche, C.R., Lavery, L.A., Messina, V.J., Ohura, N., Punch, L.J., Wirth, G.A., Younis, I., & Téot, L. (2020). Negative pressure wound therapy with instillation: International consensus guidelines update. *International Wound Journal*, 17(1), 174-186. <https://doi.org/10.1111/iwj.13254>
- King, C.J. (2020). Changing attitudes toward maggot debridement therapy in wound treatment: a review and discussion. *Wound Care*, 29(Sup2c), S28-S34. <https://doi.org/10.12968/jowc.2020.29.Sup2c.S28>
- Klauder, J.V. (1958). Interrelations of human and veterinary medicine: Discussion of some aspects of comparative dermatology. *New England Journal of Medicine*, 258 (4), 170-177. <https://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM195801232580405>
- Knottenbelt, D.C. (2002). *Handbook of Equine Wound Management*. Saunders. Phil. ISBN-13: 978-0702026935.
- Kramer, A., Dissemond, J., Kim, S., Willy, Ch., Mayer, D., Papke, R., Tuchmann, F., & Assadian, O. (2018). Consensus on Wound Antisepsis: Update. *Skin pharmacology and physiology*, 31, 28-58. <https://doi.org/10.1159/000481545>.
- Krasowski, G., Junka, A., Paleczny, J., Czajkowska, J., Makomaska, E., Chodaczek, G., Majkowski, M., Migdał, P., Fijałkowski, K., Kowalska, B., & Bartoszewicz, M. (2021). *In Vitro* Evaluation of Polihexanide, Octenidine and NaClO/HClO-Based Antiseptics against Biofilm Formed by Wound Pathogens. *Membranes*, 11(1), 62. <https://doi.org/10.3390/membranes11010062>.
- Launois, T., Moor, P.L., Berthier, A., Merlin, N., Rieu, F., Schlotterer, C., Siegel, A., Fruit, G., Dugdale, A., & Vandeweerd, J. (2021). Use of negative pressure wound therapy in the treatment of limb wounds: a case series of 42 horses. *Journal of equine veterinary science*, 106, 103725. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103725>
- Lavery, S., Lavoie, J.P., Pascoe, J. R., & Ducharme, N. (1996). Penetrating wounds of the thorax in 15 horses. *Equine veterinary journal*, 28(3), 220–224. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1996.tb03776.x>
- Lee, N., Ko, W., & Hsueh, P. (2019). Nanoparticles in the Treatment of Infections Caused by Multidrug-Resistant Organisms. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 1153. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01153>
- Leaper, D. (2002). *Sharp technique for wound debridement*. World Wide Wounds. <http://www.worldwidewounds.com/2002/december/Leaper/Sharp-Debridement.html>
- Lima, R., Del Fiol, F. S., & Balcão, V. M. (2019). Prospects for the Use of New Technologies to Combat Multidrug-Resistant Bacteria. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 692. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00692>



- Louis, M., Clamens, T., Tahrioui, A., Desriac, F., Rodrigues, S., Rosay, T., Harmer, N., Diaz, S., Barreau, M., Racine, P.J., Kipnis, E., Grandjean, T., Vieillard, J., Bouffartigues, E., Cornelis, P., Chevalier, S., Feuilloley, M.G.J., & Lesouhaitier, O. (2022). *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Dispersion by the Human Atrial Natriuretic Peptide. *Advanced Science*, 9(7), e2103262. <https://doi.org/10.1002/adv.202103262>
- Magee, A.A., Ragle, C.A., & Howlett, M.R. (1997). Use of tenoscopy for management of septic tenosynovitis caused by a penetrating porcupine quill in the synovial sheath surrounding the digital flexor tendons of a horse. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 210(12), 1768–1770. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9187727/>
- Magiorakos, A., Srinivasan, A., Carey, R., Carmeli, Y., Falagas, M., Giske, C., & Monnet, D. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3): 268-281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570>
