

11212  
9

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

**HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ"**

**SECRETARIA DE SALUD**

**LARVATERAPIA CONTRA MANEJO CONVENCIONAL EN  
ÚLCERAS VENOSAS PARA CONTROLAR LA  
COLONIZACIÓN BACTERIANA O INFECCIÓN**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE**

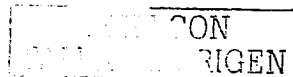
**ESPECIALISTA EN DERMATOLOGÍA**

**PRESENTA**

**DR. JOSÉ CONTRERAS RUIZ**

**MÉXICO, D.F.**

**SEPTIEMBRE DE 2003**





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**


Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**TESIS  
CON  
FALLA DE  
ORIGEN**

**AUTORIZACIONES**

**HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ"**

*60*  
  
**Dra. Ana Flisser Steinbruch**

**Directora de Investigación**

  
**Dr. Germán Fajardo Dolci**

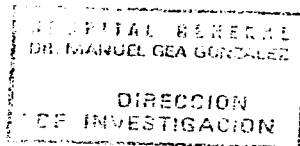
**Director de Enseñanza**

  
**Dr. Miguel Ángel García García**

**Subdirector de Enseñanza**

  
**Dr. Luciano Domínguez Soto**

**Jefe de la División de Dermatología**



Hospital General  
"Dr. Manuel Gea González"

Subdirección de Enseñanza

  
SUBDIRECCION  
DIVISION  
FACULTAD  
CENTRAL

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**COLABORADORES**



**Dra. Judith Domínguez Cherit**

**Tutora de la Tesis**

**Médico Adscrito de Dermatología. Hospital General "Dr. Manuel Gea González"**



**Dra. Cristina Sosa de Martínez**

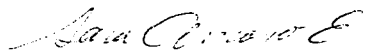
**Co-Tutora de Metodología y Estadística**

**Investigador Titular. Departamento de Metodología de Investigación.  
Instituto Nacional de Pediatría.**



**Dr. Adán Fuentes Suárez**

**Residente de Primer Año de Dermatología. Hospital General "Dr. Manuel Gea González"**



**Q.C. Sara Arroyo Escalante**

**Sección de Microbiología. Hospital General "Dr. Manuel Gea González"**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



**Biól. Ernesto Maravilla Franco**

**Microbiólogo. Laboratorio de Microbiología Clínica. Departamento de  
Infectología. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Dr.  
Salvador Zubirán".**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

LARVATERAPIA CONTRA MANEJO CONVENCIONAL EN ÚLCERAS  
VENOSAS PARA CONTROLAR LA COLONIZACIÓN BACTERIANA O  
INFECCIÓN

José Contreras-Ruiz\*,  
Adán Fuentes-Suárez\*,  
Sara Arroyo-Escalante\*\*,  
Cristina Sosa-de-Martínez\*\*\*,  
Ernesto Maravilla-Franco\*\*\*\*,  
Judith Domínguez-Cherit\*\*\*\*\*

En el Hospital General "Dr. Manuel Gea González":

\* Médico Residente. Departamento de Dermatología  
\*\* Química Clínica. Sección de Microbiología  
\*\*\*\*\* Médico Adscrito. Departamento de Dermatología.

En el Instituto Nacional de Pediatría:

\*\*\* Investigador Titular. Departamento de Metodología  
de Investigación.

En el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y  
Nutrición "Dr. Salvador Zubirán":

\*\*\*\*Biol. Ernesto Maravilla Franco. Microbiólogo.  
Laboratorio de Microbiología Clínica.  
Departamento de Infectología.

TESIS CON  
FALLA EN ORDEN

**Correspondencia y solicitudes de reimpresos:**

**Dr. José Contreras Ruiz**

**Departamento de Dermatología**

**Hospital General "Dr. Manuel Gea González"**

**Calzada de Tlalpan 4800. Col. Toriello Guerra**

**Tlalpan 14000, D.F. MÉXICO**

**Correo electrónico: [contruiz@prodigy.net.mx](mailto:contruiz@prodigy.net.mx)**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



## Resumen

La larvaterapia es el uso de larvas estériles de la mosca verde (*Lucilia sericata*) para desbridar tejido necrótico. Observaciones recientes señalan que el uso de larvas para desbridar heridas tiene el beneficio agregado de destruir a las bacterias en la herida. Por lo tanto se decidió llevar al cabo un estudio controlado para responder si la larvaterapia altera la cantidad y tipo de bacterias presentes en úlceras venosas crónicas.

Diecinueve pacientes fueron aleatorizados a uno de dos grupos para recibir larvaterapia o tratamiento convencional con curetaje y plata tópica. Las evaluaciones clínicas se realizaron semanalmente por 4 semanas para evaluar estado de la herida y efectos colaterales. Las bacterias fueron evaluadas utilizando cultivos cuantitativos por biopsia. Cuando se compararon ambos grupos, la larvaterapia no mostró diferencia con el manejo convencional excepto por mayor ansiedad, secreción y olor. Los cultivos cuantitativos mostraron un mayor número de bacterias Gram negativas en el grupo tratado con larvaterapia. En conclusión, este pequeño estudio comparativo sugiere que aquellos tratados con larvaterapia tuvieron menores cuentas de Gram positivos mientras que se observó aumento en las Gram negativas. Las diferencias clínicas en relación a la mejoría de la úlcera no pudieron detectarse.

Palabras clave: Larvaterapia, larvas, desbridación, úlcera venosa.

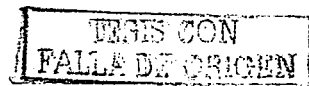
TEXIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Abstract

Larval debridement therapy is the use of sterile maggots of the green bottle fly (*Lucilia sericata*) to remove necrotic tissue. Recent observations state that the use of larvae to debride wounds has the added benefit of destroying the bacteria in the wound. Therefore we underwent a controlled trial to answer whether or not larval debridement therapy altered the quantity and quality of bacteria present in chronic venous ulcers.

Nineteen patients were randomized into 2 groups to receive either larval debridement therapy, or conventional treatment with curettage and topical silver. Clinical evaluations were performed weekly for 4 weeks to assess for wound stage and side effects. Bacteria were evaluated using quantitative biopsy cultures. When the two groups were compared, larval debridement therapy showed no difference to conventional treatment except for an increase in anxiety, odor and secretion. Quantitative cultures showed higher Gram negative bacterial counts in the group treated with larval debridement. In conclusion, this small comparative study suggests that those treated with larval debridement therapy had decreased counts of Gram positive bacteria whereas an increase in Gram negative bacteria was observed. Clinical differences as to ulcer improvement between groups could not be detected.

Key words: Larval debridement therapy, maggots, debridement, venous ulcers.



## Introducción

En 1931, el ortopedista norteamericano William S Baer (1) inicia la aplicación científica de larvas con fines curativos en pacientes pediátricos con osteomielitis en Johns Hopkins, dando así inicio a la larvaterapia (LT). Sin embargo, con el advenimiento de los antibióticos y las nuevas técnicas quirúrgicas, la LT fue cayendo en desuso y entre los 40's y los 80's solamente se encuentran reportes aislados de miasis accidentales (2). En 1985, la LT fue redescubierta por el Dr. Ronald A Sherman en Irvine, California. (3,4) A partir de entonces se difundió su empleo en algunos centros, en particular para la desbridación de heridas infectadas. (5)

La LT consiste en el uso de larvas estériles de mosca verde de botella (*Lucilia sericata*), para la desbridación de escaras y tejido necrótico en heridas crónicas, infectadas o no. (6)

Cortenay et al. en 2000 (7) publicaron un estudio retrospectivo donde encontraron que los cultivos bacterianos se hicieron negativos en 5 de 16 heridas estudiadas. Cabe señalar que algunos autores suponen actividad de las larvas sobre diversas bacterias. (8-10)

El objetivo del presente trabajo fue realizar un ensayo clínico controlado para comparar, en úlceras venosas crónicas, la larvaterapia con la terapia quirúrgica con curetaje, en términos de los aspectos clínicos y del conteo bacteriano final y si fuese el caso, de que los cultivos se hagan negativos.

