

Artículo de revisión

Interferencia de las biopelículas en el proceso de curación de heridas

Laura Estela Castrillón Rivera,* Alejandro Palma Ramos,* María del Carmen Padilla Desgarenes**

RESUMEN

El daño de la piel por heridas o traumatismos induce un proceso de curación; sin embargo, si el tejido subcutáneo –que normalmente es estéril– se expone, puede ser colonizado e infectado por la flora normal cutánea o ambiental, lo que complica el proceso integral de curación de las heridas y, ocasionalmente, puede favorecer la diseminación generalizada. Recientemente se demostró que las biopelículas son la barrera principal para retrasar la cicatrización de las heridas; por esta razón, es importante establecer estrategias para evitar y controlar la formación de este tipo de asociaciones microbianas.

Palabras clave: biopelículas, heridas, curación de heridas.

ABSTRACT

The skin damage due to injury or trauma induces a healing process, however, with exposure of subcutaneous tissue that usually is sterile, it can be colonized and infected by normal skin flora or environmental, which complicates the whole process of wound healing and may occasionally promote widespread dissemination. It has been recently shown that biofilms are the main barrier to delay wound healing, for this reason it is important to establish strategies to prevent and control the formation of such microbial associations.

Key words: biofilms, wounds, wound healing.

La cicatrización de las heridas comienza cuando se pierde la integridad de la piel, es un proceso de reparación que conduce a regenerar el epitelio y a reemplazar la dermis con un tejido fibroso constituido por colágeno.

El proceso de curación de las heridas es un proceso complejo, activo, dinámico e involuntario, que independientemente del tipo de curación que se trate y de su extensión sigue diferentes fases que no pueden disociarse unas de otras:^{1,2}

En la fase inflamatoria o exudativa ocurre la hemostasia y limpieza de la herida. La fibrina y fibronectina se entrelazan y forman un coágulo, que atrapa proteínas y partículas, con lo cual se previene la pérdida sanguínea; esta fase se divide en fase proliferativa y fase de remodelación.

Fase proliferativa: induce la formación de tejido de granulación y se distingue por angiogénesis, depósito de colágeno, epitelización y contracción de la herida.

Fase de remodelación: ocurre la remodelación y realineación de colágeno a lo largo de las líneas de tensión de la piel.

La representación esquemática de la cascada de eventos bioquímicos y celulares que son activados durante estas fases se expone en la Figura 1.

Inflamación: cuando los vasos sanguíneos se rompen, ocurre una vasoconstricción y, en seguida, un proceso de vasodilatación persistente; la exposición de la matriz extracelular permite que se adhieran las plaquetas y que se liberen los componentes de sus gránulos, lo que activa las vías de coagulación y la quimiotaxis de los polimorfonucleares. En consecuencia, se forma un coágulo de fibrina –que interacciona con la fibronectina de la matriz extracelular– y llegan diferentes células, como los neutrófilos, que liberan radicales libres, limpian la herida, secretan proteasas, sufren apoptosis y son fagocitados por

* Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, México, DF.

** Centro Dermatológico Ladislao de la Pascua, Secretaría de Salud, México, DF.

Correspondencia: Dra. Laura Estela Castrillón Rivera. Laboratorio de Inmunología, Edificio N, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, Calzada del Hueso 1100, colonia Villa Quietud, CP 04960, México, DF. Correo electrónico: lcrivera@correo.xoc.uam.mx
Recibido: enero, 2011. Aceptado: febrero, 2011.

Este artículo debe citarse como: Castrillón-Rivera LE, Palma-Ramos A, Padilla-Desgarenes MC. Interferencia de las biopelículas en el proceso de curación de heridas. *Dermatol Rev Mex* 2011;55(3):127-139.

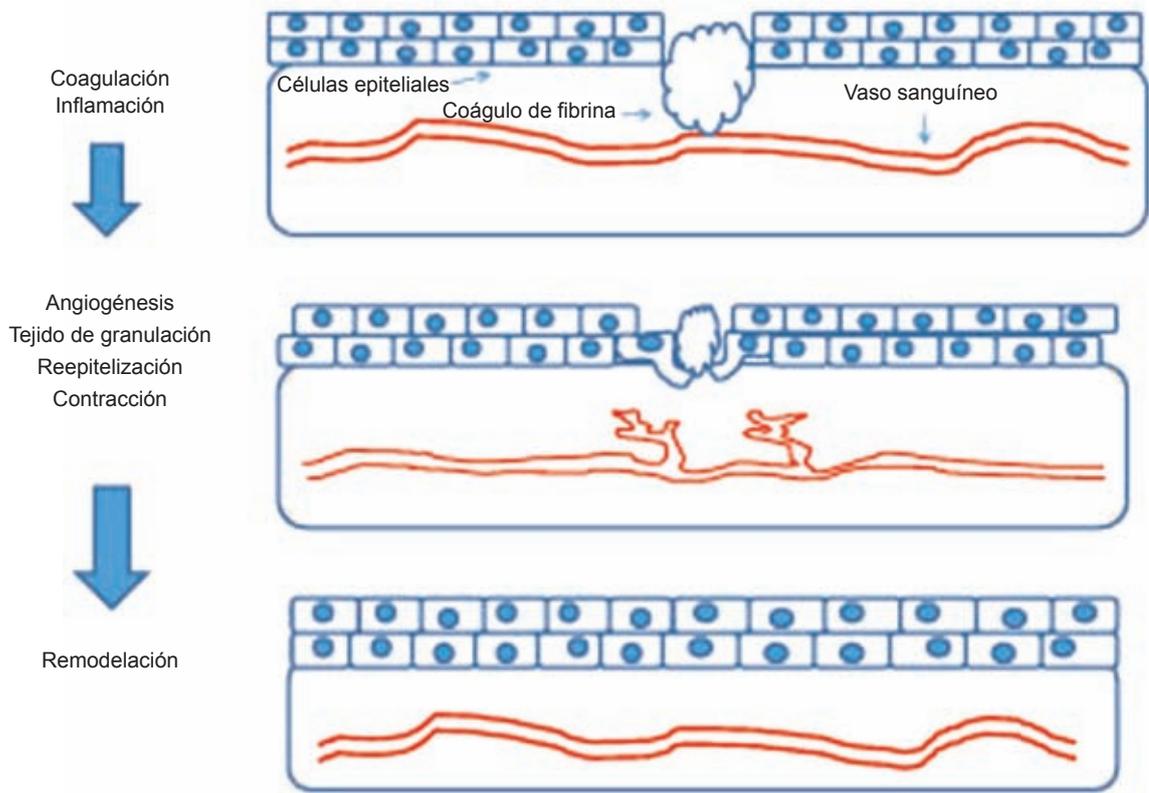


Figura 1. Fases esquemáticas del proceso de reparación. Una vez que se produce una herida, se inicia el proceso de coagulación e inflamación, del que se forma un coágulo de fibrina, el cual sufre lisis y es reemplazado por tejido de granulación y, posteriormente, por colágeno.

los macrófagos, que reemplazan a los polimorfonucleares después de dos días de ocurrido el traumatismo. Los macrófagos, que son estimulados por hipoxia, producen factores angiogénicos y secretan factores de crecimiento para fibroblastos y células endoteliales, así como citocinas, con lo cual favorecen la creación de tejido de granulación.