- Maillard, J., Kampf, G., & Cooper, R. (2021). Antimicrobial stewardship of antiseptics that are pertinent to wounds: the need for a united approach. *JAC-antimicrobial resistance*, 3(1), dlab027. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab027>
- Maliha, M., Brammananth, R., Dyson, J., Coppel, R., Werrett, M., Andrews, P., & Batchelor, W. (2021). Biocompatibility and selective antibacterial activity of a bismuth phosphinato-nanocellulose hydrogel. *Cellulose*, 28, 4701-4718. <https://doi.org/10.1007/s10570-021-03835-5>
- Malone, M., Bjarnsholt, T., McBain, A.J., James, G.A., Stoodley, P., Leaper, D., Tachi, M., Schultz, G., Swanson, T., & Wolcott, R.D. (2017). The prevalence of biofilms in chronic wounds: a systematic review and meta-analysis of published data. *Journal of Wound Care*, 26(1), 20-25. <https://doi.org/10.12968/jowc.2017.26.1.20>
- Malpass, K.G., Snelling, C., & Tron, V. (2003). Comparison of Donor-Site Healing under Xeroform and Jelonet dressings: Unexpected Findings. *Plastic and reconstructive surgery*, 112(2), 430–439. <https://doi.org/10.1097/01.PRS.0000070408.33700.C7>
- Mangkorntongsakul, V., & Oarkley, A. (2019). Wound Cleansers. *DermNet NZ*. <https://dermnetnz.org/topics/wound-cleansers>
- Marchant, R., & Banat, I.M. (2012). Biosurfactants: a sustainable replacement for chemical surfactants? *Biotechnology letters*, 34(9), 1597–1605. <https://doi.org/10.1007/s10529-012-0956-x>
- Margolin, L., & Gialanella, P. (2010). Assessment of the antimicrobial properties of maggots. *International Wound Journal*, 7(3), 202-204. <https://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2010.00234.x>
- McDonnell, G., & Russell, A. (1999). Antiseptics and disinfectants: Activity, action and resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(1), 147-179. <https://doi.org/10.1128/CMR.12.1.147>
- Müller, G., & Kramer, A. (2008). Biocompatibility Index of Antiseptic Agents by Parallel Assessment of Antimicrobial Activity and Cellular Cytotoxicity. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61(6), 1281-1287. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn125.199912>



- Munsterman, A.S., & Reid, R. (2014). Trauma and wound management: gunshot wounds in horses. *The Veterinary clinics of North America. Equine practice*, 30(2), 453–ix. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2014.04.007>
- Münzer, B., & Lubczyk, B. (1992). The ultrasonic diagnosis of foreign bodies in the horse. *Berliner und Munchenertierarztliche Wochenschrift*, 105(12), 397–400. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1492833/>
- Newton, H., Edwards, J., Mitchell, L., & Percival, S.L. (2017). Role of slough and biofilm in delaying healing in chronic wounds. *British journal of nursing (Mark Allen Publishing)*, 26(Sup20a), S4–S11. <https://doi.org/10.12968/bjon.2017.26.Sup20a.S4>
- Norman, G., Dumville, J.C., Mohapatra, D.P., Owens, G.L., & Crosbie, E.J. (2016). Antibiotics and antiseptics for surgical wounds healing by secondary intention. *The Cochrane database of systematic reviews*, 3(3), CD011712. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011712.pub2>
- Nusbaum, A., Gil, J., Rippy, M., Warne, B., Valdes, J., Claro, A., & Davis, S.C. (2012). Effective method to remove wound bacteria: comparison of various debridement modalities in an *in vivo* porcine model. *The Journal of surgical research*, 176(2), 701–707. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2011.11.1040>
- Organización Mundial de la Salud. (2016). *Plan de Acción Mundial sobre la Resistencia a los Antimicrobianos*. <http://www.who.int/antimicrobial-resistance/global-action-plan/es/>
- Organización Mundial de la Salud. (2017). *Lista Organización Mundial de la Salud de patógenos prioritarios para la I+D de nuevos antibióticos*. <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.