## **Material y Métodos**

Se realizó un estudio descriptivo, prospectivo, comparativo, experimental de tipo ensayo clínico controlado, (11) paralelo, en donde tanto quien realizaba las evaluaciones clínicas (AFS), como quien realizaba el análisis estadístico (MCM) desconocía el tratamiento aplicado.

Se incluyeron pacientes de la consulta externa de dermatología de primera vez con diagnóstico de úlcera venosa de más de 6 semanas de evolución, que aceptaron participar y firmaron el consentimiento informado. Se excluyeron los que hubieran utilizado antibiótico tópico 7 días antes o padecían de insuficiencia arterial, diabetes o inmunosupresión de cualquier etiología.

Para el cálculo del tamaño de muestra, se supuso que la proporción de curación en el Grupo I (Larvaterapia) sería del 90% de los pacientes y la del Grupo II (Control), de 30%, (12), lo que resultó en que cada grupo estaría integrado por diez individuos (13).

Prevía explicación del estudio y firma de la carta de consentimiento informado, el investigador JCR aplicó a cada paciente el tratamiento señalado en un sobre cerrado, en función de la aleatorización realizada mediante la función de números aleatorios de Excel.

En el Grupo I, con larvaterapia, se utilizó la técnica descrita por Sherman (14), consistente en lavar la herida con solución fisiológica, secarla y proteger la piel perilesional con hidrocoloide. Las larvas se colocaron dentro de la oquedad central, a través de la cual tenían acceso a la herida. Se aplicaron 7 larvas por cm<sup>2</sup> de superficie. Se cubrieron con una tela de tejido fino y se sellaron los bordes con cianocrilato (Kola Loca®). Se colocaron gasas secas que el paciente debía cambiar cada 4 horas. (Figura 1)

La preparación de las larvas se realizó de acuerdo a la técnica modificada por Sherman (15), utilizando ortoftaldehído (Cidex®) durante 8 minutos y sembrarlas en agar sangre estéril. Se realizaron cultivos de control de cada lote para garantizar la esterilidad. Las cajas permanecieron a temperatura ambiente hasta la eclosión de los huevos, que se dejaron madurar 14 horas antes de ser usados.

El Grupo II, que fungió como control recibió manejo convencional, consistente en aplicar lidocaína tópica (como anestésico), realizar con cureta de 4 mm, una desbridación gentil de la superficie de la úlcera desprendiendo todo el material necrótico, lavar con solución fisiológica y secar el exceso de líquido. En todas las heridas, se aplicó sulfadiazina de plata (Argentafil®) como antibiótico tópico, o bien, cuando el paciente era alérgico a las sulfas, plata nanocrystalina (Acticoat ®).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En cada sujeto se colocaron apósitos convencionales en función de la cantidad de exudado que se evaluó en la hoja de calificación de la herida y se aplicaron vendajes compresivos. Para heridas con poco o ningún exudado se utilizaron membranas (Opsite ® o Tegaderm ®), gasas con petrolato (Jelonet ®) o hidrocoloides (Replicare Ultra ®); para exudado moderado, apósitos hidrocelulares (Allevyn®) y/o gasas no adherentes en mayor cantidad combinadas con gasas secas; para heridas muy exudativas alginatos (AlgisiteM®) o hidrofibras (Aquasorb®) solos o en combinación con los anteriores.

Los pacientes fueron evaluados semanalmente en 5 ocasiones. Los aspectos subjetivos se investigaron al preguntar al paciente sobre los siguientes aspectos: dolor, olor y ansiedad, los cuales fueron medidos utilizando una escala visual análoga. (16,17) El investigador valoró también dichos aspectos con la citada escala.

En el aspecto clínico, se determinó el tamaño, profundidad, cantidad de secreción y porcentaje de tejido de granulación, fibrina o escara presentes en la úlcera. El tamaño se valoró de acuerdo a Kantor (18) multiplicando el largo mayor y el ancho mayor perpendicular al primero.

La profundidad se calificó del 0 al 5 de la siguiente forma: cero si la herida había cerrado; 1 si afectaba la epidermis; 2 si afectaba la dermis; 3 si llegaba a tejido celular subcutáneo (TCS); 4 si afectaba músculo o tendón y 5 si afectaba el hueso o la articulación. (19)

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Se realizaron cultivos cuantitativos por biopsia de 4 mm de la lesión al inicio, a la mitad y al final del periodo de observación. Se empleó la técnica descrita por Loebl et al. (20,21) y las modificaciones de Sapico et al. (22): previa limpieza de la herida con una gasa empapada en solución fisiológica, se seleccionó el área del centro de la úlcera con la menor cantidad de tejido purulento, de preferencia áreas que estaban granulando. Se tomó una biopsia con un sacabocados de 4 mm (cuando la úlcera era menor de 4cm<sup>2</sup>. ya no se tomó biopsia para cultivo).

Las biopsias se colocaron en medio de transporte Stuart. El intervalo entre la toma y el cultivo fue menor de 120 minutos. La muestra se colocó en solución salina estéril para lavar los restos del medio. Después se pesó y se colocó en un mortero con 1ml de caldo de tioglicolato y se molió con un mortero hasta obtener una suspensión razonablemente homogénea. Se tomaron 1, 10 y 50 µl de esa suspensión y se inocularon en 9 placas. El inóculo se estrió por estría radial para conteo. Para los cultivos aerobios y anaerobios facultativos, se usó agar sangre de carnero y agar McConkey. El medio para anaerobios obligados fue el agar de feniletilalcohol. (23)

Las placas aeróbicas se incubaron 48 horas a 37°C y se revisaron. Las anaerobias también se incubaron a esta temperatura en una atmósfera anaerobia (N<sub>2</sub> 80%, H<sub>2</sub> 10% y CO<sub>2</sub> 10%) utilizando la técnica de vacío-reemplazamiento y se revisaron a las 48 horas.

DESIG. COVA  
FALLA DE ORIGEN

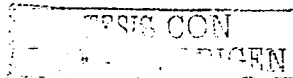
Si presentaba desarrollo se realizaba el conteo de colonias. Se seleccionaron colonias y resembraron para hacerles pruebas de identificación y susceptibilidad antimicrobiana a las 24 horas utilizado método semiautomatizado (Vitek®). Si la bacteria no era identificada se realizaron pruebas bioquímicas convencionales. El resultado de los cultivos se reportó en unidades formadoras de colonia por gramo de tejido (UFC/g). (24,25)

En todos los pacientes se evaluó la presencia de efectos colaterales. En el Grupo I, se investigó también la fuga o aplastamiento de las larvas.

En el caso de que la herida aumentara de tamaño entre una visita y otra, se consideró falla en el tratamiento y se administraron antibióticos sistémicos. Si por alguna enfermedad concomitante el paciente recibía antibióticos sistémicos, dicho paciente debía de eliminarse del estudio.

La información recabada se recolectó en formas diseñadas ex-profeso. Para la parte operativa del análisis estadísticos se utilizó el paquete de programas de cómputo denominado "Biomedical Computer Programs, D-Series" (BMDP) (Versión 7).

Como variable explicativa fungió la pertenencia a Grupo (Grupo I o Grupo II). En primer lugar, en función de la escala de medición de las variables involucradas, en cada grupo se describió la información, tanto gráfica como numéricamente, esto último mediante la realización de estadísticas descriptivas. Respecto a la estadística inferencial, se aplicaron diversas técnicas estadísticas (dos colas con  $\alpha=0.05$ ) para investigar la presencia de diferencias significativas en las asociaciones a investigar.





