

Introducción

Este artículo describe qué son las biopelículas y el papel importante que parecen desempeñar en la interrupción de la cicatrización de heridas. Además, se analizan posibles intervenciones encaminadas a eliminar o reducir las biopelículas y prevenir su nueva formación en las heridas.

*Autores: Phillips PL, Wolcott RD, Fletcher J, Schultz GS
Datos completos de los autores en la página 6.*

¿Qué son las biopelículas?

Las biopelículas son comunidades microbianas complejas que contienen bacterias y hongos. Los microorganismos sintetizan y secretan una matriz de protección que adhiere firmemente la biopelícula a una superficie biótica o abiótica¹.

Las biopelículas son comunidades heterogéneas dinámicas que cambian continuamente². Pueden consistir en una sola especie bacteriana o fúngica o, más comúnmente, pueden ser polimicrobiana, es decir, contienen muchas especies distintas^{3,4}. Al nivel más básico, una biopelícula puede describirse como un conjunto de bacterias incrustadas en una barrera densa y viscosa de azúcares y proteínas. La barrera de la biopelícula protege los microorganismos de las amenazas externas.

¿Por qué son relevantes las biopelículas para las heridas?

Desde hace mucho tiempo se sabe que las biopelículas se forman en las superficies de dispositivos médicos, como catéteres urinarios, tubos endotraqueales y de timpanostomía, implantes ortopédicos y mamaros, lentes de contacto, dispositivos intrauterinos (DIU) y suturas^{5,6}. Son un importante factor causante de las enfermedades que se caracterizan por una infección bacteriana subyacente y una inflamación crónica, por ejemplo, enfermedad periodontal, fibrosis quística, acné crónico y osteomielitis^{2,5,7}.

Las biopelículas también se encuentran en las heridas y se sospecha que retrasan la curación de algunas de ellas. En estudios de microscopía realizados en biopsias de heridas crónicas se observó que el 60 % de las muestras contenía estructuras de biopelícula en comparación con solo el 6 % de biopsias realizadas de heridas agudas⁸. Dado que las biopelículas se consideran un importante factor causante de múltiples enfermedades inflamatorias crónicas, es probable que casi todas las heridas crónicas tengan comunidades de biopelículas, al menos, en una parte del lecho de la herida.

¿Cómo se forman las biopelículas?

Primera fase: adhesión reversible a la superficie

Los microorganismos normalmente se perciben como seres solitarios que flotan libremente, es decir, en estado planctónico. Sin embargo,

en condiciones naturales, la mayoría de microorganismos tiende a adherirse a superficies y finalmente conforman las biopelículas^{1,9} (Figura 1). La adhesión inicial es reversible.

Segunda fase: adhesión irreversible a la superficie

A medida que las bacterias se multiplican, se adhieren más firmemente (sésiles) y se diferencian, cambiando los patrones de expresión génica en formas que promueven la supervivencia^{6,9}. Esto suele ser el resultado de un tipo de comunicación bacteriana conocida como detección de quórum (autoinducción) 10 (ver glosario página 5).

Tercera fase: biopelícula/matriz protectora viscosa

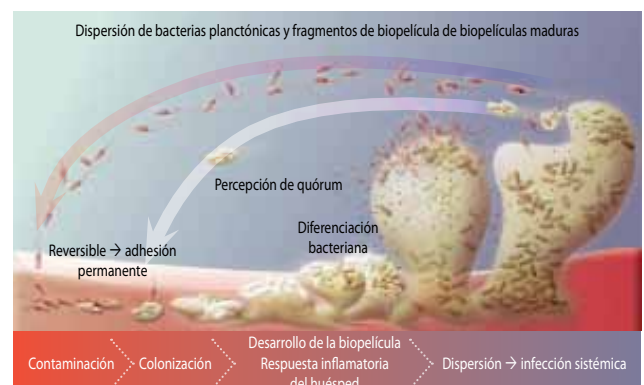
Una vez bien adheridas, las bacterias comienzan a segregar una matriz circundante conocida como sustancia polimérica extracelular (SPE)¹¹. Se trata de una matriz protectora o "limo". A partir de ahí, las pequeñas colonias bacterianas empiezan a formar una biopelícula inicial⁶.