Angiogénesis: la neoformación vascular se debe a la hipoxia y a un conjunto redundante de citocinas, factores de crecimiento y lípidos producidos por macrófagos y células endoteliales activadas. La unión de estos factores con las cadenas de glucosaminoglucanos de la matriz extracelular es un proceso esencial para la angiogénesis. Este proceso requiere que las células endoteliales de los vasos sanguíneos lesionados desarrollen pseudópodos y avancen a través de la matriz extracelular de la herida. La gemación de células endoteliales se produce a partir de vénulas precapilares preexistentes, que son las responsables

del aspecto granular de este tejido. Los nuevos capilares que no hayan madurado sufren apoptosis endotelial.

Tejido de granulación: es un tejido vascular, edematoso, insensible y resistente a la infección. Tiene más capilares por unidad de volumen que cualquier otro tejido, por lo que luce típicamente rojo (eritematoso). Está compuesto de células inflamatorias, fibroblastos, nueva vasculatura en una matriz hidratada de glucoproteínas, glucosaminoglucanos y colágeno. Es un sistema de reparación transitorio y especializado que se produce donde y cuando se necesita; tiene un aspecto brillante y empedrado en cuyo inicio se observa una mezcla de fibroblastos y células epidérmicas, seguida de capilares rodeados de fibroblastos y células inflamatorias. Hay monocitos y macrófagos que son una fuente importante de factores de crecimiento. En este tejido la matriz extracelular (transitoria) contiene proteoglucanos y glucoproteínas, y el colágeno tipo III predomina en con-

traste con la cicatriz normal, en la que los tipos de colágeno presentes son el I –que predomina– y el II.

En las fases tempranas de formación de tejido de granulación aparece el ácido hialurónico como componente mayoritario, que en estados tardíos es reemplazado por una variedad de proteoglicanos sulfatados, como condroitín, dermatán y heparán. A medida que avanza el proceso de reparación es esencial la disminución de la anoxia para detenerlo y para disminuir el recambio de la matriz extracelular.

Reepitelización: las células epiteliales avanzan lentamente a través del lecho de la herida, la cubren y forman una barrera entre la herida y el medio ambiente. Para la remoción de la epidermis se requiere mitosis de células de la capa basal, y una vez que éstas maduran, las células escamosas se cornifican, queratinizan y –finalmente– se descaman. Para que esto ocurra, la capa de células basales debe estar intacta y en contacto con la membrana basal, y una vez que se establece la continuidad epitelial, la epidermis reanuda su ciclo normal de maduración y descamación.

Contracción: los fibroblastos se diferencian en miofibroblastos, los cuales son atraídos por la fibronectina de la matriz extracelular para alcanzar los bordes de la herida. Se forman múltiples conexiones con la matriz y con los miofibroblastos a través de los desmosomas, lo que permite traccionar a la matriz –cuando hay contracción– y reducir el tamaño de la herida de 40 a 80%.

Remodelación: corresponde a las últimas fases del proceso de reparación, en las que disminuyen las células inflamatorias y se completa la formación de capilares; implica el restablecimiento del equilibrio entre el depósito y la degradación de colágeno. Los vasos sanguíneos se pierden y el colágeno se remodela y realinea a lo largo de las líneas de tensión de la piel. Las nuevas fibras son más cortas y desorganizadas, por lo que la cicatriz nunca llegará a tener la misma fuerza tensora de la piel normal.

En este año (2011) se definió el término de *reciprocidad dinámica*, que corresponde a la interacción bidireccional entre las células y el microambiente que las rodea,³ y se estableció que las respuestas bioquímicas y celulares desempeñan una función pivote para modular las respuestas regeneradoras de tejido, como las interacciones célula-matriz extracelular, las cuales regulan diferentes procesos, como la morfología celular, la diferenciación, la proliferación y la supervivencia durante el desarrollo tisular. Por esta razón, la reciprocidad dinámica tiene un

significado especial durante la curación de las heridas. Estas interacciones cambian constantemente en respuesta al microambiente; además, establecen a la matriz extracelular como un elemento de señalización más que un andamio inerte para el soporte de las células.

Para entender integralmente el proceso de regeneración y reparación tisular, deben sumarse las interacciones célula-matriz extracelular, las señales adhesivas, las señales paracrinas (factores de crecimiento derivados de células vecinas) y las señales sistémicas. Con esta visión se propone que existen algunos procesos biológicos que pueden dar una posible explicación para entender la dificultad de curación de las heridas, como proteasas elevadas, interruptor de integrinas y formación de biopelículas. Por tanto, la interrupción de la secuencia de cicatrización o los defectos en las etapas tempranas de curación de las heridas pueden evitar el cierre adecuado de las mismas.

COLONIZACIÓN DE HERIDAS

Se acepta generalmente que las heridas están colonizadas; además, no es realista que las heridas se mantengan estériles.⁴ Desde 1964 se determinó la importancia de la carga microbiana en la curación de las heridas contaminadas,⁵ y una concentración bacteriana mayor de 10^5 ufc/g de tejido permite reconocerlas como infectadas.⁶ Las heridas representan un ambiente idóneo para el crecimiento bacteriano, porque son húmedas y tibias y porque casi todas están colonizadas; sin embargo, no son necesariamente un ambiente idóneo para que ocurra una infección. El origen de la existencia de bacterias en las heridas es complejo y es comprendido parcialmente. El cierre adecuado de una herida contaminada y la obtención de una cubierta cutánea funcional es un proceso difícil de obtener por las influencias multifactoriales que intervienen.⁷

En individuos con un sistema inmunitario intacto las bacterias pueden colonizar sin que la herida cause dolor; en cambio, las heridas que no sanan se asocian a menudo con pacientes inmunodeficientes –como los ancianos o debilitados por otras afecciones–, cuya respuesta inflamatoria está deteriorada, por lo que las heridas pueden amenazar su vida. Por tanto, la infección depende no sólo de la capacidad de la bacteria para causarla, sino también de la capacidad del hospedero para prevenirla.

La colonización de la herida equivale a un número limitado de bacterias, que están presentes sin afectar el proceso

de curación de la herida. Para comprender el origen de la existencia de microorganismos en las heridas y su posible interferencia en el proceso de curación de éstas se ha usado el término de *colonización crítica* o *infección local*, que se refiere al estado entre la colonización normal, que no retrasa la curación, y la infección, que sí afecta claramente la curación.^{8,9} La colonización crítica es un estado en el que las defensas del hospedero son incapaces de mantener un equilibrio saludable y en el que el número de bacterias retrasa la curación, pero sin causar las clásicas reacciones inflamatorias. La colonización crítica está marcada por la ausencia de síntomas más que por la existencia de éstos.¹⁰ Este concepto debe verse como parte del proceso continuo que abarca desde la contaminación hasta la infección; además, ofrece una explicación coherente para la curación de las heridas de muchos pacientes, así como un marco para la administración apropiada de antibacterianos (Figura 2).