- Ortega-Peña, S., & Hernández-Zamora, E. (2018). Biopelículas microbianas y su impacto en áreas médicas: fisiopatología, diagnóstico y tratamiento. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 75(2), 79–88. <https://doi.org/10.24875/BMHIM.M18000012>
- Ospina, M. (2021). Bacterias y súper bacterias ponen en riesgo la salud humana. *Boletín OPS/OMS*. <https://www.paho.org/es/noticias/4-3-2021-bacterias-super-bacterias-ponen-riesgo-salud-humana>
- Ousey, K., & McIntosh, C. (2010). Understanding wound bed preparation and wound debridement. *British journal of community nursing*, 15(3). <https://doi.org/10.12968/bjcn.2010.15.Sup12.S22>
- Ovens, L., & Irving, S. (2018). Advances in wound cleansing: an integrated approach. *Wounds UK*, 14(1), 58-63. <https://www.woundsinternational.com/resources/details/advances-wound-cleansing-integrated-approach>
- Parrilli, E., Tutino, M.L., & Marino, G. (2022). Biofilm as an adaptation strategy to extreme conditions. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*, 33, 527–536. <https://doi.org/10.1007/s12210-022-01083-8>
- Parsek, M. R., & Greenberg, E.P. (2005). Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *Trends in Microbiology*, 13(1), 27-33. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.11.007>
- PASTEUR Act of 2021. S. 2076. 117th Congress (2021). <https://www.congress.gov/bill/117th-congress/senate-bill/2076/text>



- Peloso, J. G., Nickels, F. A., & Stickle, R. L. (1991). What is your diagnosis? Deep fistula with possible foreign body. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 199(7), 923–924. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1769883/>
- Percival, S. L., Chen, R., Mayer, D., & Salisbury, A. (2018). Mode of action of poloxamer-based surfactants in wound care and efficacy on biofilms. *International Wound Journal*, 15(5), 749–755. <https://doi.org/10.1111/iwj.12922>
- Percival, S. L., Finnegan, S., Donelli, G., Vuotto, C., Rimmer, S., & Lipsky, B. A. (2014). Antiseptics for treating infected wounds: Efficacy on biofilms and effect of pH. *Critical Reviews in Microbiology*, 1–17. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2014.940495>
- Percival, S. L., Mayer, D., Kirsner, R. S., Schultz, G., Weir, D., Roy, S., Alavi, A., & Romanelli, M. (2019). Surfactants: Role in biofilm management and cellular behaviour. *International Wound Journal*, 16(3), 753–760. <https://doi.org/10.1111/iwj.13093>
- Percival, S. L., Mayer, D., Malone, M., Swanson, T., Gibson, D., & Schultz, G. (2017). Surfactants and their role in wound cleansing and biofilm management. *Journal of Wound Care*, 26(11), 680–690. <https://doi.org/10.12968/jowc.2017.26.11.680>
- Percival, S. L., & Suleman, L. (2015). Slough and biofilm: Removal of barriers to wound healing by desloughing. *Journal of Wound Care*, 24(11), 498–510. <https://doi.org/10.12968/jowc.2015.24.11.498>
- Percival, S. L., Vuotto, C., Donelli, G., & Lipsky, B. A. (2015). Biofilms and Wounds: An Identification Algorithm and Potential Treatment Options. *Advances in Wound Care*, 4(7), 389–397. <https://doi.org/10.1089/wound.2014.0574>
- Petrova, O., & Sauer, K. (2016). Escaping the biofilm in more than one way: desorption, detachment or dispersion. *Current Opinion in Microbiology*, 30, 67–78. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2016.01.004>
- Pilcher, M. (2016). Wound cleansing: A key player in the implementation of the TIME paradigm. *Journal of Wound Care*, 25(Sup3), S7–S9. <https://doi.org/10.12968/jowc.2016.25.Sup3.S7>
- Pletzer, D., Coleman, S. R., & Hancock, R. E. (2016). Anti-biofilm peptides as a new weapon in antimicrobial warfare. *Current Opinion in Microbiology*, 33, 35–40. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2016.05.016>
- Rademacher, N., Fürst, A., & Kaser-Hotz, B. (2006). Ultrasonographic detection of a wooden foreign body in a horse. *Veterinary Record*, 158(21), 739–740. <https://doi.org/10.1136/vr.158.21.739>
- Rajput, A., Bhamare, K. T., Thakur, A., & Kumar, M. (2022). Biofilm-i: A Platform for Predicting Biofilm Inhibitors Using Quantitative Structure—Relationship (QSAR) Based Regression Models to Curb Antibiotic Resistance. *Molecules*, 27(15), 4861. <https://doi.org/10.3390/molecules27154861>
- Ramón, P., Sati, H., & Galas, M. (2018). Enfoque de Una Salud en las acciones para enfrentar la resistencia a los antimicrobianos desde una óptica latinoamericana. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 35(1), 103. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.351.3605>
- Real Academia Española. (s.f.). Desbridar. *Diccionario de la lengua española* (23a ed.). Recuperado en 18 de noviembre de 2023, de <https://dle.rae.es/desbridar>.