Debido a que la variable explicativa fue de tipo categórico, cuando la variable respuesta también era de tipo categórico y estaba medida en escala nominal, se realizó la prueba exacta de Fisher. Debido al reducido tamaño de la muestra, no fue posible contrastar variables que tuviesen más de dos categorías. Cuando la variable respuesta estaba medida en escala de tipo ordinal o bien, de razón, se utilizó la prueba Kruskal Wallis, para comparar dentro de cada grupo, los resultados obtenidos en el momento final con respecto al inicial, se utilizó la prueba de Wilcoxon.

En primer lugar, se realizó una contrastación entre los dos grupos en función de los resultados obtenidos en las variables iniciales del estudio, a fin de investigar la validez interna. A continuación, se procedió a comparar los resultados obtenidos entre ambos grupos en función de las variables de interés primario del estudio, así como de las variables auxiliares a las de interés primario. Finalmente, se contrastaron los resultados obtenidos en el momento final del estudio con los del momento inicial dentro de cada grupo.

El protocolo fue aprobado por el comité de ética de la institución sede.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Resultados

Se incluyeron 19 pacientes. Dos pacientes del grupo asignado a larvaterapia fueron eliminados, uno debido a que solamente acudió a la primera cita y el otro debido a importante dislalia que le impedía comunicarse. De tal manera que el Grupo I (Larvaterapia) quedó conformado por 8 pacientes, y el Grupo II (Control) por 9 pacientes.

Al contrastar los valores iniciales obtenidos en cada grupo, (Cuadros 1 a 3) no se detectaron diferencias significativas entre los grupos, excepto en el caso de la edad en donde se encontraron diferencias debido a que la edad de los pacientes del Grupo I era mayor (mediana 77.5 vs. 56 años).

En la evaluación clínica, tampoco se detectaron diferencias significativas. (Cuadros 1 a 3) En el caso de la evaluación realizada por los pacientes, los que recibieron larvaterapia refirieron un aumento en el mal olor significativamente mayor que los controles ( $p=0.02$ ) y una mayor cantidad de secreción ( $p=0.04$ ), aunque en ambos grupos el dolor fue calificado de la misma intensidad. La larvaterapia generó en los pacientes mayor ansiedad que en los controles ( $p=0.02$ ) (Cuadro 2)

Se aislaron 41 microorganismos diferentes en los cultivos, que se agruparon en Gram positivas, Gram negativas y anaerobias. En cada paciente, la bacteria con el conteo más alto en cada uno de los grupos citados, fue utilizada en las visitas posteriores para determinar variación en su cantidad. (26,27)

En el momento inicial del estudio, no se detectaron diferencias significativas en términos de la cantidad de bacterias encontradas. Al final de la evaluación, los pacientes que recibieron larvaterapia presentaron mayor cantidad de bacterias Gram negativas que los controles ( $p=0.02$ ).

Al contrastar dentro de cada grupo los resultados observados al momento final del estudio mediante la prueba de, con respecto a los del momento inicial, mediante la prueba de Wilcoxon, se encontró lo siguiente:

En el grupo I disminuyeron la extensión de la herida, la secreción, el dolor y otras molestias, y aumentaron, la duración de las molestias, el olor y la ansiedad, todos ellos sin que se detectaran diferencias significativas ( $p>0.05$ ). Sin embargo, la fibrina disminuyó y la granulación aumentó de forma significativa ( $p=0.03$ ). Las bacterias Gram positivas y negativas disminuyeron pero los anaerobios aumentaron, nuevamente sin diferencias significativas. (Figura 2)

En el grupo II también disminuyeron de forma no significativa, la extensión, la cantidad de fibrina, el dolor, el olor, la ansiedad, y aumentó el tejido de granulación. De forma significativa disminuyó solamente la cantidad de secreción ( $p=0.03$ ). Las bacterias Gram negativas y positivas también disminuyeron sin que hubiera cambios en los anaerobios. (Figura 3)

La molestia más frecuentemente reportada por ambos grupos fue dolor y requirió en casi todos de analgésicos no esteroideos y en ocasiones tramadol. Un solo paciente en el grupo de larvaterapia requirió hospitalización debido a sangrado de tubo digestivo alto por uso excesivo de analgésicos no esteroideos.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En el grupo tratado con larvaterapia se observó comúnmente aplastamiento de las larvas y fuga de las mismas.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Discusión

Para comparar la LT contra el manejo convencional con curetaje y aplicación tópica de plata, se hizo un supuesto de la mejoría sería de 90% en el grupo de larvaterapia dado que Sherman (12) encontró que las heridas tratadas de manera convencional aumentaban de tamaño en un periodo de 8 semanas mientras que las tratadas con LT disminuyeron.

Al comparar la edad, los pacientes en el grupo I eran mayores desde el inicio. Esto podría haber afectar los resultados aunque Margolis et al. (28) no encontraron que la edad sea en si un factor importante para que una herida no cierre.

Clinicamente no se detectaron diferencias entre la eficacia de los dos tratamientos medida de acuerdo a la disminución del tamaño y la profundidad, el aumento en el tejido de granulación y disminución de la fibrina al final del periodo de observación. Al hacer el análisis intragrupal encontramos que esto se debió a que ambos grupos mejoraron de manera comparable con diferencia significativa de la cantidad de fibrina y tejido de granulación en el grupo I.

Los pacientes tratados con larvaterapia refirieron mayor ansiedad y mal olor en comparación con la terapia convencional, lo que contrasta con Markevich et al, quien encontró que al menos en pie diabético disminuyó en 10 días. (29)

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

El dolor en los pacientes fue el mismo en ambos grupos y siempre se mantuvo por arriba de 6 en una escala de 0 a 10. Esto coincide con lo reportado previamente donde se comenta que las úlceras superficiales que presentan dolor desde un inicio, se hacen muy dolorosas durante la larvaterapia. (15,30)

Se decidió dividir a las bacterias en Gram positivas, Gram negativa y Anaerobias de acuerdo a la significancia clínica que estas tienen en la progresión de la herida. (25,26) Al final de 20 días de observación y tratamiento, no detectamos diferencia significativa en cuanto al número de bacterias Gram positivas y anaerobias, sin embargo, el número de bacterias Gram negativas aumentó de forma significativa en el grupo tratado con larvaterapia. Pensamos que esto debe interpretarse con cuidado dado que el número de pacientes analizados fue pequeño y a que la variabilidad de organismos y cantidad de colonias aisladas por gramo de tejido también fue muy variable. Por otro lado, se ha reportado actividad de las larvas contra *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus* A y B in vitro. (8,9,31), y Mumcuoglu et al. refieren que la actividad contra *Pseudomonas spp*, *E coli*, y *Proteus spp* es controvertida (30) lo que podría explicar el porqué disminuyeron las bacterias Gram positivas y se presentó un mayor número de colonias Gram negativas.

Decidimos realizar la terapia de forma ambulatoria dado que previamente se había demostrado su utilidad (32). Esto en muchos casos fue problemático porque con frecuencia los pacientes aplastaron las larvas o se les escaparon del apósito con la consecuente reducción en la eficacia de la LT.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En conclusión podemos mencionar que el presente trabajo sugiere que la larvaterapia representa una alternativa de tratamiento para la desbridación de heridas crónicas que el curetaje con aplicación tópica de plata, aunque la larvaterapia produce mayor cantidad de secreciones, ansiedad y peor olor. Disminuye también los conteos bacterianos de Gram positivos mas no así los de Gram negativos aunque estos datos deben tomarse con cautela pues es necesario investigar con un seguimiento mas largo y con un mayor número de casos.