La existencia de bacterias no equivale a infección; para diferenciar entre la colonización y la infección es necesario determinar los signos de la herida infectada, como las manifestaciones de inflamación en el borde (tumor, rubor y calor), aumento de dolor, drenaje purulento excesivo, olor fétido y rompimiento de la herida. Otros criterios son: tejido de granulación friable, decoloración, baja presión de oxígeno transcutáneo ($tcPO_2$), tejido necrótico o –simplemente– falta de curación.

Si en una herida existe una concentración bacteriana menor de 10^5 ufc/g de tejido, la herida únicamente se encuentra colonizada; si la concentración es mayor que este valor, la herida se encuentra infectada,¹¹ aunque esto puede ser debatible, ya que depende del tipo de microbio presente y de la interacción entre éste y el hospedero. En las heridas agudas las bacterias son destruidas rápidamente o inactivadas por los neutrófilos, anticuerpos y son culti-

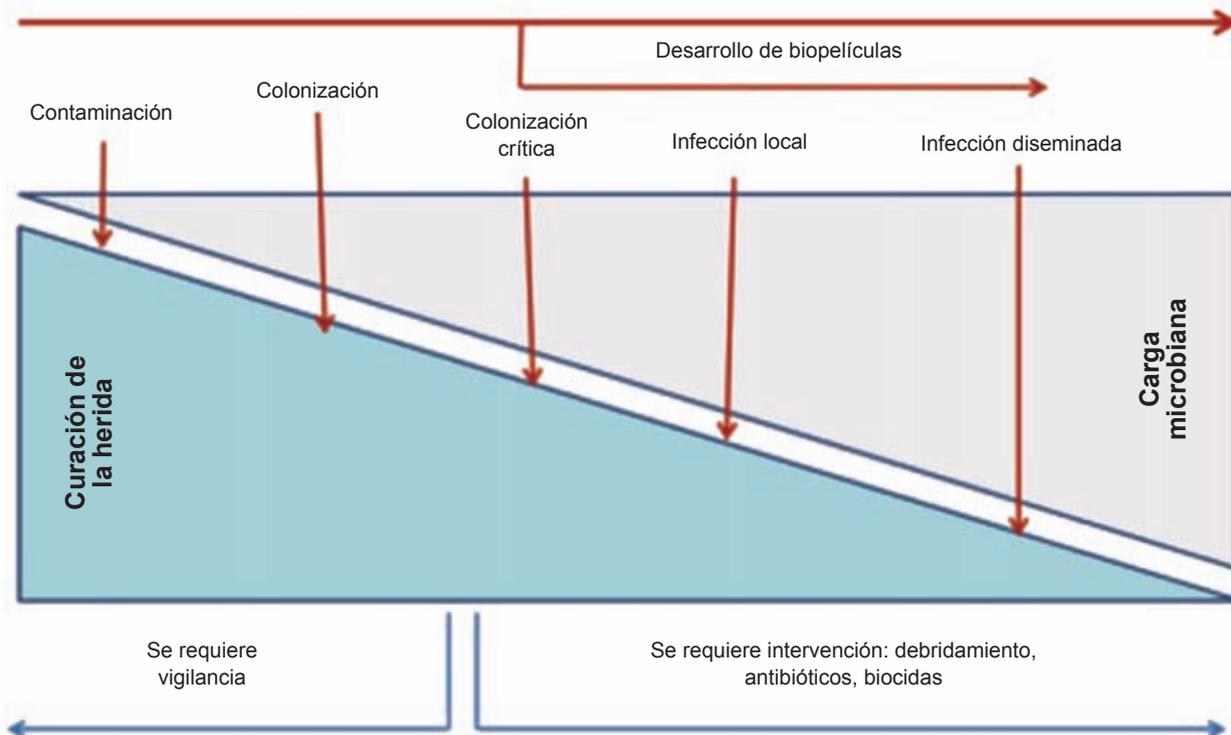


Figura 2. Curso de la infección. La progresión de la infección en las heridas se inicia por colonización, seguida de la colonización crítica y de la infección, que puede diseminarse si no es controlada. Las biopelículas en las heridas crónicas retrasan la curación de la herida.

vadas e identificadas fácilmente; las heridas crónicas son, por su naturaleza, resistentes al tratamiento.¹²

La determinación total de la densidad microbiana en una herida es muy subjetiva, ya que en biopsias únicas de tejido se ha demostrado que las cuentas microbianas son variables y que los números tienen un valor limitado para predecir el tiempo óptimo requerido para que cierre una herida.¹³ Además, a la fecha no hay un estudio estadísticamente significativo que en heridas crónicas muestre la relación entre el resultado clínico y la composición microbiana.

MICROBIOLOGÍA DE LAS HERIDAS

La función de los microorganismos en la patogénesis de las heridas crónicas sin curación aún no es clara; para entenderla debe definirse el espectro de la población microbiana que se encuentre en la herida. La microbiota de las heridas es significativamente diferente de la que se encuentra en la piel normal;¹⁴ se manifiesta como una comunidad polimicrobiana diversa, con una mezcla de microorganismos aerobios y anaerobios.¹⁵ La microflora de heridas crónicas es más complicada de lo que se creía, y esto se debe a que al asociarse forma biopelículas y a que hay problemas con su erradicación, y muchas heridas son infectadas repetidamente por el mismo microorganismo.¹⁶

Las principales bacterias que colonizan las úlceras crónicas son: *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Peptoniphilus*, *Enterobacter*, *Stenotrophomonas*, *Fingoldia* y *Serratia*.¹⁷⁻²⁰ Otros estudios demostraron diferencias en las poblaciones encontradas en cada tipo de herida y señalan las limitaciones de las técnicas convencionales de cultivo y sobreestiman la diversidad de las heridas. El consenso es que los patógenos comunes que retrasan la curación de las heridas crónicas son: *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *Streptococcus*- β hemolítico.

La experiencia en el cultivo de microorganismos provenientes de las heridas señala que es difícil aislar e identificar anaerobios y bacterias de lento crecimiento cuando se usan técnicas convencionales. Además, las técnicas de cultivo estandarizadas funcionan para bacterias planctónicas (libres) y las bacterias unidas directamente a las superficies o con fenotipo de biopelícula no se logran aislar e identificar; sin embargo, se ha reportado que 1% de las bacterias crecen en cultivo cuando se aplican técnicas de genómica molecular. Al combinar estos métodos, se

ha determinado que existe una amplia variedad de microorganismos en las heridas crónicas; en promedio, existen 5.4 especies diferentes en cada herida.²¹

Ha sido difícil establecer qué función tienen los microorganismos en las heridas, así como comprobar cuáles son dañinos y afectan la curación y cuáles son colonizadores benignos que facilitan el cierre de las heridas. Se ha sugerido que algunos comensales de biopelículas pueden prevenir la colonización de patógenos;²² en contraste, se ha encontrado que los tejidos dérmicos profundos de todas las heridas crónicas abrigan múltiples especies bacterianas, y más de la mitad son *P. aeruginosa*, la cual retrasa la curación de las heridas.²³

Como resultado de la proliferación de microorganismos en la herida, la elevada carga microbiana induce que en la herida y alrededor de ésta existan leucocitos polimorfonucleares, lo que ocasiona la liberación sostenida de enzimas citotóxicas, metaloproteinasas de matriz y radicales libres de oxígeno; estos agentes degradan la matriz extracelular e inhiben la migración celular epitelial, con lo cual impiden el cierre de la herida.