- Rebello, S., Asok, A. K., Mundayoor, S., & Jisha, M.S. (2013). Surfactants: Chemistry, Toxicity and Remediation. En Lichtfouse, E., Schwarzbauer, J., & Robert, D. (Eds.), *Pollutant Diseases, Remediation and Recycling* (277-320). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-02387-8>
- Rezaie, P., Pourhajibagher, M., Chiniforush, N., Hosseini, N., & Bahador, A. (2018). The Effect of Quorum-Sensing and Efflux Pumps Interactions in *Pseudomonas aeruginosa* Against Photooxidative Stress. *Journal of Lasers in Medical Sciences*, 9(3), 161–167. <https://doi.org/10.15171/jlms.2018.30>
- Rodríguez-López, L., López-Prieto, A., Lopez-Álvarez, M., Pérez-Davila, S., Serra, J., González, P., Cruz, J. M., & Moldes, A. B. (2020). Characterization and Cytotoxic Effect of Biosurfactants Obtained from Different Sources. *ACS Omega*, 5(48), 31381–31390. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c04933>
- Rumbaugh, K. P., & Sauer, K. (2020). Biofilm dispersion. *Nature Reviews Microbiology*, 18(10), 571–586. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0385-0>
- Rybtke, M., Hultqvist, L. D., Givskov, M., & Tolker-Nielsen, T. (2015). *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Infections: Community Structure, Antimicrobial Tolerance and Immune Response. *Journal of Molecular Biology*, 427(23), 3628–3645. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.08.016>
- Saeed, K., McLaren, A. C., Schwarz, E. M., Antoci, V., Arnold, W. V., Chen, A. F., Clauss, M., Esteban, J., Gant, V., Hendershot, E., Hickok, N., Higuera, C. A., Coraça-Huber, D. C., Choe, H., Jennings, J. A., Joshi, M., Li, W. T., Noble, P. C., Phillips, K. S., ... Witsø, E. (2019). 2018 international consensus meeting on musculoskeletal infection: Summary from the biofilm workgroup and consensus on biofilm related musculoskeletal infections. *Journal of Orthopaedic Research*, 37(5), 1007–1017. <https://doi.org/10.1002/jor.24229>
- Sánchez-Gómez, S., Ferrer-Espada, R., Stewart, P. S., Pitts, B., Lohner, K., & Martínez De Tejada, G. (2015). Antimicrobial activity of synthetic cationic peptides and lipopeptides derived from human lactoferricin against *Pseudomonas aeruginosa* planktonic cultures and biofilms. *BMC Microbiology*, 15(1), 137. <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0473-x>
- Sanidad Gobierno Español (2022). *Campaña para uso responsable de antibióticos*. <https://antibioticos.sanidad.gob.es/ne-health-una-solageneral-bacterias.htm>
- Scalise, A., Bianchi, A., Tartaglione, C., Bolletta, E., Pierangeli, M., Torresetti, M., Marazzi, M., & Di Benedetto, G. (2015). Microenvironment and microbiology of skin wounds: The role of bacterial biofilms and related factors. *Seminars in Vascular Surgery*, 28(3–4), 151–159. <https://doi.org/10.1053/j.semvascsurg.2016.01.003>
- Schultz, G. S., Barillo, D. J., Mazingo, D. W., & Chin, G. A. (2004). Wound bed preparation and a brief history of TIME. *International Wound Journal*, 1(1), 19–32. <https://doi.org/10.1111/j.1742-481x.2004.00008.x>
- Schultz, G. S., Bjarnsholt, T., James, G. A., Leaper, D. J., McBain, A. J., Malone, M., Stoodley, P., Swanson, T., Tachi, M., Wolcott, R. D., & for the Global Wound Biofilm Expert Panel. (2017). Consensus guidelines for the identification and treatment of biofilms in chronic nonhealing wounds. *Wound Repair and Regeneration*, 25(5), 744–757. <https://doi.org/10.1111/wrr.12590>



- Schultz, G. S., Sibbald, R. G., Falanga, V., Ayello, E. A., Dowsett, C., Harding, K., Romanelli, M., Stacey, M. C., Teot, L., & Vanscheidt, W. (2003). Wound bed preparation: A systematic approach to wound management. *Wound Repair and Regeneration*, 11(s1). <https://doi.org/10.1046/j.1524-475X.11.s2.1.x>