TESIS CON  
EXAMEN CUBIERTO

## **Agradecimientos**

A la Dra. Ana Laura Gutiérrez Aguayo por su apoyo en el cuidado de las moscas. Al Dr. Ramón Ruiz Maldonado por el espacio para su crianza. Al QBP David Moncada Barrón por permitirnos el uso del laboratorio de microbiología. Al Dr. Ronald Sherman por contribuir con información sobre la crianza de *Lucilia sericata*. Al Dr. R. Gary Sibbald por sus consejos sobre el manejo de a información bacteriológica.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## Referencias

- 1) Baer WS. The treatment of chronic osteomyelitis with the maggot (larva of the blow fly). *J Bone Joint Surg Am* 1931; 13: 438-75.
- 2) Sherman RA. Wound myiasis in urban and suburban United States. *Arch Intern Med* 2000; 160: 2004-14.
- 3) Shinkman R. Worms and squirms. Maggots, leeches are making a comeback in modern medicine. *Mod Healthcare* 2000; XX: 54-5.
- 4) Sherman RA, Hall MJR, Thomas S. Medicinal maggots: An ancient remedy for some contemporary afflictions. *Ann Rev Entomol* 2000; 45: 55-81.
- 5) Sherman RA. Maggot therapy - The last five years. *Eur Tissue Repair Soc* 2000; 7: 97-8.
- 6) Thomas S, Jones M. Wound debridement: evaluating the costs. *Nurs Stand* 2001; 15: 56-61.
- 7) Courtenay M, Church JCT, Ryan TJ. Larva therapy in wound management. *J R Soc Med* 2000; 93: 72-4.
- 8) Bonn D. Maggot therapy: an alternative for wound infection. *Lancet* 2000; 356: 1174.
- 9) Mumcuoglu KY. Clinical applications for maggots in wound care. *Am J Clin Dermatol* 2001; 2: 219-27.
- 10) Wolff H, Hansson C. Larval therapy for a leg ulcer with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Acta Derm Venereol* 1999; 79: 320-335.
- 11) Sosa-de-Martinez MC, Pablos-Hach JL, Santos-Atherton D. Guía para elaborar el protocolo de investigación. Parte 2. Clasificación del protocolo de investigación. *Acta Ped Mex* 1994; 15: 139-45
- 12) Sherman RA. Maggot debridement therapy for treating non-healing wounds. *Wound Repair Regeneration* 2000; 8: 327.
- 13) Cañedo LD, García RH, Méndez RI. Principios de investigación médica. México: Ediciones DIF. 1977:399-400
- 14) Sherman RA. A new dressing for use in maggot therapy. *Plast Reconstr Surg* 1997; 100: 451-6.
- 15) Sherman RA, My-Tien Tran J, Sullivan R. Maggot therapy for venous stasis ulcers. *Arch Dermatol* 1996; 132: 254-6.

- 16) Marx RG, Bombardier C, Hogg-Johnson S, et al. Clinimetric and psychometric strategies for development of a health measurement J Clin Epidemiol 1999;52:105-11.
- 17) Feinstein AR. An additional basic science for clinical medicine: IV. The development of Ann Intern Med 1983;99:843-8.
- 18) Kantor J, Margolis DJ. Efficacy and prognostic value of simple wound measurements. Arch Dermatol 1998; 134: 1571-74.
- 19) Falanga V. Staging system for wound preparation. Wound Healing Society Meeting, Toronto, June 6, 2000
- 20) Loeb EC, Marvin JA, Heck EI, et al. The method of quantitative burn-wound biopsy cultures and its routine use in the care of the burned patient. Am J Clin Pathol 1974;61:20-4
- 21) Bharadwaj R, Joshi BN, Phadke SA. Assessment of burn wound sepsis by swab, full thickness biopsy culture and blood culture--a comparative study. Burns Incl Therm Inj 1983;10:124-6.
- 22) Sapico FL, Canawati HN, Witte JL, et al. Quantitative aerobic and anaerobic bacteriology of infected diabetic feet. J Clin Microbiol. 1980 Sep;12(3):413-20.
- 23) Murray PR (Ed). Manual of Clinical Microbiology USA: Amer Society for Microbiology, 2003.
- 24) Steer JA, Papini RP, Wilson AP, et al. Quantitative microbiology in the management of burn patients. I. Correlation between quantitative and qualitative burn wound biopsy culture and surface alginate swab culture. Burns 1996;22:173-6.
- 25) Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. Clin Microbiol Rev 2001;14:244-69.
- 26) Dow G, Browne A, Sibbald G. Infection in chronic wounds: Controversies in diagnosis and treatment. Ostomy Wound Manage 1999; 45: 23-40.
- 27) Dow G. Infection in chronic wounds. In: Krasner DL, Rodeheaver GT, Sibbald RG. Chronic wound care: A clinical source book for healthcare professionals. Pennsylvania: HMP Communications, 2001: 343-356.
- 28) Margolis DJ, Knauss J, Bilker W, et al. Medical conditions as risk factors for pressure ulcers in an outpatient setting. Age Ageing 2003;32:259-64.

29) Markevich YO, McLeod-Roberts M, Mousley M, et al. Maggot therapy for diabetic neuropathic foot wounds: A randomized study. Abstract. 36th Annual Meeting of the EASD. Jerusalem, Israel. Sep 2000.

30) Mumcuoglu KY, Ingber A, Gilead L, et al. Maggot therapy for the treatment of diabetic foot ulcers. Diab Care 1998; 21: 2030-1.

31) Weil JC, Simon RJ, Sweadner WR. A biological, bacteriological and clinical study of larval or maggot therapy in the treatment of acute and chronic pyogenic infections. Am J Surg 1933; 19: 36-48.

32) Sherman RA, Sherman JMT, Gilead L, et al. Maggot débridement therapy in outpatients. Arch Phys Med Rehab 2001; 82: 1226-9

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**CUADRO 1. Características de los pacientes, profundidad de la herida, secreción, efectos colaterales y manejo.**

	<b>Grupo I Larvaterapia n=10</b>	<b>Grupo II Control n=9</b>	<b>Prueba exacta de Fisher p =</b>
<b>Masculino</b>	5	5	1
<b>Alergia a la sulfas</b>	2	2	1
<b>Visita basal (Día 0)</b>			
<b>Profundidad de la herida</b>	<b>n=9</b>	<b>n=9</b>	
Cerrada	0	0	
Epiermis	0	0	
Dermis	0	5	
TCS	7	4	
Músculo/Fascia	2	0	
Hueso	0	0	
<b>Cantidad de secreción</b>	<b>n=9</b>	<b>n=9</b>	
Nada o mínima	1	3	
Moderada	3	3	
Muy exudativa	5	3	
<b>Visita a los 5 días</b>			
<b>Profundidad de la herida</b>	<b>n=8</b>	<b>n=9</b>	
Cerrada	0	0	
Epiermis	0	2	
Dermis	2	5	
TCS	3	2	
Músculo/Fascia	3	0	
Hueso	0	0	
<b>Cantidad de secreción</b>	<b>n=8</b>	<b>n=9</b>	
Nada o mínima	1	2	
Moderada	2	5	
Muy exudativa	5	2	
<b>Efectos colaterales</b>	<b>n=7</b>	<b>n=9</b>	
Ninguno	1	4	
Dolor	4	5	
Piquetes	0	0	
Punzadas	2	0	
Ardor	0	0	
Sangrado	0	0	
<b>Tratamiento</b>	<b>n=8</b>	<b>n=9</b>	
Ninguno	4	6	
AINE	4	3	0.63
Opioides	0	0	
<b>Visita a los 10 días</b>			
<b>Profundidad de la herida</b>	<b>n=8</b>	<b>n=9</b>	
Cerrada	0	1	
Epiermis	0	2	
Dermis	4	5	
TCS	3	1	
Músculo/Fascia	1	0	
Hueso	0	0	