BIOPELÍCULAS

Bajo condiciones de abundancia nutricional y sin estrés químico o físico, una bacteria prolifera a su máxima tasa de crecimiento como bacteria planctónica (libre); sin embargo, si la bacteria detecta cualquier estrés nutricional o ambiental y si se encuentra en una superficie acondicionada con moléculas orgánicas, se une irreversiblemente a éstas y ocurre un cambio radical en el fenotipo de la bacteria.⁹ Expresa nuevas proteínas, adquiere el fenotipo de biopelícula, libera moléculas de señalización conocidas como *quorum sensing* y comienza a secretar una sustancia polimérica extracelular (o matriz) compuesta por polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, que actúan como una especie de goma que hace que las bacterias sésiles (adheridas) se unan fuertemente a la superficie, con lo cual se forman microcolonias estructuradas conocidas como "biopelícula". Esta matriz permite la interconexión de las células inmovilizadas y actúa como un sistema digestivo externo que mantiene a las enzimas extracelulares cercanas a las células y que las capacita para que metabolicen biopolímeros sólidos y coloidales.^{24,25}

Las células de la base de la biopelícula son metabólicamente inactivas y permanecen en ambientes hostiles; en

la parte media de esta estructura se regula la síntesis de ADN, que permite la transferencia horizontal de genes y la diversidad genética en la biopelícula. En la superficie se encuentran las células metabólicamente activas, que pueden dispersarse en el ambiente y unirse a otras superficies.²⁶⁻²⁸ Durante su fase de dispersión las biopelículas liberan constantemente células planctónicas, las cuales pueden causar infección porque están a merced de agentes antibacterianos y del sistema inmunitario, el cual genera una respuesta inflamatoria que produce un exudado altamente nutritivo, que se percola a través de la biopelícula y proporciona nutrientes a la microbiota residente para abastecer las necesidades de ésta, lo que ayuda a la seguridad, sustentabilidad y estabilidad de la comunidad microbiana; de esta forma, el “sacrificio” de pocas bacterias promueve la supervivencia de la comunidad.

Las biopelículas son una causa significativa del retraso en la curación de las heridas y son causa potencial de la separación de sus bordes y retraso en el cierre de las heridas quirúrgicas, debido a que las estrategias que se usan para curar las heridas causadas por bacterias planctónicas fallan para eliminar a las bacterias adheridas que tienen el fenotipo de biopelícula.²⁹

Asociación de biopelículas en las heridas

Las bacterias que colonizan las heridas forman una biopelícula y su matriz de polisacárido permite protegerlas de las variaciones de humedad, temperatura, pH, penetración de antibióticos y ataque de neutrófilos y macrófagos. Sin embargo, las biopelículas son más que un *bunker* donde las bacterias se esconden; éstas se comunican en su interior, trabajan conjuntamente y actúan como un organismo multicelular. En las infecciones el desafío de las bacterias que colonizan consiste en sobrevivir cuando se encuentran con el sistema de defensa del hospedero, que puede ser muy eficaz para restringir la diversidad bacteriana en las infecciones crónicas.

Debido a la persistencia de algunas heridas crónicas y a la ausencia de respuesta a agentes antimicrobianos, se ha intentado atribuir la cronicidad a las biopelículas. Los indicios más tempranos de que las biopelículas se asocian con las heridas resultaron después de que 15 suturas y 15 grapas removidas de heridas quirúrgicas se examinaron con microscopía electrónica.³⁰

Las infecciones aparecen en los sitios quirúrgicos en los 30 días siguientes a la operación o en un año posim-

plante; las infecciones son responsables de 2 a 14% de las complicaciones quirúrgicas.³¹ Después de analizar microscópicamente el material debridado de 50 biopsias de heridas, se lograron identificar biopelículas en 60% de las heridas crónicas y solamente en 6% de las heridas agudas.³² Por tanto, desde hace poco tiempo se reconoce que entre las heridas crónicas y las biopelículas existe una asociación significativa, lo cual contribuye a infectar y a retrasar la curación.^{18,33}

Las biopelículas comensales y naturales (placa dental, la microbiota intestinal y el suelo) contienen múltiples especies que coexisten, interactúan y forman biopelículas con un gran número de bacterias de diversos nichos. En contraste, las biopelículas de heridas crónicas tienden a una baja diversidad y a contener monoespecies, aunque en la infección en que residen haya multiespecies. Esta hipótesis fue comprobada cuando en las heridas se visualizó que estos agregados están conformados por una sola especie bacteriana, ya sea *P. aeruginosa* o *S. aureus*, aunque otros microorganismos se encuentren presentes y asociados con la herida (infección).²³

Las interacciones entre microorganismos pueden ser relevantes en el manejo de heridas crónicas; el sinergismo microbiano en este tipo de heridas puede aumentar la virulencia y patogenicidad, lo que ocasiona que aumente la degradación de los tejidos, que haya mal olor y que, en algunos casos, se deteriore la respuesta inmunitaria del hospedero.

Por otra parte, se ha sugerido que la heterogeneidad de las biopelículas es fundamental para la estabilidad o resistencia de una herida. El ecosistema microbiano de la herida es un flujo dinámico y cualquier cambio en dicho ecosistema altera la competitividad de la biopelículas, lo que puede ocasionar que la bacteria más patógena predomine en la herida. Esto propicia que se propongan diferentes estrategias de tratamiento que lleven a la eliminación de bacterias específicas o, bien, al tratamiento de comunidades bacterianas inespecíficas para promover la cicatrización de las heridas.³⁴ A la fecha, esta teoría no se ha probado en la microbiología de las heridas, pero debe tomarse en cuenta como parte de las estrategias de curación.