La composición exacta de la SPE varía según los microorganismos presentes, pero, por lo general, consta de polisacáridos, proteínas, glucolípidos y ADN bacteriano^{2,9,11}. Se cree que el ADN bacteriano que liberan las bacterias vivas o muertas proporciona un componente estructural importante para la matriz de la SPE de la biopelícula¹². Varias proteínas y enzimas secretadas facilitan la adhesión firme de la biopelícula al lecho de la herida⁹.

Las biopelículas maduras excretan continuamente bacterias planctónicas, microcolonias y fragmentos de biopelícula, que puede dispersarse y adherirse a otras partes del lecho de la herida o a otras heridas, formando nuevas colonias de biopelícula^{5,6}.

Dado que viven en comunidades microbianas mixtas típicas de biopelículas, los microorganismos pueden compartir sus 'destrezas y habilidades' individuales para la supervivencia del grupo^{14,15}. Por ello, tienen muchas ventajas de protección.

Figura 1 Representación esquemática de la biopelícula polimicrobiana formación (adaptado de¹³)



Biofilms made easy



¿Cuánto tardan las biopelículas en formarse?

Los estudios experimentales de laboratorio^{16,17} han demostrado que las bacterias planctónicas, p. ej., *Stafilococos*, *Streptococos*, *Pseudomonas* y *Escherichia coli*, normalmente:

- **se adhieren al cabo de unos minutos**
- **forman microcolonias fuertemente adheridas en un plazo de al cabo de 2 a 4 horas**
- **desarrollan la SPE inicial y presentan cada vez más resistencia a los biocidas, por ejemplo, antibióticos, antisépticos y desinfectantes, en un plazo de 6 a 12 horas**
- **evolucionan en colonias de biopelículas maduras extremadamente resistentes a los biocidas y excretan bacterias planctónicas en un plazo de 2–4 días, según las condiciones de crecimiento y las especies**
- **se recuperan rápido de la interrupción mecánica y vuelven a formar biopelículas maduras en un plazo de 24 horas.**

Esto sugiere que el desbridamiento o la interrupción sucesiva sobre la herida solo podrían ofrecer un breve espacio de tiempo (esto es, menos de 24 horas) durante el cual los tratamientos antimicrobianos serían más eficaces a la hora de reducir tanto los microorganismos planctónicos como los de la biopelícula que se encuentran en las heridas.

¿Por qué acabamos de descubrir la importancia de las biopelículas en la cicatrización de las heridas?

Hace relativamente poco tiempo que las biopelículas han sido aceptadas de forma general como un factor que puede contribuir en el retraso de la cicatrización de las heridas de la piel^{7,8}.

Las heridas crónicas de la piel a menudo carecen de signos clínicos de

infección evidentes y suelen presentar cargas bacterianas bajas cuando se evalúan mediante pruebas estándar de laboratorio de microbiología clínica¹⁸. Sin embargo, las pruebas estándar de microbiología clínica están optimizadas para el cultivo de bacterias planctónicas, y no determinan adecuadamente las bacterias de la biopelícula, que requieren técnicas de cultivo especiales^{19,20}.

El término colonización crítica se acuñó en un intento de reconocer el concepto que define que las bacterias desempeñan un papel decisivo en el fracaso de cicatrización de las heridas que no tienen una infección evidente²¹. En realidad, el concepto de colonización crítica/infección localizada lo que probablemente describe es la presencia de una biopelícula en una herida crónica.

¿Podemos ver las biopelículas?

Las biopelículas son estructuras microscópicas. Sin embargo, en algunas situaciones, si se dejan crecer en reposo durante un período prolongado de tiempo, las biopelículas pueden ser lo suficientemente gruesas como para apreciarse a simple vista. Por ejemplo, la placa dental puede acumularse y ser claramente visible al cabo de un día. Algunas bacterias en su fenotipo de biopelícula producen pigmentos, que pueden ayudar a la detección visual de la biopelícula. Por ejemplo, la *pseudomonas aeruginosa* produce la piocianina de la molécula de percepción de quórum, de color verde, cuando se encuentra en el fenotipo de la biopelícula²². Aun así, la decoloración verde de una herida no es siempre indicativa de una biopelícula de *Pseudomonas*.