- Schultz, G. S., Woo, K., Weir, D., & Yang, Q. (2018). Effectiveness of a monofilament wound debridement pad at removing biofilm and slough: *Ex vivo* and clinical performance. *Journal of Wound Care*, 27(2), 80–90. <https://doi.org/10.12968/jowc.2018.27.2.80>
- Schumacher, J. (2019). Testis. En Auer, Kummerle, & Prange (Eds.), *Equine Surgery* (5ta ed., pp. 994–1034). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-48420-6.00060-0>
- Serena, T. E., Bayliff, S. W., & Brosnan, P. J. (2022). Bacterial protease activity: A prognostic biomarker of early wound infection. *Journal of Wound Care*, 31(4), 352–355. <https://doi.org/10.12968/jowc.2022.31.4.352>
- Serena, T. E., Bayliff, S. W., Brosnan, P. J., DiMarco, D. T., Doner, B. A., Guthrie, D. A., Patel, K. D., Sabo, M. J., Samies, J. H., & Carter, M. J. (2021). Bacterial protease activity as a biomarker to assess the risk of non-healing in chronic wounds: Results from a multicentre prospective cohort clinical trial. *Wound Repair and Regeneration*, 29(5), 752–758. <https://doi.org/10.1111/wrr.12941>
- Serena, T., Parnall, L. K. S., Knox, C., Vargo, J., Oliver, A., Merry, S., Klugh, A., Bubar, N., Anderson, N., Rieman, L., Walnoha, W., Smith, H., & Rice, S. (2007). Bismuth Subgallate/Borneol (Suile) Is Superior to Bacitracin in the Human Forearm Biopsy Model for Acute Wound Healing. *Advances in Skin & Wound Care*, 20(9), 485–492. <https://doi.org/10.1097/01.ASW.0000288208.85807.b8>
- Shaikh, S., Nazam, N., Rizvi, S. M. D., Ahmad, K., Baig, M. H., Lee, E. J., & Choi, I. (2019). Mechanistic Insights into the Antimicrobial Actions of Metallic Nanoparticles and Their Implications for Multidrug Resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10), 2468. <https://doi.org/10.3390/ijms20102468>
- Sherman, R. A. (2014). Mechanisms of Maggot-Induced Wound Healing: What Do We Know, and Where Do We Go from Here? *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2014/592419>
- Short, B., Bakri, A., Baz, A., Williams, C., Brown, J., & Ramage, G. (2023). There Is More to Wounds than Bacteria: Fungal Biofilms in Chronic Wounds. *Current Clinical Microbiology Reports*, 10(1), 9–16. <https://doi.org/10.1007/s40588-022-00187-x>
- Silhavy, T. J., Kahne, D., & Walker, S. (2010). The Bacterial Cell Envelope. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(5), a000414–a000414. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000414>
- Singh, A., Van Hamme, J. D., & Ward, O. P. (2007). Surfactants in microbiology and biotechnology: Part 2. Application aspects. *Biotechnology Advances*, 25(1), 99–121. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.10.004>
- Singh, R., Ray, P., Das, A., & Sharma, M. (2010). Penetration of antibiotics through *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(9), 1955–1958. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq257>



- Sionov, R. V., & Steinberg, D. (2022). Targeting the Holy Triangle of Quorum Sensing, Biofilm Formation, and Antibiotic Resistance in Pathogenic Bacteria. *Microorganisms*, 10(6), 1239. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061239>
- Smith, A. G., Powis, R. A., Pritchard, D. I., & Britland, S. T. (2006). Greenbottle (*Lucilia sericata*) Larval Secretions Delivered from a Prototype Hydrogel Wound Dressing Accelerate the Closure of Model Wounds. *Biotechnology Progress*, 22(6), 1690–1696. <https://doi.org/10.1021/bp0601600>
- Soriano-García, F. (2010). Aspectos farmacocinéticos y farmacodinámicos para la lectura interpretada del antibiograma. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(7), 461–466. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2010.02.005>
- Soto, S. M. (2013). Role of efflux pumps in the antibiotic resistance of bacteria embedded in a biofilm. *Virulence*, 4(3), 223–229. <https://doi.org/10.4161/viru.23724>