Biopelículas *in vivo*

La mayor parte de las investigaciones sobre la existencia de patógenos de piel en las heridas se realizan *in vitro* y

no consideran los efectos de los fluidos de las heridas, factores de crecimiento, proteasas y péptidos antimicrobianos. Para analizar una biopelícula *in vivo* se utilizó un modelo porcino con heridas controladas e inoculadas con *S. aureus*, las cuales fueron tratadas con antimicrobianos tópicos durante 120 horas. Por microscopia de barrido y epifluorescencia se observó la formación de una biopelícula después de 48 horas de inoculación y oclusión. Aun cuando fue poca la eficacia contra los microorganismos embebidos en biopelículas, el tratamiento *in vivo* demostró ser efectivo, pues redujo las células planctónicas. Estos resultados demuestran que las biopelículas participan en la colonización e infección de las heridas.³⁵

Diagnóstico de biopelículas en heridas

Las técnicas de muestreo de heridas son: hisopo, aspiración con aguja y biopsia. Aunque el hisopo es la técnica más común, sólo permite detectar superficies colonizadas más que bacterias presentes en la profundidad; este método no logra representar la carga bacteriana de la herida, no provee información correcta sobre los microorganismos que la colonizan y no es un método útil para aislar anaerobios. En contraste, las biopsias de tejidos profundos aumentan la sensibilidad y especificidad de organismos invasores, pero requieren destreza técnica y pueden agravar la herida si no se realizan apropiadamente. El curetaje correlaciona mejor con la biopsia de tejido profundo, es relativamente no invasivo y puede muestrear microorganismos aerobios y anaerobios. A 3 mm del borde de la herida una cureta es confiable y reproducible y se obtienen 20 mg de tejido útil para hacer cultivos cuantitativos y análisis genómicos.¹⁶

Como las técnicas de cultivo estandarizadas funcionan para bacterias planctónicas, no logran aislar e identificar a las bacterias unidas directamente a las superficies o con fenotipo de biopelícula. La comparación entre estudios microbiológicos de heridas crónicas muestra variaciones en los métodos utilizados para el muestreo, en el tipo de herida y en los factores endógenos y exógenos, por lo que las cuentas microbianas no deben ser interpretadas únicamente para predecir la infección de las heridas.

A la fecha no hay métodos disponibles de rutina que detecten biopelículas en las heridas; los métodos convencionales de diagnóstico de los laboratorios no detectan la producción de glucocálix o la aparición de biopelículas. El material mucoide de la herida no debe ser interpretado como una biopelícula, porque el material se remueve

fácilmente por debridación pero la biopelícula no. La determinación de biopelículas en las heridas depende de un examen de biopsias de tejido, que es costoso y tardado y que no está disponible en los laboratorios de microbiología de rutina. Por estas razones, en muchos casos de heridas los médicos no observan las biopelículas, sino las consecuencias de éstas, como inflamación crónica, exudado abundante, pus fibrosa y falla en la curación a pesar de la administración de antibióticos.

Una mejor aproximación para detectar biopelículas es la determinación de moléculas de *quorum sensing*, las cuales se han determinado por presión isquémica en modelos de heridas inducidas experimentalmente e infectadas con *Pseudomonas aeruginosa*,³⁶ por cromatografía de capa fina en ensayos de moléculas de *quorum sensing* directamente en heridas, por cromatografía de líquidos de alto rendimiento y por espectroscopia de masas en especímenes debridados de heridas crónicas.³⁷

El surgimiento de los métodos de biología molecular y las mejoras en las técnicas de muestreo para las heridas han comprobado que los métodos tradicionales de cultivo a menudo subestiman las bacterias presentes; sobre todo, cuando las bacterias son de crecimiento lento, fastidioso o anaeróbico, o cuando crecen como biopelículas.¹⁹ Las técnicas de biología molecular han superado los problemas de muestreo que a menudo se encuentran en las heridas crónicas y han logrado determinar cuáles especies microbianas coexisten. Estas técnicas, además, pueden definir patrones genéticos y expresiones de proteínas bajo condiciones diferentes, lo que es importante para comprender la función de las biopelículas en las heridas.

Un estudio importante realizado con las técnicas de hibridación de ADN demostró que en heridas crónicas las bacterias no tienen una distribución al azar, ya que *S. aureus* se localiza en la superficie, y *P. aeruginosa*, en la profundidad. Esta distribución puede explicar los resultados obtenidos en muestras de hisopo mediante métodos tradicionales de cultivo, en los que se reporta una baja prevalencia de *P. aeruginosa*, lo que contrasta con las altas concentraciones de *S. aureus* en heridas crónicas. El cultivo únicamente recupera a los microorganismos presentes en la superficie y no detecta a los que se encuentran en el lecho de la herida.^{38,39}

Debe tenerse cuidado en la interpretación de la información de los métodos de hibridación de ácidos nucleicos, ya que el ADN de diversas especies bacterianas algunas

veces se asocia con las biopelículas, más que la demostración de marcadores específicos de las mismas.⁴⁰ Otro problema frecuente es que el ADN detecta especies microbianas presentes en baja concentración, que no pueden ser discernidas y que pueden ser residentes o transitorias de la microbiota de la herida; además, tampoco puede determinarse si se trata de células vivas o muertas, ya que los fragmentos de ADN de organismos que se han lisado en respuesta a las defensas del hospedero pueden identificarse como especies viables.

PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE BIOPELÍCULAS

En el caso de las heridas crónicas se demostró que las citocinas proinflamatorias (que son moléculas responsables de los mecanismos de resistencia del hospedero) están muy elevadas, lo que ocasiona un aumento importante de neutrófilos y macrófagos *in situ* y la eliminación de microorganismos, principalmente por fagocitosis y citotoxicidad; sin embargo, si por alguna razón este proceso se retrasa, los patógenos tienen tiempo suficiente para unirse a la superficie de los tejidos e iniciar el proceso de formación de biopelículas, y una vez que han madurado, ni los mecanismos de reconocimiento de estos agentes microbianos ni los anticuerpos específicos pueden activarse contra los microorganismos de las microcolonias.

Si el efecto de la bacteria es benéfico en la curación de las heridas —antes de que ocurra la reacción del hospedero—, el objetivo del tratamiento no es eliminar todas las bacterias, sino recuperar un estado seguro de colonización para la herida, en el que el hospedero sea capaz de manejar la carga bacteriana.

Las biopelículas pueden reformarse si: *a)* hay crecimiento de fragmentos, seguido de debridación y limpieza, *b)* hay diseminación de bacterias planctónicas, liberadas de la biopelícula residual, *c)* hay crecimiento de microorganismos nuevos en la biopelícula. Por estos motivos, se han diseñado estrategias para evitar su aparición (prevención), como protocolos asépticos y aire filtrado en salas de operaciones —que han reducido la incidencia de infecciones—, catéteres recubiertos con agentes antimicrobianos (antibióticos, antisépticos y plata) y antibióticos incorporados en el material de implantes, con un éxito limitado.⁴¹

A las estrategias que permiten controlar el crecimiento de microorganismos, como biopelículas en las heridas,

se les conoce como “cuidado de heridas basadas en biopelículas” (BBWC por sus siglas en inglés).⁴² Para lograr eliminar exitosamente las biopelículas maduras, se requieren estrategias múltiples que no sólo intenten matar a los microorganismos, sino que también interfieran en la formación de éstos.²⁸ Aunque el rompimiento de la comunidad microbiana y aunque las defensas del hospedero no maten directamente a las bacterias, esta perturbación permite —con ayuda de otros tratamientos— que los mecanismos naturales del hospedero trabajen efectivamente para promover la regeneración tisular.