¿Pueden distinguirse las biopelículas del esfacelo?

El tejido esfacelado de una herida se ha descrito como una capa viscosa, amarilla y relativamente opaca que aparece en el lecho de las heridas; en cambio,

la biopelícula que se encuentra en las heridas tiene un aspecto más brillante y similar a un gel²³. Sin embargo, puede haber un vínculo entre las biopelículas y el esfacelo. Las biopelículas estimulan la inflamación, lo cual incrementa la permeabilidad vascular y la producción de exudado de la herida así como la formación de esfacelo fibrinoso²⁴. Por lo tanto, el esfacelo puede indicar la presencia de biopelícula en una herida. No obstante, este vínculo entre esfacelo y biopelículas en las heridas crónicas aún no se ha definido completamente.

Actualmente, el método más fiable para confirmar la presencia de biopelícula microbiana es la microscopía especializada, por ejemplo, la microscopía confocal de barrido láser.

¿Cómo “protegen” las biopelículas maduras a las bacterias?

Las biopelículas mejoran en gran medida la tolerancia de los microorganismos incrustados en la matriz para el sistema inmunitario, los agentes antimicrobianos y las tensiones ambientales (por ejemplo, limitación nutricional o de oxígeno). Esta tolerancia puede favorecer una resistencia completa a factores que fácilmente podrían matar a estos mismos microbios cuando crecen en un estado planctónico sin protección^{9,25}.

Bloqueo

Una forma sencilla en que la SPE protege a los microbios es impidiendo que las moléculas grandes (por ejemplo, anticuerpos) y las células inflamatorias penetren profundamente en la matriz de la biopelícula. La biopelícula madura también puede actuar como una barrera de difusión, incluso para pequeñas moléculas como agentes antimicrobianos²⁶.

Protección mutua

Otra característica exclusiva de las biopelículas polimicrobianas son los efectos cooperativos de protección que diferentes

especies de bacterias ejercen entre sí. Por ejemplo, las bacterias resistentes a los antibióticos pueden segregar enzimas protectoras o proteínas fijadoras de antibióticos que pueden proteger a las bacterias colindantes no resistentes a antibióticos en una biopelícula², así como genes de transferencia a otras bacterias que confieren resistencia a los antibióticos, incluso entre diferentes especies²⁷. Los estudios también han puesto de manifiesto que las características específicas de la SPE de biopelículas establecidas por una especie pueden tener un papel significativo en la capacidad de otras especies para adherirse e incorporarse a una biopelícula existente²⁸.

Hibernación (bacterias inactivas)

Otra estrategia de supervivencia que muchas bacterias de biopelículas han desarrollado es que una subpoblación de bacterias se convierta metabólicamente inactiva, es decir, que hiberne^{29,30}. Para que los antibióticos actúen es necesario que las bacterias estén metabólicamente activas, de ahí que las bacterias en hibernación de las biopelículas no se vean afectadas por los antibióticos que en condiciones normales matarían las bacterias activas^{23,31}.

En diversos estudios de investigación se ha demostrado que la concentración más baja necesaria para matar o eliminar las biopelículas bacterianas, en un gran número de antibióticos, supera los niveles máximos establecidos³¹⁻³⁴. Por lo tanto, las dosis orales estándar de estos antibióticos, que matan eficazmente las bacterias generalmente susceptibles cuando se cultivan de modo planctónico en un laboratorio, pueden tener un efecto antimicrobiano escaso o nulo en el mismo tipo de bacterias cuando estas están presentes en la biopelícula del paciente.

Figura 2 Retraso en la cicatrización de la herida: factores del huésped, factores microbianos



¿Cómo retrasan la cicatrización de heridas las biopelículas?