<b>Cantidad de secreción</b>	<b>n=8</b>	<b>n=9</b>	
Nada o mínima	2	3	
Moderada	3	5	
Muy exudativa	3	1	
<b>Efectos colaterales</b>	<b>n=8</b>	<b>n=9</b>	
Ninguno	2	5	
Dolor	5	3	
Piquetes	1	0	
Punzadas	0	0	
Ardor	0	1	
Sangrado	0	0	
<b>Tratamiento</b>	<b>n=8</b>	<b>n=9</b>	
Ninguno	4	5	
AINE	4	4	1
Opioides	0	0	
<b>Visita a los 15 días</b>			
<b>Profundidad de la herida</b>	<b>n=8</b>	<b>n=9</b>	
Cerrada	0	1	
Epiermis	0	2	
Dermis	4	4	
TCS	4	2	
Músculo/Fascia	0	0	
Hueso	0	0	
<b>Cantidad de secreción</b>	<b>n=8</b>	<b>n=8</b>	
Nada o mínima	1	2	
Moderada	3	5	
Muy exudativa	4	1	
<b>Efectos colaterales</b>	<b>n=7</b>	<b>n=8</b>	
Ninguno	2	6	
Dolor	5	2	
Piquetes	0	0	
Punzadas	0	0	
Ardor	0	0	
Sangrado	0	0	
<b>Tratamiento</b>	<b>n=8</b>	<b>n=8</b>	
Ninguno	3	7	
AINE	4	1	
Opioides	1	0	
<b>Visita Final</b>			
<b>Profundidad de la herida</b>	<b>n=7</b>	<b>n=7</b>	
Cerrada	0	1	
Epiermis	0	2	
Dermis	4	3	
TCS	3	1	
Músculo/Fascia	0	0	
Hueso	0	0	
<b>Cantidad de secreción</b>	<b>n=7</b>	<b>n=6</b>	
Nada/Minima	0	3	
Moderada	4	1	
Muy exudativa	3	2	

<b>Efectos colaterales</b>	<b>n=6</b>	<b>n=6</b>	
Ninguno	3	3	
Dolor	3	3	1
Piquetes	0	0	
Punzadas	0	0	
Ardor	0	0	
Sangrado	0	0	
<b>Tratamiento</b>	<b>n=7</b>	<b>n=6</b>	
Ninguno	4	4	
AINE	2	2	
Opioides	1	0	
<b>Requirieron hospitalización</b>	<b>n=7</b>	<b>n=7</b>	
	1	0	1

**CUADRO 2. Larvaterapia contra manejo convencional. Edad, sexo, evolución y evaluaciones subjetivas**

	Grupo I (Larvaterapia)				Grupo II (Control)				Estadístico de Wilcoxon	
	Mediana	Mínimo	Máximo	n1=	Mediana	Mínimo	Máximo	n2=		p=
<b>Edad (años)</b>	77.5	53	93	10	56	42	79	9	74.5	0.01*
<b>Tiempo de evolución (meses)</b>	18.5	4	408	10	84	3	180	9	31	0.25
<b>Inicio del estudio (Basal)</b>										
Olor	2	0	9	9	2	0	6	9	49	0.43
Dolor	8	0	10	9	5	0	10	9	46	0.61
Ansiedad	5	0	10	9	5	0	8	9	42	0.89
Cantidad de secreción	6	3	9	9	6	3	10	9	39.5	0.92
<b>Visita a los 5 días:</b>										
Olor	2.5	0	10	8	8	0	10	9	34	0.84
Dolor	9	2	10	8	6	0	10	9	51	0.14
Ansiedad	8	3	8	8	5	1	10	9	46.5	0.29
Cantidad de secreción	8	0	10	8	5	0	10	9	53.5	0.08
Duración de la molestia										
(hs/semana)	7	0	72	8	2	0	84	9	40	0.69
<b>Visita a los 10 días:</b>										
Olor	6.5	0	10	8	1	0	6	9	54	0.07
Dolor	8	3	10	8	4	0	10	9	44.5	0.4
Ansiedad	7	0	10	8	0	0	10	9	51	0.13
Cantidad de secreción	8	4	10	8	5	0	8	9	56	0.05
Duración de la molestia										
(hs/semana)	12	0	168	8	0	0	96	9	45	0.36
<b>Visita a los 15 días:</b>										
Olor	8	0	10	8	5	0	10	9	43.5	0.46
Dolor	8	0	10	8	2	0	10	9	53.5	0.08
Ansiedad	7	0	9	8	0	0	10	9	49.5	0.18
Cantidad de secreción	8	4	10	8	5	0	7	9	59.5	0.02*
Duración de la molestia										
(hs/semana)	42	0	168	8	0	0	74	8	48.5	0.06
<b>Visita a los 20 días:</b>										
Olor	7	0	10	7	2	0	4.5	7	41.5	0.02*
Dolor	6	0	10	7	1	0	5	7	38.5	0.07
Ansiedad	7	0	9	7	0	0	5	7	41.5	0.02*
Cantidad de secreción	6	2	9	7	3	0	6	7	40	0.04*
Duración de la molestia										
(hs/semana)	21	0	168	7	1	0	24	6	27.5	0.32

(\*): Significancia estadística; (‡): Con distribución de Ji-Cuadrada

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**CUADRO 3. Larvaterapia contra manejo convencional. Evaluaciones objetivas.**

	Grupo I (Larvaterapia)				Grupo II (Control)				Estadístico	
	Mediana	Mínimo	Máximo	n1=	Mediana	Mínimo	Máximo	n2=	de Wilcoxon	p=
<b>Inicio del estudio (Basal) (0-10)</b>										
Largo de la herida (cms)	8.89	4	11.69	9	7.3	1.8	12.3	9	49	0.45
Ancho de la herida (cms)	3.09	2.09	10.39	9	3.5	0.9	7.9	9	42	0.89
Extension inicial (largo x ancho)	23.13	9.23	105.04	9	28	2.16	97.17	9	49	0.45
Granulación (%)	25	5	95	9	30	10	90	9	35.5	0.65
Cantidad de fibrina (%)	70	5	93	9	55	10	85	9	46.5	0.59
Escara (%)	0	0	20	9	5	0	15	9	27	0.17
<b>Visita a los 5 días:</b>										
Largo de la herida (cms)	8.89	4.3	11.5	8	7.69	0.6	12.39	9	44.5	0.41
Ancho de la herida (cms)	3.9	2.2	9.1	8	4.3	0.4	9.3	9	41.5	0.59
Granulación (%)	75	10	100	8	70	30	100	9	35.5	0.96
Cantidad de fibrina (%)	25	0	90	8	20	0	70	9	37	0.92
Escara (%)	0	0	10	8	0	0	10	9	36.5	0.93
<b>Visita a los 10 días:</b>										
Largo de la herida (cms)	9.25	3.8	13.19	8	7.8	0	13.5	9	49	0.21
Ancho de la herida (cms)	2.75	0.05	12	8	4.3	0	12.39	9	33	0.77
Granulación (%)	77.5	30	100	8	70	0	100	9	40.5	0.66
Cantidad de fibrina (%)	20	0	70	8	10	0	70	9	38.5	0.8
Escara (%)	0	0	5	8	0	0	0	9	40.5	0.28
<b>Visita a los 15 días:</b>										
Largo de la herida (cms)	7.69	4.5	13.8	8	5.5	0	12	9	50	0.17
Ancho de la herida (cms)	3.15	2.09	11	8	2.8	0	8.69	9	46	0.33
Granulación (%)	82.5	40	100	8	50	0	100	9	47.5	0.26
Cantidad de fibrina (%)	12.5	0	60	8	30	0	70	9	33	0.76
Escara (%)	0	0	10	8	0	0	5	9	37	0.86
<b>Visita a los 20 días:</b>										
Largo de la herida (cms)	5.3	0.08	13.19	7	2.2	0	11.8	7	32.5	0.3
Ancho de la herida (cms)	3.3	1.7	11.5	7	1.8	0	8.5	7	34.5	0.2
Extension final (largo x ancho)	16.82	0.58	122.76	7	3.96	0	100.3	7	32	0.33
Granulación (%)	90	40	100	7	60	0	90	7	36.5	0.12
Cantidad de fibrina (%)	10	0	60	7	20	0	100	7	17.5	0.35
Escara (%)	0	0	10	7	0	0	0	7	28	0.31
Diferencia en la extensión (final-inicial)	-2.2	-41.3	20.97	7	-2.69	-24.04	9.3	7	28.5	0.6