Debridamiento

Consiste en remover tejido muerto o contaminado para facilitar la eliminación de desechos, promover la formación de tejido de granulación y permitir el cierre definitivo de la herida. Los principales métodos utilizados son: el quirúrgico, enzimático, autolítico, mecánico y biológico (larvas).⁴³⁻⁴⁵

Antibióticos

Mientras que las células planctónicas participan en infecciones agudas y responden apropiadamente al tratamiento con antibióticos, las biopelículas no lo hacen. En el manejo de las heridas se han prescrito tradicionalmente antibióticos tópicos o sistémicos, los cuales tienen una función limitada debido a la naturaleza polimicrobiana de la herida y a las cuestiones de resistencia.^{28,46,47} Por tanto, si los antibióticos no logran eliminar las biopelículas, se requiere el apoyo de otras estrategias que las dispersen hasta que se alcance un nivel en el que la inmunidad del hospedero pueda controlar la infección.

Antibiopelículas

Las medidas antibiopelículas pueden dividirse en dos: 1) remoción o destrucción de biopelículas, y 2) prevención de su formación. En el primer grupo se encuentra el uso de enzimas que hidrolizan al exopolisacárido (dispersina D, alginasa, depolimerasa de fago),^{48,49} y en el segundo grupo se encuentran sustancias que interfieren en la formación del exopolisacárido, como xilitol y galio,¹² y agentes quelantes captadores de hierro, como lactoferrina,⁵⁰ deferoxamina y EDTA.

Otra estrategia potencial para evitar la formación de biopelículas se relaciona con el uso de inhibidores de *quorum sensing*, los cuales interfieren directamente sus fases

de evolución, y el número de microorganismos presentes puede alterarse a tal grado que el hospedero es capaz de eliminar las bacterias infectantes e inducir el proceso normal de curación.^{4,51} Si esta comunicación se altera, también se alterará su organización; por tanto, si en una comunidad bacteriana se manipula la comunicación célula-célula, también se alterarán sus defensas y virulencia. Entre estas sustancias se encuentran RIP-RNAIII péptido inhibidor, furanona C30 y análogos de acilhomoserinlactona, los cuales a la fecha no existen comercialmente debido a que se encuentran en fase de experimentación.⁵²

Desde tiempos muy remotos se han utilizado los productos naturales para controlar las heridas; en fechas recientes se reportó la capacidad de la miel para inhibir la evolución de las biopelículas.^{53,54} También se reportó la actividad antimicrobiana del aceite de canela, que combate las biopelículas de *S. epidermidis*,⁵⁵ y el ajo ha demostrado ser activo contra *Pseudomonas*; por tanto, se sugiere su consumo en pacientes con fibrosis quística.⁵⁶

En un estudio clínico reciente hecho con pacientes con heridas crónicas difíciles de sanar, en úlceras por isquemia límbica, se obtuvo 77% de curación con tratamiento combinado de lactoferrina y xilitol.⁵²

Biocidas

Los antisépticos, como el alcohol, peróxido, ácido acético y yodo, son agentes comunes en el manejo de las heridas. La plata se ha usado por años en muchas aplicaciones y su forma iónica (Ag^+) es muy efectiva contra un amplio rango de microorganismos. Se utiliza para tratar heridas traumáticas, úlceras, injertos de piel y abrasiones; además, previene la formación de puentes de hidrógeno con cationes divalentes que normalmente estabilizan la matriz de la biopelícula ocasionando su desestabilización.

Desde que en 1962 Winter⁵⁷ destacó el concepto de *cicatrización húmeda de la herida*, los recubrimientos intentan mantener un ambiente húmedo en la herida; los hidrocoloides, alginatos y espumas mantienen este ambiente al absorber el exudado, y los hidrogeles y películas proporcionan o mantienen la humedad.⁵⁸ Los vendajes con yoduro de cadexómero ofrecen un efecto antibacteriano de amplio espectro contra *Pseudomonas* y *Staphylococcus aureus*, e incluso, contra cepas resistentes a la meticilina.⁵⁹ Los vendajes con plata iónica ayudan al manejo de la carga microbiana en heridas infectadas, y preferiblemente, previenen y rompen la formación de biopelículas; además, al

evaluar la eficacia de estos vendajes de hidrofibra con plata en bacterias crecidas en biopelículas¹⁸ se ha alcanzado una mortalidad de 90% después de 24 horas de contacto. Se ha demostrado que los iones de plata a concentraciones mayores de 50 ppb tienen la capacidad de romper y disgregar biopelículas.⁶⁰ También se han reportado vendajes recubiertos de polihexametilén biguanida para el tratamiento de heridas agudas o crónicas.⁶¹

Para erradicar las biopelículas e inducir así la sanación, en 2002 se reportó una nueva estrategia para tratar con óxido nítrico gaseoso las heridas crónicas,⁶² y aunque su mecanismo exacto se desconoce, se ha demostrado, además de la actividad antimicrobiana directa del óxido nítrico,⁶³ que la inhibición de una de las enzimas responsables de la síntesis del óxido nítrico (la sintasa del óxido nítrico inducible) disminuye el depósito de colágeno y retrasa la reparación de heridas.

CONCLUSIÓN

Actualmente, la relación entre la cronicidad de las heridas y las biopelículas puede explicar por qué las heridas no sanan en los tiempos establecidos, y aunque no todas las heridas crónicas pueden atribuirse a esta relación microbiana, se propone que su prevención o disgregación permitirá favorecer el proceso de curación.

A la fecha, en los laboratorios de rutina no existen métodos de diagnóstico disponibles que detecten directamente las biopelículas en las heridas; por tanto, el uso de estrategias antibiopelículas hasta ahora es especulativo.

Los métodos convencionales de cultivo (hisopo, aspiración y biopsia) combinados con las técnicas moleculares proporcionan una perspectiva más amplia de especies bacterianas que residen en las heridas, y aunque deben considerarse las limitaciones y ventajas particulares que ofrecen las metodologías utilizadas, también debe tomarse en cuenta la dificultad que representa el aislamiento y la identificación de los microorganismos cuando éstos se organizan en las heridas como biopelícula.

REFERENCIAS

1. Sephel CG, Woodward CS. Reparación, regeneración y fibrosis. En: Rubin: Patología estructural. Fundamentos clinicopatológicos en medicina. Madrid: McGraw-Hill; 2006;Cap.3:79-108.
2. Deodhar AK, Rana RE. Surgical physiology of wound healing: a review. J Postgrad Med 1997;43:52-56.