Las biopelículas estimulan una respuesta inflamatoria crónica en un intento de eliminar la herida de la biopelícula (Figura 2). Esta respuesta se traduce en la producción de gran cantidad de neutrófilos y macrófagos que rodean las biopelículas. Estas células inflamatorias segregan altos niveles de especies reactivas de oxígeno (ERO) y proteasas (metaloproteinasas de matriz [MPM] y elastasa). Las proteasas pueden ayudar a romper las adhesiones entre las biopelículas y el tejido, expulsando las biopelículas de la herida³⁵. Sin embargo, las ERO y las proteasas también dañan los tejidos normales y curativos, las proteínas y las células inmunitarias, y tienen efectos distintos a los deseados que dificultan la curación.

La respuesta inflamatoria crónica no es siempre satisfactoria al retirar la biopelícula y existen hipótesis que defienden que la respuesta es beneficiosa para la biopelícula. Al inducir una respuesta inflamatoria ineficaz, la biopelícula protege a los microorganismos que contiene y aumenta la producción de exudado, que proporciona una fuente de nutrición y ayuda a perpetuar la biopelícula³⁶.

¿Existen condiciones que predisponen a una herida a desarrollar una biopelícula?

No se sabe si hay condiciones que predisponen a las heridas a desarrollar una biopelícula. Con todo, las condiciones generales que deterioran el sistema inmunitario o reducen la eficacia de los antibióticos pueden favorecer el desarrollo de biopelículas en heridas. Entre estas se incluyen isquemia hística o necrosis, mala nutrición y enfermedades concomitantes que deterioran la función inmunitaria.

¿Cuáles son los principios para tratar las biopelículas?

Incluso cuando se sospecha que una herida contiene una biopelícula, no existe una solución de un solo paso para el tratamiento. Un enfoque preventivo que utilice una estrategia de combinación basada en elementos de preparación del lecho de la herida³⁷ puede ser útil (Figura 3) y tiene como objetivo:

- reducir la carga de la biopelícula
- evitar la reconstitución de la biopelícula.

En ocasiones, este enfoque se denomina “cuidado de heridas basadas en biopelículas”.

¿Cómo puede reducirse la carga de la biopelícula?

Los datos hasta la fecha sugieren que la eliminación física, es decir, el desbridamiento o la limpieza vigorosa de la piel, son los mejores métodos para reducir la carga de la biopelícula³⁷.

El desbridamiento implica la eliminación de tejido necrótico y contaminado, y otras materias de la herida para que esta pueda cicatrizar. Existen varios métodos de desbridamiento, desde el desbridamiento cortante hasta técnicas generalmente consideradas para limpiar la herida, por ejemplo, la irrigación de la herida^{38,39}. La elección del método de desbridamiento o limpieza por parte del médico dependerá de sus conocimientos, su formación y su competencia, y debe tener en cuenta la seguridad y las consideraciones éticas⁴⁰.

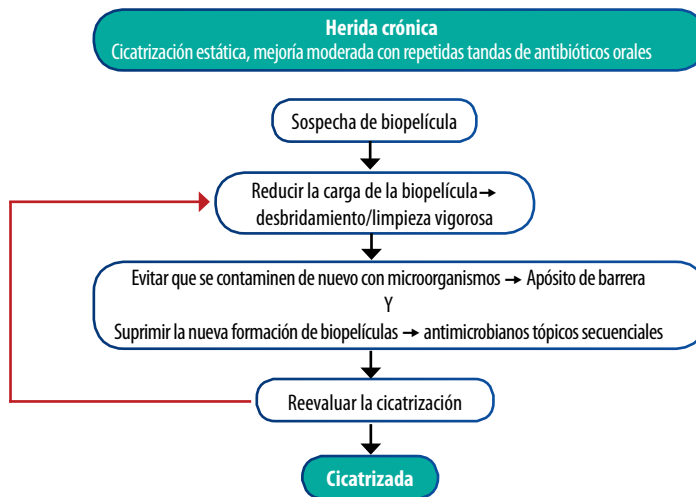
En los estudios de investigación sobre el tratamiento de biopelículas en heridas realizados hasta el momento se ha utilizado el desbridamiento cortante y el desbridamiento ultrasónico con el objetivo de abrir las tunelizaciones y retirar todo el tejido desvitalizado y debilitado, esfacelado y descolorido o tejido blando⁴¹. Sin embargo, debido a las dificultades para visualizar las biopelículas, el impacto del desbridamiento y el mejor método de desbridamiento de biopelículas aún no están claros.