- Stashak, T. S., Farstvedt, E., & Othic, A. (2004). Update on wound dressings: Indications and best use. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 3(2), 148–163. <https://doi.org/10.1053/j.ctep.2004.08.006>
- Steed, D. L. (2004). Debridement. *The American Journal of Surgery*, 187(5), S71–S74. [https://doi.org/10.1016/S0002-9610\(03\)00307-6](https://doi.org/10.1016/S0002-9610(03)00307-6)
- Steen Voorde, P., & Jukema, G. N. (2004). The antimicrobial activity of maggots: In-vivo results. *Journal of Tissue Viability*, 14(3), 97–101. [https://doi.org/10.1016/S0965-206X\(04\)43005-8](https://doi.org/10.1016/S0965-206X(04)43005-8)
- Stewart, P. S. (2002). Mechanisms of antibiotic resistance in bacterial biofilms. *International Journal of Medical Microbiology*, 292(2), 107–113. <https://doi.org/10.1078/1438-4221-00196>
- Stewart, S., & Richardson, D. W. (2019). Surgical Site Infection and the Use of Antimicrobials. En Auer, Kummerle, & Prange (Eds.), *Equine Surgery* (5ta ed., pp. 77–103). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-48420-6.00007-7>
- Stick, J. A., & Prange, T. (2019a). Integumentary System. En Auer, Kummerle, & Prange (Eds.), *Equine Surgery* (5ta ed., pp. 367–439). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2015-0-05672-6>
- Stick, J. A., & Prange, T. (2019b). Surgical Biology. En Auer, Kummerle, & Prange (Eds.), *Equine Surgery* (5ta ed., pp. 1–122). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2015-0-05672-6>
- Sun, M., Zhou, Z., Dong, J., Zhang, J., Xia, Y., & Shu, R. (2016). Antibacterial and antibiofilm activities of docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA) against periodontopathic bacteria. *Microbial Pathogenesis*, 99, 196–203. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.08.025>
- Taconelli, E., & Pezzani, M. D. (2019). Public health burden of antimicrobial resistance in Europe. *The Lancet Infectious Diseases*, 19(1), 4–6. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30648-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30648-0)
- Tamma, P. D., Cosgrove, S. E., & Maragakis, L. L. (2012). Combination Therapy for Treatment of Infections with Gram-Negative Bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(3), 450–470. <https://doi.org/10.1128/CMR.05041-11>
- Theoret, C. L. (2005). The pathophysiology of wound repair. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 21(1), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2004.11.001>



- Theoret, C. L., & Stashak, T. S. (2014). Integumentary System. En *Equine Emergencies* (4ta ed., pp. 238–267). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0892-5.00019-2>
- Theoret, C., & Schumacher, J. (Eds.). (2016). *Equine Wound Management* (1ra ed.). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118999219.fmatter>
- Tolker-Nielsen, T. (2014). *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections: From molecular biofilm biology to new treatment possibilities. *APMIS*, 122(s138), 1–51. <https://doi.org/10.1111/apm.12335>
- Tolker-Nielsen, T. (2015). Biofilm Development. *Microbiology Spectrum*, 3(2), 3.2.21. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MB-0001-2014>
- Treepong, P., Kos, V. N., Guyeux, C., Blanc, D. S., Bertrand, X., Valot, B., & Hocquet, D. (2018). Global emergence of the widespread *Pseudomonas aeruginosa* ST235 clone. *Clinical Microbiology and Infection*, 24(3), 258–266. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.06.018>
- Tremblay, Y. D. N., Hathroubi, S., & Jacques, M. (2014). Bacterial biofilms: Their importance in animal health and public health. *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue Canadienne De Recherche Veterinaire*, 78(2), 110–116.
- Uldahl, M., & Clayton, H. M. (2019). Lesions associated with the use of bits, nosebands, spurs and whips in Danish competition horses. *Equine Veterinary Journal*, 51(2), 154–162. <https://doi.org/10.1111/evj.12827>
- Vallet-Regí, M., González, B., & Izquierdo-Barba, I. (2019). Nanomaterials as Promising Alternative in the Infection Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(15), 3806. <https://doi.org/10.3390/ijms20153806>
- Van Hamme, J. D., Singh, A., & Ward, O. P. (2006). Physiological aspects. *Biotechnology Advances*, 24(6), 604–620. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.08.001>
- Vanegas, J. M., & Jiménez, J. N. (2020). Resistencia antimicrobiana en el siglo XXI: ¿hacia una era postantibiótica? *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 38(1), 1–6. <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v38n1e337759>
- Vatistas, N. J., Meagher, D. M., Gillis, C. L., & Neves, J. W. (1995). Gunshot injuries in horses: 22 cases (1971-1993). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 207(9), 1198–1200.
- Vermeulen, H., Van Hattem, J. M., Storm-Versloot, M. N., Ubbink, D. T., & Westerbos, S. J. (2007). Topical silver for treating infected wounds. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005486.pub2>
- Vert, M., Doi, Y., Hellwich, K.-H., Hess, M., Hodge, P., Kubisa, P., Rinaudo, M., & Schué, F. (2012). Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). *Pure and Applied Chemistry*, 84(2), 377–410. <https://doi.org/10.1351/PAC-REC-10-12-04>
- Wang, L., Hu, C., & Shao, L. (2017). The antimicrobial activity of nanoparticles: Present situation and prospects for the future. *International Journal of Nanomedicine*, Volume 12, 1227–1249. <https://doi.org/10.2147/IJN.S121956>



- Wei, D., Zhu, X.-M., Chen, Y.-Y., Li, X.-Y., Chen, Y.-P., Liu, H.-Y., & Zhang, M. (2019). Chronic wound biofilms: Diagnosis and therapeutic strategies. *Chinese Medical Journal*, 132(22), 2737–2744. <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000000523>
- Weigelt, M. A., McNamara, S. A., Sanchez, D., Hirt, P. A., & Kirsner, R. S. (2021). Evidence-Based Review of Antibiofilm Agents for Wound Care. *Advances in Wound Care*, 10(1), 13–23. <https://doi.org/10.1089/wound.2020.1193>
- Westall, F., De Wit, M. J., Dann, J., Van Der Gaast, S., De Ronde, C. E. J., & Gerneke, D. (2001). Early Archean fossil bacteria and biofilms in hydrothermally-influenced sediments from the Barberton greenstone belt, South Africa. *Precambrian Research*, 106(1–2), 93–116. [https://doi.org/10.1016/S0301-9268\(00\)00127-3](https://doi.org/10.1016/S0301-9268(00)00127-3)
- Westgate, S. J., Percival, S. L., Knottenbelt, D. C., Clegg, P. D., & Cochrane, C. A. (2011). Microbiology of equine wounds and evidence of bacterial biofilms. *Veterinary Microbiology*, 150(1–2), 152–159. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.01.003>
- Whitaker, I. S., Twine, C., Whitaker, M. J., Welck, M., Brown, C. S., & Shandall, A. (2007). Larval therapy from antiquity to the present day: Mechanisms of action, clinical applications and future potential. *Postgraduate Medical Journal*, 83(980), 409–413. <https://doi.org/10.1136/pgmj.2006.055905>
- Wild, T., Wiegand, C., & Kamolz, L. (2016). *Clinical Practice. Use of bismuth in wound care: Review and case report*. 7(3), 34–39.