3. Schultz SG, Davidson MJ, Kirsner SR, Bornstein P, Herman MI. Dynamic reciprocity in the wound environment. *Wound Rep Reg* 2011;19:134-148.
4. Bjarnsholt T, Kirketerp-Moller K, Ostrup JP, Madsen GK, et al. Why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis. *Wound Rep Reg* 2008;16:2-10.
5. Bendy RH, Nuccio PA, Wolfe E, Collins B, et al. Relationship of quantitative wound bacterial counts to healing of decubiti. Effect of topical gentamicin. *Antimicrob Agents Chemother* 1964;4:147-155.
6. Robson MC, Heggers JP. Bacterial quantification of open wounds. *Mill Med* 1969;134:19-24.
7. Peña G. El proceso de curación efectiva en heridas y lesiones contaminadas. Racionalización de las alternativas de tratamiento en la actualidad. *Rev Med Hond* 2003;71:143-149.
8. White R, Cutting KF, Kingsley A. Critical colonization: clinical reality or myth? *Wounds UK* 2005;1:94-95.
9. Phillips P, Sampson E, Yang Q, Antonelli P. Bacterial biofilms in wounds. *Wound Healing Southern Africa* 2008;1:10-12.
10. O'Brian M. Knowledge: Understanding critical colonization of wounds. *Nursing Times* 2007;103:48-50.
11. Georgiade G. Wound contamination. Assessment, prevention and management. *Postgrad Med* 1983;73:247-254.
12. Widegrov AD. Persistence of the chronic wound-implicating biofilm. *Wound Healing Southern Africa* 2008;1:5-7.
13. Majewski WZ, Cybulski MN, Pukacki F, Staniszewski RK, et al. The value of quantitative bacteriological investigations in the monitoring of treatment of ischaemic ulcerations of lower legs. *Int Angiol* 1995;14:381-384.
14. Gontcharova V, Youn Eunseog, Sun Y, Wolcott DR, Dowd ES. A comparison of bacterial composition in diabetic ulcers and contralateral intact skin. *Open Microbiol J* 2010;4:8-19.
15. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong G. Wound microbiology and associated approaches to wound management. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:244-269.
16. Martin MJo, Zenilman MJ, Lazarus SG. Molecular microbiology: New dimensions for cutaneous biology and wound healing. *J Invest Dermatol* 2010;130:38-48.
17. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong GD. Wound microbiology and associated approaches to wound management. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:244-269.
18. Percival LS, Bowler P, Phil M, Woods JE. Assessing the effect of an antimicrobial wound dressing on biofilms. *Wound Rep Reg* 2008;16:52-57.
19. Malic S, Hioll EK, Hayes A, Percival LS, et al. Detection and identification of specific bacteria in wound biofilms using peptide nucleic acid fluorescent *in situ* hybridization (PNA FISH). *Microbiology* 2009;155:2603-2611.
20. Dowd SE, Sun Y, Secor PR, Rhoads DD, et al. Survey of bacterial diversity in chronic wounds using pyrosequencing, DGGE, and full ribosome shotgun sequencing. *BMC Microbiol* 2008;8:43.
21. Thomsen TR, Aaholm MS, Rudkjoberg VB, Saunders AM, et al. The bacteriology of chronic venous leg ulcer examined by culture-independent molecular methods. *Wounds Rep Reg* 2010;18:38-49.
22. Costerton JW, Veeh R, Shirtliff M, Pasmote M, et al. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. *J Clin Invest* 2003;112:1466-1477.
23. Burmolle M, Thomsen RT, Fazli M, Dige I, et al. Biofilms in chronic infections –a matter of opportunity– monospecies biofilms in multispecies infections. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2010;59:324-336.
24. Sauer K, Camper AK, Ehrlich GD, Costerton JW, Davies DG. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *J Bacteriol* 2002;184:1140-1154.
25. Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix. *Nature Rev Microbiol* 2010;8:623-633.
26. Stewart SP, Franklin JM. Physiological heterogeneity in biofilms. *Nature Microbiology* 2008;6:199-210.
27. Donlan MR. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging Infect Dis* 2002;8:881-890.
28. Rhoads DD, Wolcott RW, Cutting KF, Percival SL. Evidence of biofilms in wounds and the potential ramifications. In: *Biology of wound repair*. 2nd ed. Nueva York: Stony Brook Plenum Press; 2007:3-35.
29. Castrillón RLE, Palma RA, Padilla DMC. Importancia de las biopelículas en la práctica médica. *Dermatología Rev Mex* 2010;54:14-24.
30. Gristina AG, Price JL, Hobgood CD, Webb LX, Costerton JW. Bacterial colonization of percutaneous suture. *Surgery* 1985;98:12-19.
31. Wolcott R, Cutting FK, Dowd ES. Surgical site infections: biofilms, dehiscence and delayed healing. *Wounds UK* 2008;4:108-113.
32. James GA, Swogger E, Wolcott R. Biofilms in chronic wounds. *Wound Rep Regen* 2008;16:37-44.
33. Dow G, Browne A, Sibbaload RG. Infection in chronic wounds: controversies in diagnosis and treatment. *Ostomy Wound Manage* 1999;45:23-40.
34. Percival LS, Thomas GJ, Williams WD. Biofilms and bacterial imbalances in chronic wounds: anti-Koch. *Int Wound J* 2010;7:169-175.
35. Davis CS, Ricotti C, Cazzaniga A, Welsh E, et al. Microscopic and physiologic evidence for biofilm-associated wound colonization *in vivo*. *Wound Rep Reg* 2008;16:23-29.
36. Nakagami G, Sanada H, Sugaqma J, Morohoshi T, et al. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing signals in an infected ischemic wound: an experimental study in rats. *Wound Rep Regen* 2008;16:30-36.
37. Rickard AH, Colacino KR, Manton KM. Production of cell-cell signaling molecules by bacteria isolated from human chronic wounds. *J Appl Microbiol* 2009;108:1509-1522.
38. Kikertrep-Moller K, Jensen PO, Fazi M, Madsen KG, et al. Distribution, organization and ecology of bacteria in chronic wounds. *J Clin Microbiol* 2008;46:2717-2722.
39. Fazli M, Bjarnsholt T, Kikertrep-Moller K, Jensen PO, et al. Non-random distribution of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in chronic wounds. *J Clin Microbiol* 2009;47:4084-4089.
40. Cooper R. Biofilms and wounds: much ado about nothing? *Wounds UK* 2010:84-90.
41. Cooper R, Okhiria O. Biofilms, wound infection and the issue control. *Wounds UK* 2006;2:48-57.
42. Thomson HC. Biofilms: do they affect wound healing? *Int Wound J* 2011;8:63-67.
43. Cooper R, Cutting K, Romanelli M. Biofilms and the role of debridement in chronic wounds. *Wounds UK* 2010;6:160-166.