Frecuencia de desbridamiento/limpieza

Es poco probable que exista una técnica de desbridamiento o limpieza que pueda eliminar totalmente la biopelícula, de modo que cualquier bacteria/biopelícula que permanezca en el tejido puede volver a crecer y formarse una biopelícula madura en cuestión de días. Como consecuencia, se sugiere que se realice el desbridamiento periódico de las heridas en las que se sospeche que puede haber una biopelícula. Puesto que aún no está clara la frecuencia ideal del desbridamiento; en un estudio de pacientes con isquemia crítica del miembro, el desbridamiento fue semanal⁴¹.

Se han sugerido algunos productos con funciones adicionales para la limpieza de heridas, ya que ayudan a la eliminación de bacterias, residuos y la biopelícula no cicatrizante. Existe, por ejemplo, una tecnología prometedora que se basa en las propiedades tensioactivas de algunas formulaciones de limpieza de heridas con

Figura 3 Principios del tratamiento de la biopelícula de una herida



polihexametileno biguanida (polihexanida o PHMB), como es el caso de Prontosan®. El componente tensioactivo (betaína) de la solución de limpieza reduce la tensión superficial y ayuda a eliminar residuos y bacterias mediante irrigación^{42,43}.

Si una herida no mejora tras el desbridamiento periódico con alguno de los métodos, será necesario considerar una forma más “agresiva” de desbridamiento con remisión al especialista, según corresponda.

¿Cómo puede evitarse la reconstitución de la biopelícula?

La biopelícula puede volverse a formar en una herida por:

- el crecimiento de fragmentos que no se eliminaron tras el desbridamiento o la limpieza
- la propagación de bacterias planctónicas liberadas de la biopelícula restante
- el crecimiento de la biopelícula por microorganismos recientemente introducidos.

Los principios implicados en la prevención de la reconstitución de la biopelícula incluyen la

prevención de la nueva contaminación de la herida (es decir, el uso de apósitos) y el uso de agentes antimicrobianos para matar los microorganismos planctónicos.

La naturaleza polimicrobiana de muchas biopelículas indica que un antimicrobiano tópico de amplio espectro que mata microorganismos en lugar de inhibirlos es el más adecuado. Aún se desconocen detalles de los efectos de los antimicrobianos sobre la nueva formación de la biopelícula. Sin embargo, los antimicrobianos microbicidas de amplio espectro que más se utilizan para el cuidado de heridas son plata, yodo, miel y PHMB. Están disponibles en una amplia variedad de formulaciones.

Un principio novedoso para el uso de antimicrobianos tópicos es cambiar de antimicrobiano si no se observa ningún progreso. Dado que todavía no hay pruebas que sugieran cuál es el antimicrobiano de primera línea preferible, la elección dependerá de cómo se vaya a utilizar el antimicrobiano. Por ejemplo, ¿se va a dejar en la herida durante varios días? En tal caso, se necesitará una formulación de liberación lenta para cubrir el período de uso. Por otra parte, también deben tenerse en cuenta las sensibilidades/alergias del paciente.

¿Cómo se sabe cuándo ha desaparecido la biopelícula?

La ausencia de signos definitivos y pruebas de laboratorio disponibles para biopelículas indican que no es posible afirmar categóricamente cuándo desaparece la biopelícula de una herida. Probablemente, el indicador clínico más claro probablemente es la progresión de la cicatrización, junto con la reducción en la producción de exudado y esfacelo.

Hasta que no se disponga de unas directrices claras, se deberá recurrir al criterio clínico para decidir cuándo y cómo se modificará el tratamiento de heridas con sospecha de biopelícula. Por ejemplo, cuando la cicatrización está evolucionando correctamente, puede ser apropiado cambiar el método o reducir la frecuencia de

desbridamiento y reconsiderar si es necesario el uso de un antimicrobiano tópico.

Algunos conceptos importantes adicionales incluyen la reevaluación frecuente de la herida y un enfoque holístico en la salud de los pacientes para mejorar el sistema inmunitario y favorecer la cicatrización de heridas.