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



**CUADRO 4. Larvaterapia contra manejo convencional en úlceras venosas crónicas colonizadas y/o infectadas: Conteos bacterianos.**

	Grupo I Larvaterapia				Grupo II Control				Estadístico de Mann-Whitney	
	Mediana	Mínimo	Máximo	n1=	Mediana	Mínimo	Máximo	n2=	‡	¶
<b>Basal (Día 0)</b>										
Gram positivos	444.5	0	3600000	10	21987	0	2600000	8	21.5	0.09
Gram negativos	1197	0	12500000	10	881	0	4000000	8	39	0.92
Anaerobios	0	0	0	9	0	0	0	8	36	1
<b>Intermedia (Día 10)</b>									41	0.3
Gram positivos	414414	0	3140000	7	3141	0	3525000	9	30	0.86
Gram negativos	0	0	756000	7	0	0	17100000	9	25	0.36
Anaerobios	0	0	10810	7	0	0	155660	9		
<b>Final (Día 20)</b>										
Gram positivos	41500	0	212766	5	0	0	162600	7	26.5	0.11
Gram negativos	3977	0	42553	5	0	0	0	7	28	0.02*
Anaerobios	0	0	1000000	5	0	0	0	7	21	0.23
<b>Diferencias (Final - Basal)</b>										
Gram +	3762		75000	5	-4697		118547	6	18	0.58
Gram -	-1295	-58571	9302	5	0		0	6	16	0.85
Anaerobios	0	1000000	0	5	0	0	0	6	18	0.27

(\*): Significancia estadística; (‡): Con distribución de Ji-Cuadrada

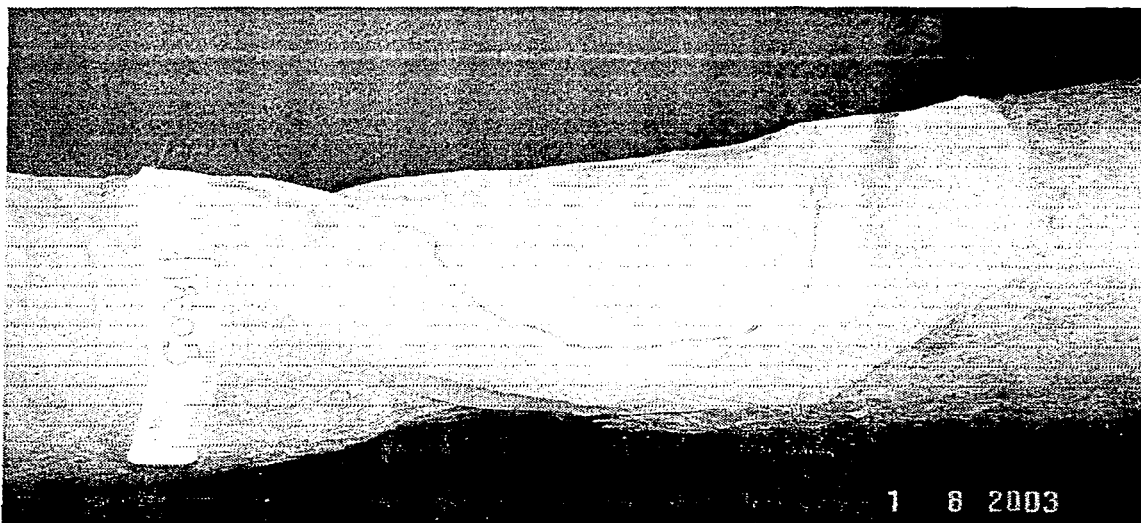
TESIS CON  
FALLA DE CALIDAD

**Cuadro 5.- Eventos relacionados con la aplicación  
de las larvas (Grupo I).**

	Mediana	Mínimo	Máximo	n1=
<b>Visita día 5</b>				
Fuga de larvas (%)	0	0	5	7
Aplastamiento de larvas (%)	50	0	100	7
<b>Visita a los 10 días</b>				
Fuga de larvas (%)	0	0	10	8
Aplastamiento de larvas (%)	10	0	100	8
<b>Visita a los 15 días</b>				
Fuga de larvas (%)	0	0	10	6
Aplastamiento de larvas (%)				
<b>Visita final (Día 20)</b>				
Fuga de larvas (%)	0	0	95	5
Aplastamiento de larvas (%)	0	0	90	5

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Figura 1.- Aplicación de la larvaterapia. Nótese el hidrocoloide alrededor de la herida y la malla fina que impiden que las larvas escapen.**