- Wolcott, R. D., & Cox, S. (2013). More effective cell-based therapy through biofilm suppression. *Journal of Wound Care*, 22(Sup1), S26–S30. <https://doi.org/10.12968/jowc.2013.22.Sup1.S26>
- Wolcott, R. D., & Fletcher, J. (2014). *The role of wound cleansing in the management of wounds*. 5(3), 25–31.
- Wolcott, R. D., Rumbaugh, K. P., James, G., Schultz, G., Phillips, P., Yang, Q., Watters, C., Stewart, P. S., & Dowd, S. E. (2010). Biofilm maturity studies indicate sharp debridement opens a time-dependent therapeutic window. *Journal of Wound Care*, 19(8), 320–328. <https://doi.org/10.12968/jowc.2010.19.8.77709>
- Wolfram, J., Zhu, M., Yang, Y., Shen, J., Gentile, E., Paolino, D., Fresta, M., Nie, G., Chen, C., Shen, H., Ferrari, M., & Zhao, Y. (2015). Safety of Nanoparticles in Medicine. *Current Drug Targets*, 16(14), 1671–1681. <https://doi.org/10.2174/1389450115666140804124808>
- Wu, Y.-K., Cheng, N.-C., & Cheng, C.-M. (2019). Biofilms in Chronic Wounds: Pathogenesis and Diagnosis. *Trends in Biotechnology*, 37(5), 505–517. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.10.011>
- Yang, Q., Larose, C., Della Porta, A. C., Schultz, G. S., & Gibson, D. J. (2017). A surfactant-based wound dressing can reduce bacterial biofilms in a porcine skin explant model. *International Wound Journal*, 14(2), 408–413. <https://doi.org/10.1111/iwj.12619>
- Yang, Q., Phillips, P. L., Sampson, E. M., Progulske-Fox, A., Jin, S., Antonelli, P., & Schultz, G. S. (2013). Development of a novel ex vivo porcine skin explant model for the assessment of mature bacterial biofilms. *Wound Repair and Regeneration*, 21(5), 704–714. <https://doi.org/10.1111/wrr.12074>



- Zhao, G., Usui, M. L., Underwood, R. A., Singh, P. K., James, G. A., Stewart, P. S., Fleckman, P., & Olerud, J. E. (2012). Time course study of delayed wound healing in a biofilm-challenged diabetic mouse model. *Wound Repair and Regeneration*, 20(3), 342–352. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2012.00793.x>
- Zoutman, D., McDonald, S., & Vethanayagan, D. (1998). Total and Attributable Costs of Surgical-Wound Infections at a Canadian Tertiary-Care Center. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 19(4), 254–259. <https://doi.org/10.1086/647804>
- Zumbado, R., Barquero, A., & Hidalgo Mora, O. (2022). Resistencia a los antibióticos: Una Revisión Bibliográfica. *Revista Ciencia y Salud Integrando Conocimientos*, 6(3), 145–153. <https://doi.org/10.34192/cienciaysalud.v6i3.500>
- Zunino, P. (2018). Historia y perspectivas del enfoque “Una Salud.” *Veterinaria (Montevideo)*, 54(210), 46–51. <https://doi.org/10.29155/VET.54.210.8>