Desarrollos futuros

Es necesario desarrollar métodos o dispositivos que detecten de manera rápida la presencia de biopelículas antes y después de los tratamientos seleccionados. En un principio, esto ayudaría a guiar a los investigadores y los profesionales sanitarios a desarrollar estrategias de tratamiento de heridas eficaces. Más adelante, serviría para supervisar el progreso del tratamiento.

Ambos están actualmente disponibles y se están analizando nuevos agentes antimicrobianos y métodos de tratamiento para determinar su eficacia frente a la biopelícula, tanto como eliminadores de la biopelícula como inhibidores de esta. Por ejemplo, en estudios recientes de la eficacia antimicrobiana de varios apósitos de heridas sobre la biopelícula madura de *Pseudomonas aeruginosa* cultivada en piel porcina, se han descubierto las importantes propiedades del cadexómero yodado en la eliminación de la biopelícula⁴⁴. Sin embargo, la compleja naturaleza polimicrobiana cambiante de las biopelículas, complicada por la heterogeneidad fenotípica bacteriana, implica que la eficacia de los agentes antibiopelículas deba comprobarse paciente por paciente.

¿Cómo explicamos las biopelículas a los pacientes?

Se puede tranquilizar a los pacientes explicándoles que las biopelículas se tratan de forma eficaz mediante una combinación de desbridamiento y/o limpieza para eliminar las biopelículas, la aplicación de apósitos para impedir que las nuevas bacterias alcancen la herida y el uso de antimicrobianos para matar las bacterias que quedaron en el lecho de la herida. Asimismo, se debe comentar con los pacientes que el tratamiento ha de repetirse periódicamente porque las biopelículas pueden volver a reproducirse al cabo de un día e impedir la cicatrización de las heridas.

Glosario

Fenotipo de biopelícula	Los microorganismos del fenotipo de la biopelícula expresan genes óptimos para el desarrollo de una comunidad adherida incrustada en una matriz de protección limosa autosegregada y tensiones ambientales de supervivencia.
Comensalismo	Un microorganismo que vive en un tejido, generalmente sin causar enfermedad.
Sustancia polimérica extracelular (SPE)	El "limo", producido por los microorganismos de una biopelícula compuesta por polisacáridos, proteínas, glucolípidos y ADN bacteriano; protege los microorganismos que viven en la biopelícula del sistema inmunitario del huésped y los agentes antimicrobianos.
Fenotipo	Las características de un microorganismo resultantes de la interacción entre el medio ambiente y los genes del microorganismo.
Plancton	Hace referencia a los microorganismos flotantes que expresan genes óptimos para el crecimiento individual y sin adhesiones.
Percepción de quórum	Un mecanismo utilizado por los microorganismos para comunicarse entre y dentro de especies bacterianas. Se utiliza para detectar y responder a los cambios en el entorno (incluida la presencia de otros microbios o limitaciones nutricionales). La percepción de quórum provoca cambios en la expresión génica bacteriana que intentan favorecer la supervivencia de los microorganismos.
Sésil	Los microorganismos que están firmemente adheridos a una superficie por medio de receptores o proteínas se denominan adhesinas.

Resumen

Se sabe que las biopelículas bacterianas contribuyen a causar numerosas enfermedades inflamatorias crónicas y los datos recientes sugieren que las biopelículas también desempeñan un papel importante en alterar la cicatrización de las heridas crónicas. Las biopelículas presentan altos niveles de tolerancia a anticuerpos, antibióticos, desinfectantes y células fagocíticas inflamatorias. Los conocimientos actuales acerca de las biopelículas sugiere que el tratamiento de heridas con sospecha de biopelícula debe incluir el desbridamiento frecuente de la herida junto con otro tipo de intervenciones como la aplicación de apósitos y antimicrobianos para impedir que la herida se vuelva a contaminar y suprimir la formación de la biopelícula.

Para citar esta publicación: Phillips PL, Wolcott RD, Fletcher J, Schultz GS. Biofilms Made Easy. *Wounds International* 2010; 1(3): Disponible en <http://www.woundsinternational.com/made-easys/biofilms-made-easy>

Datos de los autores

PL Phillips¹, RD Wolcott², J Fletcher³, GS Schultz⁴.