1 6 2003

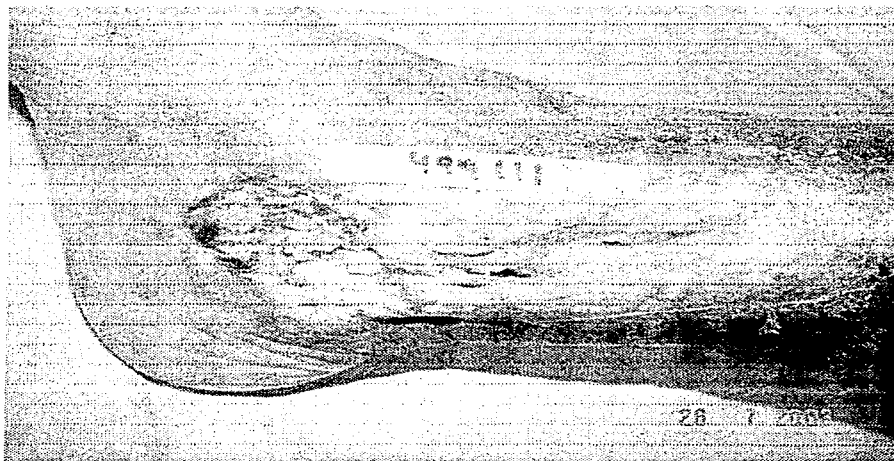
SEALA DE ORIGEN

**Figura 2.- Paciente tratado con larvaterapia. A) Antes B) Después**

**A)**



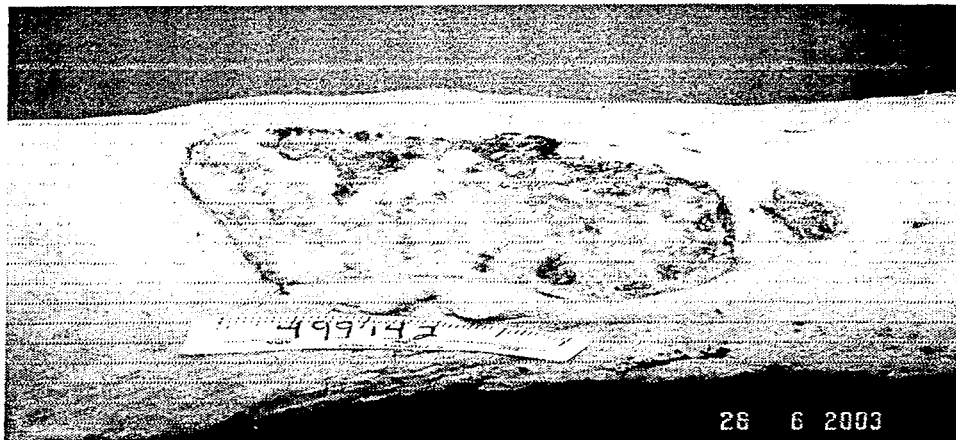
**B)**



FALLA DE ORIGEN

**Figura 3.- Paciente tratado con terapia convencional.**

**A)**



**B)**



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

México, D.F., a 19 de septiembre de 2002

William J. Lindblad, PhD,  
Editor-in-Chief  
Wound Repair and Regeneration  
Wayne State University  
Department of Pharmaceutical Sciences  
721 Shapero Hall  
Detroit, MI 48202

Estimado Dr. Lindblad:

Por medio de la presente estamos enviando el manuscrito "Larvaterapia contra manejo convencional en úlceras venosas para controlar la colonización bacteriana o infección" para su revisión y publicación.

Los autores abajo firmantes transfieren todo el derecho de propiedad del manuscrito a "The Wound Healing Society" en caso de que el trabajo se publique. Los autores abajo firmantes garantizan que el artículo es original, no infringe ningún derecho de autor o propiedad de un tercero, no está siendo considerado por otra revista y no se ha publicado previamente.

Le agradecemos de antemano su tiempo.

Atentamente,

  
Dr. José Contreras-Ruiz  
Autor

  
Dra. Judith Domínguez-Cherit  
Co-autor

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

México City, México.  
September 19th, 2003.

William J. Lindblad, PhD,  
Editor-in-Chief  
Wound Repair and Regeneration  
Wayne State University  
Department of Pharmaceutical Sciences  
721 Shapero Hall  
Detroit, MI 48202

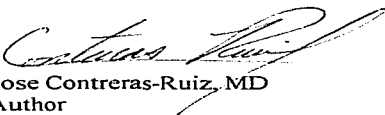
Dear Dr. Lindblad:


We are submitting the manuscript "Larval debridement therapy vs. conventional treatment in venous ulcers to control bacterial colonization or infection", for revision and publication.

The undersigned authors transfer all copyright ownership of the manuscript to The Wound Healing Society in the event the work is published. The undersigned authors warrant that the article is original, does not infringe upon any copyright or other proprietary right of any third party, is not under consideration by another journal, and has not been previously published.

We thank you in advance for your time.

Sincerely,

  
Jose Contreras-Ruiz, MD  
Author

  
Judith Dominguez-Cherit, MD  
Co-author

## Wound Repair and Regeneration

### Author Guidelines

*Wound Repair and Regeneration* is the official publication of The Wound Healing Society, the European Tissue Repair Society, the Japanese Society for Wound Healing, and the Australian Wound Management Association. This Journal publishes original scientific and/or clinical papers on the broadly defined topics of wound healing and tissue regeneration. Articles that significantly advance the knowledge of processes involved with wound healing and regeneration in all tissues and organisms, or that provide new insights into clinical therapies will be given highest priority.

Manuscripts that describe product evaluations will be considered, but will receive lower priority. The Journal also welcomes articles that provide the reader with a thorough understanding of a specific methodology or technique pertinent to wound healing and regeneration studies. These articles will be subjected to the same peer review as regular research articles. Manuscripts will be accepted from any country but must be written in idiomatic English, and will be subject to copyediting before publication.

### Submission of manuscripts

Four copies of each paper, including illustrations, should be submitted directly to the Editorial Office at the following address:

William J. Lindblad, PhD, Editor-in-Chief  
Wound Repair and Regeneration  
Wayne State University  
Department of Pharmaceutical Sciences  
721 Shapero Hall  
Detroit, MI 48202

Telephone: (313) 577-0513

Fax: (313) 577-6515

email: [wjindbl@wizard.pharm.wayne.edu](mailto:wjindbl@wizard.pharm.wayne.edu)

or to one of the Associate Editors.

Authors are encouraged to suggest the names of three reviewers for the manuscript; however, selection of the referees will be determined by the Editor. Authors are also encouraged to indicate individuals they feel should not be considered reviewers and a brief explanation for this recommendation.

The Editor requires that with each submission, the authors provide written assurance that the paper has not been previously published and that no other submission or publication will be made. Abstracts of oral or poster presentation are not considered to constitute prior publication.

Copyright to all papers is vested in The Wound Healing Society. In accordance with the Copyright Act of 1976, all manuscripts must be accompanied by a letter with the following statement signed by all authors:

"The undersigned authors transfer all copyright ownership of the manuscript [insert name of article here] to The Wound Healing Society in the event the work is published. The undersigned authors warrant that the article is original, does not infringe upon any copyright or other proprietary right of any third party, is not under consideration by another journal, and has not been previously published."

It is the responsibility of the authors to disclose to the Editor any significant financial interests they may have in products mentioned in their manuscript. This information will be deemed confidential and will only be disclosed to manuscript reviewers if, in the opinion of the Managing Editor, the information is directly pertinent for an informed review.

### General instructions

Type the manuscript on white bond paper, 8-1/2 x 11 inches (216 x 279 mm), with margins of at least 1 inch (25 mm). Type on only one side of the paper. Use double-spacing throughout, including title page, abstract, text, acknowledgments, references, footnotes, tables, and legends for illustrations. Begin each of the following sections on separate pages: title page, abstract and key words, text, acknowledgments, references, footnotes, figure legends, and individual tables.



Number pages consecutively, beginning with the title page. Once a manuscript is accepted, the final version of the manuscript may be submitted on diskette along with three copies of the printout. The author accepts responsibility for the submitted diskette exactly matching the printout of the final version of the manuscript. Guidelines for submission of accepted manuscript on diskette will be sent to the author by the editorial office.

**Title page**

The title page will carry (a) the title of the article, which should be concise but informative; (b) first name, middle initial, and last name of each author, with highest academic degree(s) and institutional affiliation; (c) name of department(s) and institution(s) to which the work should be attributed; (d) name, address, telephone, fax number, and email address of author responsible for correspondence about the manuscript; (e) name and address of author to whom requests for reprints should be addressed.

**Authorship**

All persons designated as authors must qualify for authorship. Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for the content. Participation solely in the acquisition of funding or the collection of data does not justify authorship. General supervision of the research group is also not sufficient for authorship.

**Abstract**

The second page will carry an abstract of no more than 200 words. The abstract should state the purposes of the investigation, basic procedures, main findings, BE SPECIFIC, and the principal conclusions. Emphasize new or unique aspects of the investigation. Abbreviations may not be used in the abstract.

**Text**

The text of the manuscript should be divided into the following sections with headings: Introduction, Methods, Results, Discussion. Longer articles may be further divided with appropriate subheadings.

**Introduction**

State the purpose of the article. Summarize the rationale for the study, giving only pertinent references, and do not review the subject extensively. Do not include data or conclusions from the work to be reported.

**Materials and methods**

Identify the methods, apparatus (include manufacturer's name and address in parentheses), and procedures in sufficient detail to allow other workers to reproduce the results. Give references to established methods; provide references and brief descriptions for methods that have been published but are not well known; and describe in greater detail new or substantially modified methods. Identify precisely all drugs and chemicals used, including generic name(s), dose(s), and route(s) of administration.