44. Sinha SN. Wound debridement: doing and teaching. *Primary Intention* 2007;15:162-164.
45. Van der Plas MJA, Jukema GN, Wai1 Sin-Wen, Dogterom-Ballering HCM, et al. Maggot excretions/secretions are differentially effective against biofilms of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 2008;61:117-122.
46. Rodríguez-Martínez JM, Pascual MA. Antimicrobial resistance in bacterial biofilms. *Rev Med Microbiol* 2006;17:65-75.
47. Stewart SP, Costerton WJ. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* 2001;358:135-138.
48. Lu TK, Collins JJ. Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage. *PNAS* 2007;104:11197-11202.
49. Kaplan BJ, Ragunath C, Velliyagounder K, Fine HD, Ramasubbu N. Enzymatic detachment of *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:2633-2636.
50. Singh PK, Parsek MR, Greenberg EP, Welsh MJ. A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development. *Nature* 2002;417(6888):552-555.
51. Ramussen TB, Bjarsholt T, Skindersoe M. Screening for quorum sensing inhibitors (QSI) by use a novel genetic system, the QSI selector. *J Bacteriology* 2005;187:1799-1814.
52. Wolcott RD, Rhoads DD. A study of biofilm—based wound management in subjects with critical limb ischaemia. *J Wound Care* 2008;17:145-155.
53. Merckoll P, Jonassen TO, Vad ME, Jeansson SL, Melby KK. Bacteria biofilm and honey: A study of the effects of the honey on 'planktonic' and biofilm-embedded wound bacteria. *Scand J Infect Dis* 2009;41:341-347.
54. Alandejani T, Marsan J, Ferris W, Slinger R, Chan F. Effectiveness of honey on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2009;139:107-111.
55. Nuryastuti T, Van der Mei HC, Busscher JH, Irvati S, et al. Effect of cinnamon oil on *icaA* expression and biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis*. *Appl Environ Microbiol* 2009;75:6850-6855.
56. Smyth AR, Cifelli PM, Ortori CA, Righetti K, et al. Garlic as an inhibitor of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing in cystic fibrosis—a pilot randomized controlled trial. *Pediatr Pulmonol* 2010;45:356-62.
57. Winter GD. Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds of the skin of the young domestic pig. *Nature* 1962;193:293-294.
58. Natarajan S, Williamson D, Stiltz JA, Harding K. Avances en el cuidado de las heridas y tecnología de cicatrización. *Am J Clin Dermatol* 2002;1:7-13.
59. Anzai T, Shiratori A, Ohtomo E. Evaluation of clinical utility of NI-009 on various cutaneous ulcers. Comparative study with base. *J Clin Ther Med* 1989;5:2575-612.
60. Chaw KC, Manimaran M, Tay FE. Role of silver ions in destabilization of intermolecular adhesion forces measured by atomic force microscopy in *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:4853-4859.
61. Cutting FK. Addressing the challenge of wound cleansing in the modern era. *Br J Nursing* 2010;19:S24-S29.
62. Witte BM, Marbul A. Role of nitric oxide in wound repair. *Am J Surg* 2002;183:406-412.
63. Fang CF. Mechanisms of nitric oxide-related antimicrobial activity. *J Clin Invest* 1997;99:2818-2825.

EVALUACIÓN

1. Fase de la regeneración tisular en la que ocurre la contracción de la herida:
 - a) remodelación
 - b) exudativa
 - c) inflamatoria
 - d) proliferativa
 - e) coagulatoria
2. Tipo principal de fibras de colágeno presentes en el tejido de granulación:
 - a) I
 - b) II
 - c) III
 - d) IV
 - e) V
3. En la fase de contracción de la herida es la célula responsable:
 - a) epitelial
 - b) nerviosa
 - c) fibroblasto
 - d) miofibroblasto
 - e) queratinocito
4. Compuesto principal del tejido de granulación que es sustituido por proteoglicanos sulfatados:
 - a) ácido hialurónico
 - b) fibronectina
 - c) glucógeno tipo I
 - d) queratina
 - e) fibrina
5. Proceso que asocia el microambiente con las interrelaciones de células:
 - a) homeostasia
 - b) reciprocidad dinámica

- c) microecología
d) antagonismo celular
e) dinámica celular
6. Son criterios de heridas infectadas, excepto:
a) aumento de la presión de oxígeno transcutáneo
b) manifestaciones de inflamación
c) dolor
d) drenaje purulento
e) olor fétido
7. Concentración bacteriana por gramo de tejido que determina si una herida está infectada:
a) 10,000
b) 1×10^6
c) 5,000
d) 100,000
e) 5×10^6
8. Término que describe la concentración bacteriana que retrasa la curación de la herida sin causar reacción inflamatoria:
a) infección
b) contaminación
c) colonización
d) infección aguda
e) colonización crítica
9. Sistema de señalización microbiana que distingue el crecimiento como biopelícula:
a) transducción de señales
b) conjugación
c) *quorum sensing*
d) antagonismo microbiano
e) coagregación
10. Se ha reportado que el promedio por herida es de:
a) 10 especies
b) dos especies
c) cinco especies
d) una especie
e) 12 especies
11. Nombre de la sustancia microbiana polimérica que se produce en las biopelículas por acción de las moléculas de *quorum sensing* y que se compone de polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos y lípidos:
a) cápsula
b) coloide
c) exudado
d) matriz
e) biopolímero
12. Principal especie bacteriana presente en los tejidos profundos de 50% de las heridas crónicas:
a) *Streptococcus* β -hemolítico
b) *Clostridium*
c) *S. aureus*
d) *Pseudomonas*
e) *Corinebacterium*
13. Porcentaje de heridas crónicas contaminadas por biopelículas:
a) 60%
b) 80%
c) 50%
d) 10%
e) 6%
14. Porcentaje de heridas agudas contaminadas por biopelículas:
a) 60%
b) 80%
c) 50%
d) 10%
e) 6%
15. Método de diagnóstico idóneo para la determinación de biopelículas en heridas:
a) cultivo microbiano
b) hibridación de ácidos nucleicos para detectar microorganismos
c) determinación de moléculas de *quorum sensing*
d) perfil bioquímico
e) expresión genética de factores de virulencia
16. En las heridas la reformación de biopelículas ocurre por los siguientes procesos, excepto:
a) crecimiento de microorganismos nuevos en la biopelícula

- b) crecimiento de fragmentos, seguido de debridación y de limpieza de la herida
- c) inducción de la fase de dispersión en la evolución de las biopelículas
- d) diseminación de las bacterias planctónicas liberadas por biopelículas residuales
- e) inhibición de moléculas de *quorum sensing* + disgregación de biopelículas por tratamiento enzimático
17. La administración de antibióticos no es el método recomendado para la eliminación de biopelículas, porque:
- a) las bacterias planctónicas no son sensibles al tratamiento
- b) únicamente las bacterias sésiles (adheridas) son sensibles al tratamiento
- c) el antibiótico se inactiva por moléculas de *quorum sensing*
- d) entre las bacterias puede haber resistencia por transmisión horizontal de genes
- e) no existen antibióticos contra bacterias que forman biopelículas
18. Las siguientes sustancias previenen la formación de biopelículas, excepto:
- a) lactoferrina
- b) dispersina D
- c) EDTA
- d) xilitol
- e) inhibidoras de *quorum sensing*
19. Gas utilizado para erradicar las biopelículas y para inducir su curación.
- a) O₂
- b) H₂
- c) NO
- d) helio
- e) CO₂
20. Sustancia usada en vendajes recubiertos útiles contra diferentes microorganismos, incluidos los resistentes a la metilicina.
- a) yoduro de cadexómero
- b) H₂O₂
- c) PHMB
- d) penicilina
- e) iones de cinc

El Consejo Mexicano de Dermatología, A.C. otorgará dos puntos con validez para la recertificación a quienes envíen las seis evaluaciones correctamente contestadas que aparecen en cada número de *Dermatología Revista Mexicana*.

El lector deberá enviar las seis evaluaciones, una por una o todas juntas, a la siguiente dirección:

Dermatología Revista Mexicana
José Martí 55, colonia Escandón, CP 11800, México, DF.

Fecha límite de recepción de evaluaciones: 31 de enero de 2012.