1. Doctora, Institute for Wound Research, Department of Obstetrics and Gynecology, University of Florida, Gainesville, Florida, Estados Unidos
2. Director médico, Southwest Regional Wound Care Center, Lubbock, Texas, Estados Unidos
3. Profesora principal, School of Nursing, Midwifery and Social Work, University of Hertfordshire, Hatfield, UK and Senior Professional Tutor, Department of Dermatology and Wound Healing, School of Medicine, Cardiff University, Cardiff, Reino Unido
4. Catedrático, Institute for Wound Research, Department of Obstetrics and Gynecology, University of Florida, Gainesville, Florida, Estados Unidos

Gracias al foro de Enfermeras especializadas en viabilidad de tejidos de Hertfordshire y Bedfordshire.

References

1. Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW. Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol* 2002; 56: 187-209.
2. Hall-Stoodley L, Stoodley P. Evolving concepts in biofilm infections. *Cell Microbiol* 2009; 11(7): 1034-43.
3. Dowd SE, Sun Y, Secor PR, et al. Survey of bacterial diversity in chronic wounds using pyrosequencing, DGGE, and full ribosome shotgun sequencing. *BMC Microbiol* 2008; 8(1): 43.
4. Trengove NJ, Stacey MC, McGeachie DF, Mata S. Qualitative bacteriology and leg ulcer healing. *J Wound Care* 1996; 5(6): 277-80.
5. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999; 284(5418): 1318-22.
6. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15(2): 167-93.
7. Wolcott RD, Rhoads DD, Bennett ME, et al. Chronic wounds and the medical biofilm paradigm. *J Wound Care* 2010; 19(2): 45-50, 52-53.
8. James GA, Swogger E, Wolcott R, et al. Biofilms in chronic wounds. *Wound Repair Regen* 2008; 16(1): 37-44.
9. Flemming HC, Neu TR, Wozniak DJ. The EPS matrix: the "house of biofilm cells". *J Bacteriol* 2007; 189(22): 7945-47.
10. Horswill AR, Stoodley P, Stewart PS, Parsek MR. The effect of the chemical, biological, and physical environment on quorum sensing in structured microbial communities. *Anal Bioanal Chem* 2007; 387(2): 371-80.
11. Sutherland I. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology* 2001; 147(Pt 1): 3-9.
12. Rice KC, Mann EE, Endres JL, et al. The cidA murein hydrolase regulator contributes to DNA release and biofilm development in *Staphylococcus aureus*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(19): 8113-18.
13. Phillips P, Sampson E, Yang Q, et al. Bacterial biofilms in wounds. *Wound Healing Southern Africa* 2008; 1(2): 10-12.
14. Xavier JB, Foster KR. Cooperation and conflict in microbial biofilms. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(3): 876-81.
15. Hibbing ME, Fuqua C, Parsek MR, Peterson SB. Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. *Nat Rev Microbiol* 2010; 8(1): 15-25.
16. Costerton JW. The etiology and persistence of cryptic bacterial infections: a hypothesis. *Rev Infect Dis* 1984; 6 Suppl 3: S608-16.
17. Bester E, Kroukamp O, Wolfaardt GM, et al. Metabolic differentiation in biofilms as indicated by carbon dioxide production rates. *Appl Environ Microbiol* 2010; 76(4): 1189-97.
18. World Union of Wound Healing Societies (WUWHS). *Principles of best practice: Wound infection in clinical practice. An international consensus*. London: MEP Ltd, 2008.
19. Kaerberlein T, Lewis K, Epstein SS. Isolating "uncultivable" microorganisms in pure culture in a simulated natural environment. *Science* 2002; 296(5570): 1127-29.
20. Bjamsholt T, Kirketerp-Møller K, Jensen PØ, et al. Why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis. *Wound Repair Regen* 2008; 16(1): 2-10.
21. Edwards R, Harding KG. Bacteria and wound healing. *Curr Opin Infect Dis* 2004; 17(2): 91-96.
22. Dietrich LE, Price-Whelan A, Petersen A, et al. The phenazine pyocyanin is a terminal signalling factor in the quorum sensing network of *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol* 2006; 61(5): 1308-21.
23. Hurlow J, Bowler PG. Clinical experience with wound biofilm and management: a case series. *Ostomy Wound Manage* 2009; 55(4): 38-49.
24. Wolcott RD, Rhoads DD, Dowd SE. Biofilms and chronic wound inflammation. *J Wound Care* 2008; 17(8): 333-41.
25. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, et al. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995; 49: 711-45.
26. Guiot E, Georges P, Brun A, et al. Heterogeneity of diffusion inside microbial biofilms determined by fluorescence correlation spectroscopy under two-photon excitation. *Photochemistry and Photobiology* 2002; 75(6): 570-79.
27. Weigel LM, Donlan RM, Shin DH, et al. High-level vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates associated with a polymicrobial biofilm. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(1): 231-38.
28. Liu Y, Li J. Role of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm in the initial adhesion, growth and detachment of *Escherichia coli* in porous media. *Environ Sci Technol* 2008; 42(2): 443-49.
29. Davies DG, Parsek MR, Pearson JP, et al. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science* 1998; 280(5361): 295-98.
30. Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nat Rev Microbiol* 2007; 5(1): 48-56.
31. Brooun A, Liu S, Lewis K. A dose-response study of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(3): 640-46.
32. Koseoglu H, Aslan G, Esen N, et al. Ultrastructural stages of biofilm development of *Escherichia coli* on urethral catheters and effects of antibiotics on biofilm formation. *Urology* 2006; 68(5): 942-46.
33. Olson ME, Ceri H, Morck DW, et al. Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. *Can J Vet Res* 2002; 66(2): 86-92.
34. Conley J, Olson ME, Cook LS, et al. Biofilm formation by group A streptococci: is there a relationship with treatment failure? *J Clin Microbiol* 2003; 41(9): 4043-48.
35. European Wound Management Association (EWMA). Position Document: *Wound Bed Preparation in Practice*. London: MEP Ltd, 2004.
36. Lawrence JR, Swerhone GD, Kuhlicke U, Neu TR. In situ evidence for microdomains in the polymer matrix of bacterial microcolonies. *Can J Microbiol* 2007; 53(3): 450-58.
37. Wolcott RD, Kennedy JP, Dowd SE. Regular debridement is the main tool for maintaining a healthy wound bed in most chronic wounds. *J Wound Care* 2009; 18(2): 54-56.
38. Vowden KR, Vowden P. Wound debridement, Part 1: non-sharp techniques. *J Wound Care* 1999; 8(5): 237-40.
39. Vowden KR, Vowden P. Wound debridement, Part 2: sharp techniques. *J Wound Care* 1999; 8(6): 291-94.
40. O'Brien M. Debridement: ethical, legal and practical considerations. *Br J Community Nurs* 2003; 23-25.
41. Wolcott RD, Rhoads DD. A study of biofilm-based wound management in subjects with critical limb ischaemia. *J Wound Care* 2008; 17(4): 145-55.
42. Kaehn K, Eberlein T. In-vitro test for comparing the efficacy of wound rinsing solutions. *Br J Nurs* 2009; 18(11): S4-10.
43. Andriessen AE, Eberlein T. Assessment of a wound cleansing solution in the treatment of problem wounds. *Wounds* 2008; 20(6): 171-75.
44. Phillips PL, Yang Q, Sampson E, Schultz G. Effects of antimicrobial agents on an in vitro biofilm model of skin wounds. *Advances in Wound Care* 2010; 1: 299-304.

Auspiciado por una subvención educativa de B. Braun. Las opiniones expresadas en esta sección de "Made Easy" no reflejan necesariamente las de B. Braun Prontosan® es una marca registrada de B. Braun.

Lecturas adicionales

- Bryers JD. Medical Biofilms. *Biotechnology and Bioengineering* 2008; 100: 1-18.
- Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nature* 2003; 2: 114-22.
- Costerton JW, Stewart PS. Battling biofilms. *Scientific American* 2001; 285: 74-81.
- Gibson D, Cullen B, Legerstee R, et al. MMPs Made Easy. *Wounds International* 2009; 1(1). Disponible en <http://www.woundsinternational.com/article.php?issueid=1&contentid=123&articleid=21>.