**Ethical considerations**

Human investigations. Manuscripts reporting data obtained from research conducted in human subjects must include assurance that informed consent was obtained from each patient. In addition, the manuscript must include assurance that the study protocol conformed to the ethical guidelines of the 1975 Declaration of Helsinki as reflected in approval by the institution's human research review committee. A statement to this effect must be provided within the Methods section.

Animal investigations. Manuscripts reporting data obtained from research using animals must include a statement of assurance that all animals received humane care. Study protocols must be in compliance with the institution's guidelines or the National Research Council's criteria for humane care as outlined in "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" prepared by the Institute of Laboratory Animal Resources and published by the National Institutes of Health (NIH Publication No. 86-23, Revised 1985). A statement to this effect must be provided within the Methods section.

**Statistics**

Statistical methods must be described in sufficient detail to enable a knowledgeable reader with access to the original data to verify the reported results. Whenever possible, quantify findings and present them with appropriate indicators of measurement error or uncertainty. Statistical probability (p) should be reported in tables, figures, and figure legends at only one of the following levels  $p < 0.05$ ,  $0.01$ ,  $0.005$ , and  $0.001$ . If exact probability values are required or other probability levels are expressed, an explanation for this requirement must be included in the statistics section of Materials and Methods.

**Results**

Present the results in a logical sequels in the, Ant, tables and illustrations. DO NOT repeat in the text all the data in the tables or illustrations; emphasize or summarize only important observations.

**Discussion**

Emphasize the new and important aspects of the study and the conclusions that follow from them. DO NOT repeat in detail data or other material given in the Introduction or Results section. Include in the Discussion section the implications of the findings and their limitations, including implications for future research. Link the conclusions with the goals of the study, avoid unqualified statements and conclusions not supported by the data. State the hypotheses when warranted, but clearly label them as such.

#### Acknowledgments

This section contains one or more statements that specify (a) contributions that need acknowledgment but do not justify authorship; (b) acknowledgment of technical help; (c) acknowledgments of financial and material support, specify the nature of the support; (d) financial relationships that may pose a conflict of interest.

#### References

Number references consecutively in the order in which they are mentioned in the text. Identify references in text, tables, and figure legends by Arabic numerals in parentheses. References cited only in tables or figure legends should be numbered last. Use the style of the following examples, which are based with slight modification on the formats set forth in "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals," also known as the "Vancouver" style for biomedical journals (JAMA 1993;269:2282-6).

The titles of journals should be abbreviated according to the style used in Index Medicus. "Unpublished observations" and "personal communications" may not be used as references, but should be inserted in parentheses in the text. Include among the references papers accepted but not yet published; designate the journal and add "In press." Examples of correct reference styles are given below:

#### Articles in journals

1. Standard Journal Article-List all authors

Whitby DJ, Ferguson MW. Immunohistochemical localization of growth factors in fetal wound healing. *Dev Biol* 1991;147:207-15.

2. Organization as author

The Royal Marsden Hospital Bone-Marrow Transplantation Team. Failure of syngeneic bone-marrow graft without preconditioning in post-hepatitis marrow aplasia. *Lancet* 1977;2:742-4.

3. No author given

Coffee drinking and cancer of the pancreas [editorial]. *BMJ* 1981;283:628.

4. Volume with supplement

Magni F, Rossoni G, Berti F. BN-52021 protects guinea pig from heart anaphylaxis. *Pharmacol Res Commun* 1988;20 Suppl 5:75-B.

5. Issue with supplement

Gardos G, Cole JO, Haskell D, Marby D, Paine SS, Moore P. The natural history of tardive dyskinesia. *J Clin Psychopharmacol* 1988;8(4 Suppl):31S-37S.

6. Issue with part

Reif S, Terranova VP, El-Bendary M, Lebenthal E, Petell JK. Modulation of extracellular matrix proteins in rat liver during development. *Hepatology* 1990;12(3 pt 1): 519-25.

7. Article containing comment

Piccoli A, Bossatti A. Early steroid therapy in IgA neuropathy: still an open question [comment]. *Nephron* 1989;51:289-91. Comment on *Nephron* 1988;48: 12-7.

8. Article commented on

Kobayashi Y, Fuji K, Hiki Y, Tateno S, Kurokawa A, Kamiyama M. Steroid therapy in IgA nephropathy: a retrospective study in heavy proteinuric cases [see comments]. *Nephron* 1989;51:298-91.

**Books and other monographs** 1. Personal author(s)

Majno GA. The healing hand: man and wound in the ancient world. Cambridge: Harvard Univ Press, 1975.

2. Chapters in a book

Phillips C, Wenstrup RJ. Biosynthetic and genetic disorders of collagen. In: Cohen IK, Diegelmann RF, Lindblad WJ, editors. Wound healing: biochemical and clinical aspects. Philadelphia: Saunders, 1992:152-77.

**3. Conference proceedings**

Harley NH. Comparing radon daughter dosimetric and risk models. In: Gammage RB, Kaye SV, editors. Indoor air and human health. Proceedings of the Seventh Life Sciences Symposium; 1984 Oct 19-31; Knoxville (TN). Chelsea (MI): Lewis, 1985:69-78.

**Unpublished material**

1. In press

McMahon SB, Monroe JG. Role of primary response genes in generating cellular responses to growth factors. FASEB J. In press.

**Tables**

Type each table double-spaced on a separate sheet of paper. DO NOT submit tables as photographs. Number tables consecutively using Arabic numerals in the order of their first citation in the text and supply a brief title for each. Place explanatory matter in footnotes, not in the heading. Explain in footnotes all nonstandard abbreviations that are used in each table. DO NOT use internal horizontal and vertical rules.

The use of too many tables in relation to the length of the text may produce difficulties in the page layout. The Editor may recommend removal or modification of tables if the page layout is untenable. If the table has been published, written permission must be obtained and appropriate acknowledgment must be made.

**Illustrations**

Submit four complete sets of figures with the manuscript. All figures must be either professionally drawn and photographed or produced with appropriate computer graphics. No freehand or typewritten lettering is acceptable. Submit figures as sharp, glossy black-and-white photographic prints preferably measuring 5 x 7 inches (127 x 173 mm). Titles and detailed explanations belong in the illustration legends, not on the illustrations themselves.

Each figure should have a label pasted on its back indicating the number of the figure, author's name, and top of figure. DO NOT write on the back of figures or scratch or mar them by using paper clips. DO NOT bend figures or mount on cardboard. Photomicrographs must have internal scale markers.

Symbols, arrows, or letters used in the photomicrographs should contrast with the background. If photographs of persons are used, either the subjects must not be identifiable or their pictures must be accompanied by written permission to use the photograph. Figures should be numbered consecutively according to the order in which they have been cited in the text. If a figure has been published, acknowledge the original source and submit written permission from the copyright holder to reproduce the material.

Wound Repair and Regeneration will publish illustrations in color. However, the authors are responsible for all publication costs associated with color reproduction. Please contact the Managing Editor for these costs.

**Illustration legends**

Type legends for illustrations double-spaced starting on a separate page, with Arabic numerals corresponding to the illustrations. Explain each symbol used in the illustration, including the internal scale.

**Units of measurement**

Measurements of length, height, weight, and volume must be reported in metric units or their decimal multiples. Temperatures should be given in degrees Celsius and blood pressures in millimeters of mercury.

All hematologic and clinical chemistry measurements should be reported in the metric system in terms of the International System of Units (SI).

**Footnotes**

All nonstandard abbreviations should be grouped into one footnote, with all footnotes placed on a separate page of the manuscript. Footnotes in the text should be denoted with a superscript Arabic numeral.

**Reprints**

Single reprints should be obtained directly from the author. Reprint order forms will be sent to authors near publication date.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN