

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
TOTALIDAD DE CREDITOS Y ALTO NIVEL ACADÉMICO

USO DE SOLUCIONES SUPEROXIDADAS DE pH NEUTRO  
EN EL MANEJO DE HERIDAS EN PERROS – Estudio de revisión.

**TESINA**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

PRESENTA

PÉREZ HUERTA EDGAR

ASESORA:

MVZ. MC. EMCPG. HORTENSIA CORONA MONJARAS



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## **DEDICATORIA**

*“A mis padres y hermana, quienes me han apoyado en todo momento  
para cumplir mis sueños”*

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi asesora, la MVZ. Hortensia Corona Monjaras, quien me hizo ver la medicina veterinaria desde una nueva perspectiva; razonando, observando y escuchando. Además de ser una inspiración para tener clara mi pasión por el área de tejidos blandos.

A mi padre Filiberto Pérez Remedios, quien ha sido mi mayor inspiración y motivación para mejorar cada día, siempre mostrándome con el ejemplo que antes de ser un buen profesionalista, se debe ser una buena persona; inculcándome un fuerte sentimiento de superación.

A mi madre Claudia Reyna Ortega, que siempre estuvo dispuesta a ayudarme en mis tareas, además de buscar formas de que mi formación académica fuera integral; que me enseñó que todas las decisiones tienen consecuencias y debo asumirlas.

A María Fernanda Hernández Cabrera, que me ha aceptado como soy y me ha brindado su apoyo de forma incondicional.

A mis amigos Néstor García, Enrique Sánchez, Fidel Sánchez, Jorge Olvera, Andrea Vargas, Paola Villegas, Fernanda Medina, Yair Hernández y muchos otros, que me apoyaron, escucharon y sin los que mi estancia en la FMVZ no hubiera sido igual.

A mi compañera de vida “Negra”, que siempre me alegró los días, recordándome a diario por qué elegí esta profesión; te extrañare siempre.

A todos los médicos que me dedicaron de su tiempo para brindarme conocimientos, siendo parte de mi formación académica y personal.

## CONTENIDO

	Pág.
<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	2
<b>REVISIÓN SISTEMÁTICA</b> .....	4
<b>1. Generalidades de anatomía y fisiología de la piel en el perro</b> .....	5
1.1 Anatomía de la piel.....	5
1.1.1 Epidermis.....	5
1.1.2 Membrana basal.....	7
1.1.3 Dermis.....	7
1.1.3.1 Matriz extracelular.....	8
1.1.4 Hipodermis.....	9
1.1.5 Músculo panículo.....	9
1.1.6 Irrigación.....	10
1.1.7 Anexos cutáneos.....	12
1.1.7.1 Pelo.....	12
1.1.7.2 Estructuras glandulares.....	13
1.2 Funciones de la piel.....	14
<b>2. Generalidades de heridas y cicatrización</b> .....	16
2.1 Heridas.....	16
2.2 Fases de la cicatrización.....	19
2.2.1 Fase inflamatoria.....	19
2.2.1.1 Hemostasia.....	20
2.2.1.2 Desbridamiento.....	21
2.2.2 Fase proliferativa.....	22
2.2.2.1 Fibroplasia.....	23
2.2.2.2 Angiogénesis.....	25
2.2.2.3 Reepitelización.....	26
2.2.2.4 Contracción de la herida.....	27
2.2.3 Fase de maduración.....	28
2.3 Clasificación de heridas.....	28
2.3.1 Clasificación por la duración.....	29
2.3.1.1 Heridas agudas.....	29
2.3.1.2 Heridas crónicas.....	29
2.4 Contaminación, colonización e infección de heridas.....	31
2.5 Efectos de la carga bacteriana de heridas.....	34
<b>3. Generalidades de antisépticos</b> .....	35
3.1 Uso de antisépticos.....	36
3.2 Características del antiséptico ideal.....	37
3.3 Clasificación de antisépticos.....	37
3.4 Directrices para el uso de antisépticos.....	40

<b>4. Generalidades de las soluciones súper oxidadas.....</b>	<b>41</b>
4.1 Obtención de las SSO.....	43
4.2 Mecanismo de acción.....	45
4.3 Clasificación de las SSO.....	48
4.3.1 SSO Ácida.....	49
4.3.2 SSO Ligeramente ácida.....	50
4.3.3 SSO Neutra.....	50
4.3.4 SSO Alcalina.....	51
4.4 Espectro antimicrobiano.....	51
4.5 Efecto antitoxinas.....	54
4.6 Citotoxicidad.....	55
4.7 Efecto antiinflamatorio.....	57
4.8 Uso como antiséptico y efectos sobre cicatrización.....	58
4.9 Efecto analgésico y hemostático.....	61
<b>5. Uso de NEW para el manejo de heridas.....</b>	<b>62</b>
5.1 Uso de NEW para el manejo de heridas agudas.....	62
5.2 Uso de NEW para el manejo de heridas crónicas.....	63
5.2.1 Ejemplo de uso de NEW para el manejo de herida crónica.....	64
<b>6. Análisis de la información .....</b>	<b>66</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>69</b>

Cuadro 1 Principales citocinas involucradas en la cicatrización de heridas .....	- 17 -
Cuadro 2. Principales características de las heridas agudas y crónicas .....	- 30 -
Cuadro 3 Características en la progresión de la carga microbiana en las heridas ....	- 34 -
Cuadro 4. Clasificación por grupo químico de los antisépticos.....	- 38 -
Cuadro 5. Indicaciones para el uso de antisépticos en heridas específicas.....	- 40 -
Cuadro 6 Tipos y características de las soluciones de superoxidación .....	- 49 -
Figura 1. Diagrama esquemático de la síntesis de agua electrolizada.....	- 44 -
Figura 2. Mecanismo de acción de las soluciones de superoxidación sobre las bacterias.....	- 47 -
Figura 3. Efecto de las soluciones de superoxidación sobre la cicatrización....	- 61 -

## **RESUMEN**

PÉREZ HUERTA EDGAR. Uso de soluciones de superoxidación de pH neutro en el manejo de heridas: Estudio de revisión. (bajo la dirección de la MVZ. MC. EMCPG. Hortensia Corona Monjaras).

El presente trabajo de revisión tiene como objetivo compilar información científica y actualizada que sea útil para estudiantes y profesionales médicos veterinarios enfocados en la clínica de perros y gatos, con la finalidad de contar con literatura actualizada, sintetizada y organizada sobre las soluciones de superoxidación, incluyendo mecanismo de acción, diversos tipos, el uso como antiséptico de las soluciones de superoxidación de pH neutro, espectro antimicrobiano, así como los efectos sobre el proceso de cicatrización y utilidad en el manejo de heridas agudas y crónicas. Asimismo, se mencionan las funciones, estructuras anatómicas, fisiología de la piel, clasificación de heridas de acuerdo a su tiempo de evolución, grado de contaminación y las fases del proceso de cicatrización; además de la clasificación de antisépticos, características y las directrices propuestas para su uso en los diferentes tipos de heridas.

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el vínculo e interacción entre perros, gatos y humanos ha aumentado debido a diversos factores, y el ejemplo más claro recientemente ha sido la pandemia por coronavirus (COVID-19), la cual facilitó un cambio de perspectiva sobre los animales debido a la estrecha convivencia durante esta etapa. Ahora, no solo se les considera mascotas, sino también como miembro activo de la familia en la mayoría de la sociedad. Por lo que la atención, cuidado y tiempo dedicado a ellas ha incrementado considerablemente.

En la actualidad, el manejo de heridas representa uno de los principales motivos de consulta en la clínica diaria, las cuales tienen múltiples clasificaciones, como el tiempo de evolución (agudas y crónicas), el mecanismo de lesión (compresión, corte y tensión), la profundidad (superficiales y profundas), entre otras. Esto ha hecho que el médico veterinario se vea en la necesidad de actualizarse en los manejos médico-quirúrgicos cotidianos, además de buscar nuevas opciones a los antisépticos utilizados de forma rutinaria, con la finalidad de buscar la mejor resolución para los diferentes tipos de heridas.

El uso de antisépticos se remonta a la década de 1840, cuando se documentó una reducción significativa de fiebre puerperal asociada con una técnica adecuada de lavado de manos; y ganaron mayor reconocimiento en 1870 gracias al uso del ácido carbólico, que demostró un mejor control de infecciones y una reducción de morbilidad quirúrgica (Echols *et al.*, 2015). No obstante, perdieron parte de su importancia durante décadas debido a los efectos tóxicos tanto del ácido carbólico, como de otros antisépticos de esa generación, como los compuestos con base en

mercurio y arsénico. Posteriormente se comenzaron a utilizar antisépticos como los alcoholes (etílico, isopropílico), biguanidas (clorhexidina), halogenados (soluciones de yodo), fenoles (triclosán, hexaclorofeno), tensioactivos catiónicos y aniónicos (jabones y derivados de cuaternarios de amonio), metales pesados (sales de plata), anilidas (triclocarbán), diamidinas (propamidina) y oxidantes (peróxido de hidrógeno) (González et al., 2014).

No obstante, se ha comprobado que la mayoría de estos antisépticos, como el peróxido de hidrógeno, los alcoholes y la clorhexidina son citotóxicos, además de que interfieren con la respuesta inflamatoria natural del huésped, y pueden aumentar la incidencia de infecciones; por lo que en los últimos años han sido reemplazados en gran medida por antisépticos innovadores que no producen, o presentan en menor medida estos efectos adversos, dentro de los que se incluyen la polihexanida (PHMB), octenidina (OCT) y el ácido hipocloroso (HOCl) (Aisa & Parlier, 2022).

Actualmente las soluciones de superoxidación, cuyo principio activo es el HOCl, están ampliamente distribuidas en el ambiente veterinario, siendo uno de los principales antisépticos utilizados para el manejo de heridas, gracias a su facilidad de acceso y aplicación. Sin embargo, no se tiene bien clara la diferencia entre los diferentes tipos de soluciones de superoxidación, su mecanismo de acción, sus efectos sobre la cicatrización, así como su diversidad de posibles aplicaciones. Teniendo esto en consideración, vale la pena contar con literatura actualizada, sintetizada y organizada, para ampliar y profundizar los conocimientos sobre estas.

## REVISIÓN SISTEMÁTICA

La información fue recabada de fuentes primarias y secundarias, que incluyen libros, revistas arbitradas y artículos científicos disponibles en internet, recabados de los buscadores “Pubmed”, “Elsevier”, “Google scholar”, “Scielo”, “Springer link”, “Karger”, “ProQuest” y “Cabi”. Las palabras clave utilizadas fueron: “agua electrolizada” (*electrolized water*), “ácido hipocloroso” (HOCl), “herida” (*wound*), “herida aguda” (*acute wound*), “herida crónica” (*chronic wound*), “cicatrización” (*cicatrization*), “antiséptico” (*antiseptic*). Se empleó principalmente información publicada a partir del año 2012 a la fecha, asimismo, se mencionaron los primeros artículos que hacían referencia a las soluciones de superoxidación y sus usos; se tomó como sustento la información generada a partir de la medicina alópata.

# **1. Generalidades de anatomía y fisiología de la piel en el perro**

## **1.1 Anatomía de la piel**

La piel es el órgano más grande y sirve como primera línea de defensa del cuerpo contra microorganismos. Comprende el 24% del peso corporal de los cachorros, mientras que en la etapa adulta corresponde aproximadamente al 12% (Pavletic, 2018). Consta de dos capas básicas: un epitelio estratificado externo (epidermis) y una capa fibrosa adyacente (dermis), así como de anexos asociados. Debajo de la dermis se encuentra la hipodermis, o tejido subcutáneo, que es rico en tejido adiposo y laxo. El suministro vascular general está conformado por tres plexos: superficial o subpapilar; medio o cutáneo; y el plexo profundo, subdérmico o subcutáneo. No obstante, existen regiones irrigadas por una arteria y vena cutánea directa (ausentes en humanos), las cuales conforman los angiosomas cutáneos (Tobías and Johnston, 2011).

### **1.1.1 Epidermis**

La epidermis deriva del ectodermo, es la capa más externa que está formada por un epitelio escamoso estratificado queratinizado conformado por cinco estratos: basal, espinoso, granuloso, lúcido y córneo. Tanto el estrato basal, como el espinoso forman al estrato germinativo, que es responsable de la proliferación de las células epidérmicas que se compone de cuatro tipos celulares:

- Queratinocitos (85%), son las células epiteliales que sintetizan la queratina de la piel.

- Melanocitos (5%), originados en la cresta neural del embrión, se ubican en el estrato basal y en la capa inferior del estrato espinoso. Dentro de sus funciones se encuentran la síntesis de melanina, la pigmentación de la piel y el pelo, la protección frente a la luz ultravioleta y la depuración de radicales libres. Son numerosos en la piel pigmentada y están esparcidos o ausentes en la piel no pigmentada.
- Células de Langerhans (3-8%), se encuentran en el estrato espinoso, en la dermis y en los linfonodos. Son miembros del sistema monocito-macrófago y son las presentadoras de antígenos de la epidermis, participan en las reacciones de hipersensibilidad retardada; estas migran posterior a la estimulación antigénica a los linfonodos, para llevar el antígeno (Ag) e informar a los linfocitos locales.
- Células de Merkel (2%), las cuales son mecanorreceptores táctiles de reacción lenta y naturaleza neuroendocrina. Asimismo, pueden tener otras funciones como la regulación del flujo sanguíneo cutáneo y la producción de sudor, así como la coordinación de la proliferación de leucocitos y la del ciclo del pelo (Castellano *et al.*, 2005).

Al ser variable el grosor en las regiones corporales, las zonas delgadas por lo general están recubiertas por abundante pelaje, mientras que en las gruesas el pelo está presente pero en menor cantidad y donde el grosor es mayor como en la nariz y en las almohadillas digitales, ésta se encuentra queratinizada. Cabe mencionar que la epidermis es avascular, por lo que se nutre y se sostiene gracias a la dermis, la cual es una capa más gruesa y vascularizada (Fossum *et al.*, 2018).

### 1.1.2 Membrana basal

La membrana basal es la unión dermoepidérmica y se compone de dos zonas, la lámina lúcida y la lámina densa, contiene principalmente fibronectina (glucoproteína adhesiva), laminina, colágeno tipo IV y proteoglucanos de sulfato de heparina (Pavletic, 2018).

### 1.1.3 Dermis

Es de origen mesenquimal y se compone de fibras insolubles colágenas, reticulares y elásticas envueltas en una matriz de mucopolisacáridos solubles, compuesta de polímeros solubles llamados glucosaminoglucanos (ácido hialurónico, dermatán sulfato y ácido sulfúrico de condroitina) y proteoglucanos, los cuales son producidos por los fibroblastos. Aquí se encuentran fibroblastos, macrófagos, células plasmáticas y mastocitos, asimismo, contiene la red capilar cutánea, vasos linfáticos, componentes nerviosos, músculos erectores del pelo, folículos pilosos y estructuras glandulares.

La dermis del perro y el gato se divide en el estrato papilar superficial y el estrato reticular profundo, el primero tiene finas fibras elásticas y reticulares en haces de colágeno densamente entretejidos, mientras que el segundo está compuesto por haces de colágeno gruesos y densamente entretejidos. La piel más flexible (axila, flanco, dorso del cuello) tiene haces de colágeno dérmico pequeños y más sueltos además de mayor número de fibras elásticas en la capa papilar. La piel menos flexible (cola, oreja, almohadillas digitales) tiene haces de colágeno más anchos y compactos con menos fibras elásticas. Las fibras de colágeno en áreas de piel

gruesa (cabeza, superficies dorsales del cuerpo) son aproximadamente paralelas a la superficie cutánea.

Dentro de sus funciones destacan el dar soporte, fuerza y flexibilidad a la piel.

Por otro lado, debido a la presencia de vasos sanguíneos y nervios, también juega un papel activo en la termorregulación y la sensación. Es importante resaltar que las células que la conforman (fibroblastos, macrófagos, mastocitos, adipocitos dérmicos) contribuyen a la síntesis de colágeno, al almacenamiento de energía y tienen un papel fundamental en la respuesta inflamatoria como resultado de una lesión/inflamación de la piel (Pavletic, 2018) (Fossum *et al.*, 2018).

#### 1.1.3.1 Matriz extracelular

Está formada por los componentes no celulares de la dermis (se encuentra en un estado de equilibrio dinámico con las células tisulares) como proteínas fibrilares y glucosaminoglicanos, los cuales se unen a proteínas, para formar proteoglicanos, por lo que se puede describir como una red de proteínas fibrilares organizadas dentro de un gel hidratado de proteoglicanos, sobre la cual las células tisulares se adhieren, migran y se basan durante los procesos de cicatrización de heridas.

Existen dos tipos de matriz extracelular en la piel: la membrana basal ya descrita y el tejido estromal o conectivo subyacente que proporciona integridad estructural y soporte a los componentes celulares de la piel. Dentro de las proteínas principales de la matriz extracelular están los colágenos; sin embargo, existen diversas proteínas funcionales, que dependiendo de su actividad se clasifican en: estructural (lamina basal y tejido conectivo), adhesiva (fibrina y fibronectina), remodelación

(trombospondina, tenascina, osteonectina), proteolíticas (proteasas de serina, metaloproteasas de matriz [MMPS]) y antiproteolíticas (serpinas, inhibidor del activador del plasminógeno-1, inhibidores tisulares de las metaloproteasas [TIMP]). Estas proteínas tienen interrelación compleja durante la cicatrización de heridas que se discutirá más adelante (Pavletic, 2018).

#### 1.1.4 Hipodermis

La hipodermis se encuentra bajo la dermis, se compone de grasa con trabéculas de colágena sueltas y fibras elásticas. Su grosor es distinto en las zonas del cuerpo, por ejemplo, está poco desarrollado debajo de los párpados, orejas, escroto y otras áreas donde la piel está muy unida a las estructuras subyacentes. Esta capa de grasa proporciona aislamiento al cuerpo, es fuente de almacenamiento de energía y sirve como amortiguador de impactos externos. Hay que destacar que el plexo subdérmico está asociado con la hipodermis y que los vasos cutáneos directos deben atravesar esta capa para irrigar la piel suprayacente (Pavletic, 2018) (Fossum *et al.*, 2018).

#### 1.1.5 Músculo panículo

El músculo panículo consiste en una fina capa de músculos estriados esqueléticos que están íntimamente unidos a la piel y la fascia de la mayoría de los mamíferos. En la región de la cabeza y cuello encontramos los músculos platisma, esfínter superficial del cuello y el esfínter profundo del cuello; por otro lado, el tronco cutáneo es el principal músculo cutáneo del cuerpo y se extiende desde la región glútea craneal y ventral hasta la región pectoral, sus fibras forman el músculo prepucial en

los machos y el músculo supramamario en las hembras, no obstante, se encuentra ausente debajo de la piel sobre las porciones media e inferior de las extremidades.

Las fibras musculares del panículo son irregulares y tienden a discurrir transversalmente, penetran en la dermis y permiten el movimiento voluntario de la piel, asimismo, estas son de contracción rápida con capacidad para producir fuerza significativa durante un corto período. Sus funciones son variadas, por ejemplo, el tronco cutáneo se utiliza para sacudir la piel en respuesta a estímulos irritantes o nocivos; por otra parte, la contracción repetida (escalofríos) de este músculo puede aumentar la producción de calor; el músculo platisma mueve las vibrisas y da expresión a la cara; el músculo prepucial en los perros ayuda a colocar el prepucio sobre el glande después de la erección y el músculo supramamario ayuda en el soporte de las glándulas mamarias y quizás en la eyección de leche en la perra (Naldaiz-Gastesi *et al.*, 2018).

### 1.1.6 Irrigación

Los vasos musculocutáneos son los que nutren de manera primaria la piel en humanos, simios y cerdos; sin embargo, los perros y otros animales de piel holgada carecen de estos vasos. Asimismo, los vasos musculocutáneos discurren perpendiculares a la superficie cutánea, mientras que los vasos que nutren la piel en perros y gatos corren paralelos a la piel y se denominan vasos cutáneos directos, que conforman los angiosomas cutáneos, definidos como la sección de musculatura cutánea superficial, tejido cutáneo y piel irrigado por alguno de estos vasos. Por esta razón, algunas técnicas de injertos pediculados empleadas en humanos tienen una aplicación limitada en perros y gatos. Vale la pena mencionar que se tienen

identificados nueve vasos cutáneos directos, los cuales son: auricular caudal, temporal superficial, cervical superficial, toracodorsal, torácica lateral, braquial superficial, epigástricos superficiales craneales y caudales, ilíaca circunfleja profunda, genicular y caudales laterales. El sistema vascular cutáneo, se conforma por las arterias y venas terminales que se ramifican directamente a partir de los vasos cutáneos directos y forman los plexos: subcutáneo (profundo), cutáneo (medio) y subpapilar (superficial). El plexo subcutáneo nutre a los folículos pilosos, a las glándulas tubulares, a la porción profunda de los conductos glandulares y a los músculos erectores pilosos, y es el de mayor importancia para la viabilidad de la piel; mientras que el plexo cutáneo sostiene a las glándulas sebáceas y refuerza la red capilar alrededor de los folículos pilosos, conductos de las glándulas tubulares y músculos erectores pilosos; y el plexo subpapilar se encuentra en la capa más externa de la dermis y sus arcos capilares nutren la epidermis. El sistema de arcos capilares está poco desarrollado en perros y gatos en comparación con los humanos y los cerdos, y por eso la piel de los perros no suele formar ampollas en caso de quemaduras superficiales. En las áreas donde se encuentra presente el músculo panículo, el plexo subcutáneo se localiza tanto, superficial como profundo a éste; por lo tanto, los cirujanos deben llegar hasta el plano fascial bajo la musculatura cutánea, para preservar la integridad del plexo subcutáneo. Por otro lado, en regiones con ausencia de panículo, como en las extremidades, el plexo subcutáneo transcurre por la superficie profunda.

Es importante destacar que los perros poseen mayor cantidad de vasos sanguíneos subcutáneos, en comparación al gato, quienes además de tener un número inferior

de éstos se encuentran distribuidos de manera más amplia (Pavletic, 2018) (Fossum *et al.*, 2018).

### 1.1.7 Anexos cutáneos

Los apéndices cutáneos de la piel incluyen los folículos pilosos, las glándulas sudoríparas y las glándulas sebáceas. Otras estructuras glandulares cutáneas incluyen las glándulas mamarias, las supracaudales (de cola), los sacos anales, las glándulas circumanales superficiales y las glándulas perianales (circunferenciales profundas). Todas estas estructuras son de origen ectodérmico (Muller, Griffin and Campbell, 2013).

#### 1.1.7.1 Pelo

Los folículos pilosos son las unidades de producción del pelo, el cual es una estructura queratinizada modificada, definida como un filamento cilíndrico, delgado de naturaleza córnea que nace y crece en la piel de algunos animales. Se encuentran en las partes inferiores de la dermis, pero también se extienden hacia la hipodermis. Consiste en la invaginación de la epidermis en la dermis, cuya base se convierte en el bulbo piloso.

Se divide en tres partes: infundíbulo (parte superficial, desde la epidermis hasta la abertura del conducto sebáceo), istmo (porción intermedia, desde la abertura del conducto sebáceo hasta la inserción del músculo piloerector) y segmento inferior (porción profunda, desde la inserción del músculo piloerector hasta la base del folículo, su base recibe el nombre de bulbo y se encuentra rodeado de tejido

conjuntivo que recibe el nombre de matriz, cuyas células se diferencian en células productoras de queratina y la vaina radicular interna).

Sus funciones incluyen servir como una barrera física contra el trauma, proporcionar protección contra la radiación UV, la termorregulación/aislamiento, la sensación, el estímulo visual (piloerección como advertencia), repeler el agua, retener los olores, la fuente de células para la reepitelización durante la cicatrización de heridas y, en algunos casos, proporcionar camuflaje (Muller, Griffin and Campbell, 2013) (Pavletic, 2018).

#### 1.1.7.2 Estructuras glandulares

Las glándulas sebáceas (holocrinas) son glándulas alveolares simples o ramificadas distribuidas a lo largo de toda la piel con pelo. Se abren en el folículo piloso, excepto aquellas ubicadas en las uniones mucocutáneas, que lo hacen en la superficie de la piel y suelen ser las más grandes y numerosas, no solo en las uniones mucocutáneas, si no en los espacios interdigitales, en el cuello, la grupa dorsal, en la barbilla y dorsal a la cola; no obstante, se encuentran ausentes en las almohadillas y en el plano nasal. Se debe considerar que los gatos tienen un complejo glandular más pequeño y simple, comparado con los perros.

Estas glándulas, producen secreción grasa que sale a través del canal pilosebáceo para mantener la piel y el pelo suaves y flexibles, así como para protegerlos del exceso de humedad y el secado. Existen dos tipos, las apócrinas y merocrinas (ecrinas). Las glándulas sudoríparas apócrinas cutáneas son estructuras grandes, simples, saculares o tubulares con una porción secretora enrollada y un conducto

recto, el cual se abre en la vaina externa de la raíz entre la superficie de la piel y el canal pilosebáceo. Mientras que las glándulas sudoríparas merocrinas son glándulas tubulares enrolladas, simples y que se encuentran principalmente en las almohadillas y se vacían directamente sobre la superficie epidérmica. No participan activamente en el mecanismo termorregulador central, a diferencia de los humanos en los que son vitales para la pérdida de calor mediante la vaporización, sino que protegen la piel del aumento excesivo de la temperatura. Dentro de las glándulas apócrinas existen variaciones en estructura y funciones especializadas, como por ejemplo las glándulas ciliares de los párpados, ceruminosas del canal auditivo externo, los sacos anales y las glándulas de la región del prepucio, vulva y circumanal (Muller, Griffin and Campbell, 2013) (Pavletic, 2018).

## 1.2 Funciones de la piel

La piel tiene varias funciones, que de manera general provee al individuo seguridad con respecto a su entorno, aún bajo condiciones extremas, que sin ellas, serían amenazas potenciales para su vida. A continuación, mencionaremos las más importantes:

- *Protección.* Es la primera barrera física e impermeable que tiene el organismo frente al medio exterior, protege las estructuras profundas contra microorganismos, deshidratación, luz ultravioleta y daños mecánicos, gracias al epitelio queratinizado en la epidermis.
- *Almacenamiento.* Principalmente es de agua y electrolitos (18 y el 20 % del contenido total), la piel es uno de los principales indicadores de pérdida de

agua, se observan grietas que rompen la línea de defensa contigua y permite que los estímulos nocivos entren en la piel. Asimismo, la piel es un reservorio de vitaminas, grasas, carbohidratos y otras sustancias.

- *Termorregulación.* Basada en el diámetro de los vasos sanguíneos, al aumentar el flujo sanguíneo (vasodilatación) se perderá calor; mientras que con la vasoconstricción, reguarda calor.
- *Absorción.* Las sustancias lipofílicas se absorben con mayor capacidad que las hidrofílicas, lo cual es importante para considerar, tanto la aplicación de sustancias tópicas como de parches. La integridad de la piel es un factor importante para la absorción, en piel dañada o enferma, aumenta debido al daño en la barrera de protección.
- *Inmunorregulación.* La superficie cutánea de los mamíferos con pelo, por lo general es ácida, teniendo un rango normal entre 4.8 y 7.5 (en los gatos el intervalo es entre 5.6 y 7.4, con promedio de 6.4), esto crea un entorno hostil para los organismos invasores dañinos, al tiempo que mantiene el entorno favorable para los microorganismos benéficos; además el pH influye en la permeabilidad y la queratinización. Aunado a las células de inmunovigilancia como los queratinocitos, las de Langerhans y los linfocitos.
- *Actividad endocrina.* En la piel se inician los procesos bioquímicos involucrados en la producción de vitamina D, generada por estimulación de la radiación solar esencial para la absorción de calcio y el metabolismo óseo normal.

- *Sensación.* Contiene numerosos receptores sensoriales que permiten al individuo percibir estímulos ambientales como el tacto, la presión, la vibración, el dolor y la temperatura. El alto número de terminaciones nerviosas sensoriales en la piel proporciona retroalimentación sensitiva inmediata, desde el entorno a la corteza cerebral sensorial. Esto conduce a acciones reflejas como retirarse de un objeto caliente para evitar lesiones.
- *Actividad exocrina.* Mediante la liberación de agua, urea y amoníaco la piel secreta productos como sebo, sudor y feromonas; además de ejercer funciones inmunológicas importantes al producir sustancias bioactivas como las citocinas (López-Ojeda *et al.*, 2022) (McKnight, Shah and Hargest, 2022).

## **2. Generalidades de heridas y cicatrización**

### **2.1 Heridas**

Por definición, una *herida* es la ruptura o pérdida de la continuidad celular y anatómica, con deterioro de las funciones protectoras o fisiológicas del tejido. El *trauma*, por definición, es una lesión física o herida causada por la fuerza externa o la violencia. De forma cotidiana, el término *trauma* se utiliza para indicar los “aspectos generales” de una lesión física, mientras que la *herida* se utiliza para describir una lesión de “manera más específica”. Las heridas en la piel, el *subcutis* y el músculo subyacente se encuentran entre las lesiones más comunes tratadas por los médicos veterinarios, las causas son diversas, desde mordeduras, accidentes automovilísticos, laceraciones de objetos punzantes, penetración por balas, palos, objetos metálicos, lesiones térmicas; o bien aquellas realizadas durante procedimientos quirúrgicos. Todas las heridas son el resultado de la

absorción de energía transferida al cuerpo, ya sea de un proyectil, corriente eléctrica o la hoja del bisturí de un cirujano. La gravedad depende de la fuerza de la fuente de energía (del origen), de cómo se dispersa al cuerpo y de los tejidos específicos que la absorben. El manejo o curación de heridas es todo un tópico que debe estudiarse como tema independiente ya que parece ser algo simple; sin embargo hay una serie de eventos que siguen al trauma cutáneo y que involucra a las células locales, vasculatura y matriz extracelular. Este proceso requiere citocinas y factores de crecimiento para iniciar, guiar y mantener la curación en todo momento (Cuadro 1). De manera didáctica, la cicatrización se divide en tres fases: la inflamatoria, de reparación y de maduración (Lux, 2022) (Pavletic, 2018), aunque hay autores que la subdividen en más fases, se explica adelante.

**Cuadro 1. Principales citocinas involucradas en la cicatrización de heridas**

CITOCINA	ORIGEN	FUNCIONES
<b>Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)</b>	Plaquetas, macrófagos y queratinocitos.	-Quimiotaxis para neutrófilos, macrófagos y fibroblastos. Mitogénico para fibroblastos, células endoteliales y células musculares lisas. -Estimula la producción de metaloproteinasas de la matriz, fibronectina y ácido hialurónico. Regula la expresión de integrina.
<b>Factor de crecimiento transformador beta (TGF-β)</b>	Plaquetas, linfocitos T, macrófagos, células endoteliales, queratinocitos y fibroblastos.	-Quimiotaxis para neutrófilos, macrófagos y fibroblastos. -Estimula la síntesis del inhibidor tisular de la metaloproteinasa de la matriz, la migración de queratinocitos, la angiogénesis y fibroplasia.

<b>Factor de crecimiento epidérmico (EGF)</b>	Plaquetas y macrófagos.	-Mitogénico para queratinocitos y fibroblastos. -Estimula la migración de queratinocitos y la formación del tejido de granulación.
<b>Factor de crecimiento de los fibroblastos (FGF)</b>	Macrófagos, mastocitos, linfocitos T, células endoteliales y fibroblastos.	-Quimiotaxis para fibroblastos. -Mitogénico para fibroblastos y queratinocitos. -Estimula la migración de queratinocitos y la formación del tejido de granulación.
<b>Factor de crecimiento de los queratinocitos (KGF)</b>	Fibroblastos.	Estimula la migración, la proliferación y la diferenciación de los queratinocitos.
<b>Factor de crecimiento transformador alfa (FTG – <math>\alpha</math>)</b>	Linfocitos T, macrófagos y queratinocitos.	-Quimiotaxis para neutrófilos, macrófagos y fibroblastos. -Estimula la síntesis del inhibidor tisular de la metaloproteinasa de la matriz, la migración de queratinocitos, la angiogénesis y fibroplasia.
<b>Factor de crecimiento semejante a la insulina 1 (IGF-1)</b>	Macrófagos y fibroblastos.	-Estimula la síntesis de proteoglicanos sulfatados, colágeno, migración de queratinocitos y proliferación de fibroblastos. -Efectos similares a la hormona del crecimiento.
<b>Factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF)</b>	Células endoteliales y fibroblastos.	Quimiotáctico y mitogénico para las células del tejido conectivo.
<b>Factor de crecimiento de las células endoteliales vasculares (VEGF)</b>	Células endoteliales.	Aumento de la permeabilidad vascular. Mitogénico para las células endoteliales.
<b>Factor de necrosis tumoral (TNF)</b>	Macrófagos, mastocitos y linfocitos T.	-Activación de macrófagos. -Mitogénico para fibroblastos. -Estimulación para la angiogénesis.

<b>Interleucinas</b>	Macrófagos, mastocitos, queratinocitos y linfocitos.	-Quimiotaxis para los neutrófilos (IL-1) y fibroblastos (IL-4). Estimulan la síntesis de las metaloproteinasas de la matriz (IL-1), la angiogénesis (IL-1,8), la síntesis del inhibidor tisular de las metaloproteinasas de la matriz (IL-6).
<b>Interferones</b>	Linfocitos y fibroblastos.	-Activación de macrófagos. -Inhiben la proliferación de fibroblastos y la síntesis de metaloproteinasas de la matriz.

(Velazquez, 2017).

## 2.2 Fases de la cicatrización

Para comprender las fases de cicatrización de heridas a menudo se discuten como entidades separadas en una secuencia de tiempo lineal; aunque, en la naturaleza, son fases superpuestas o, pueden estar involucradas varias fases de manera simultánea (una fase inicia solo cuando la anterior ha terminado), esto debido a la presentación de eventos microscópicos que involucran mediadores químicos, como factores de crecimiento, citocinas y quimiocinas (Lux, 2022).

### 2.2.1 Fase inflamatoria

La inflamación es la respuesta protectora de tejidos que se inicia tras un daño, por lo general se considera como la primera fase; no obstante, algunos autores hacen referencia a la hemostasia, como la primera fase, hablan del desbridamiento como otra fase, pero en términos generales se consideran estas dos fases dentro de la fase inflamatoria, aunque se explicarán de manera separada para facilitar su entendimiento.

Retomando a la fase inflamatoria, su duración en promedio es de 72 horas, iniciando aproximadamente a los 15 minutos pos trauma, perdurando hasta los seis días, hay aumento de la permeabilidad vascular, quimiotaxis de células circulatorias, liberación de citocinas, factores de crecimiento y activación celular de macrófagos, neutrófilos, linfocitos y fibroblastos. Para lo anterior debe haber interrupción o ruptura de los vasos sanguíneos con la extravasación de sus constituyentes, siendo la vasoconstricción la respuesta inmediata a la lesión mediada por compuestos vasoactivos, liberados por las células dañadas, como histamina, serotonina, prostaglandinas y catecolaminas; su duración promedio de cinco a diez minutos, seguida de la vasodilatación, que facilita la quimiotaxis de las células circulatorias y la liberación de citocinas y factores de crecimiento de las plaquetas activadas al sitio extravascular de la lesión. El sangrado es un mecanismo de protección ya que además de limpiar la herida, llena el defecto, la coagulación de la sangre dentro de la luz del vaso restablece la hemostasia, mientras que el coágulo extravascular proporcionará más tarde una matriz o andamio provisional para la migración celular. Además, las células lesionadas liberan tromboplastina, que inicia la vía extrínseca de la cascada de coagulación (Balsa and Culp, 2015).

#### 2.2.1.1 Hemostasia

Con la exposición del subendotelio en la lesión, inicia la agregación y adhesión del colágeno y el factor tisular que activa a las plaquetas (primeras células en llegar). Éstas liberan serotonina, tromboxanos A<sub>2</sub> y proteínas adhesivas como el fibrinógeno, la fibronectina y el complejo del factor VIII de von Willebrand, que junto con la trombina local, estimulan mayor agregación plaquetaria, lo que conduce a un

tapón plaquetario. También liberan quimiocinas y factores de crecimiento que son importantes en el reclutamiento de otras células para permitir la progresión de la cicatrización. El coágulo de fibrina es importante, tanto por su hemostasia como por ser una barrera para microorganismos, ya que es un andamio provisional para la migración de monocitos, fibroblastos y células endoteliales y sirve como reservorio de factores de crecimiento; este coágulo es el resultado de la conversión del fibrinógeno a fibrina, mediante la trombina. Cuando se habla de la fase de desbridamiento, la fase inflamatoria se considera completa, una vez que los leucocitos que salen de los vasos sanguíneos entran en la herida (Balsa and Culp, 2015).

#### 2.2.1.2 Desbridamiento

Si bien existen diferentes tipos de desbrides, esta fase hace referencia al *desbride autolítico*, que a menudo se considera parte de la fase inflamatoria, y se caracteriza por la migración de leucocitos, específicamente neutrófilos (mayor número a las 48 horas) y monocitos (aparecen de 2 a 3 días después) hacia la herida. Los neutrófilos fagocitan los organismos y detritus celulares que contaminan la herida, mientras que los neutrófilos degenerados liberan enzimas y radicales libres que matan las bacterias y descomponen los desechos extracelulares y necróticos, las proteasas son las responsables de degradar el tejido necrótico mediante fagocitosis, mecanismos enzimáticos y radicales de oxígeno. Es importante destacar que los neutrófilos solo se encuentran en caso de infección, de lo contrario disminuirá su número dentro de las siguientes 72 horas, por medio de los macrófagos celulares. En heridas no complicadas, la población de macrófagos disminuirá a medida que

reduce la fase inflamatoria. En caso de que haya presencia de desechos extraños, contaminantes y tejido necrótico, el número de macrófagos persistirá en la herida, siendo un indicador celular asociado con condiciones inflamatorias crónicas.

Los macrófagos desempeñan un papel fundamental en la transición entre la inflamación y la reparación, ya que liberan lactato en el entorno de la herida, lo que estimula la fibroplasia y la posterior producción de colágeno, por lo que, si llegan a estar ausentes, la cicatrización de la herida y su resistencia a la tracción se verán afectadas. Por lo tanto, la cicatrización normal de heridas implica el equilibrio adecuado entre las enzimas proteolíticas y sus inhibidores (Lux, 2022) (Balsa and Culp, 2015) (Pavletic, 2018).

### 2.2.2 Fase proliferativa

También conocida como fase de reparación, inicia entre el día 3 y el 5, llegando a durar hasta el día 20, se caracteriza por la aparición del tejido de granulación, la reepitelización y la contracción de la herida, en ella se establece el suministro de sangre adecuado a través de la angiogénesis mediada por las células endoteliales, la creación de una barrera de permeabilidad mediante la reepitelización de los queratinocitos y el refuerzo del tejido dérmico por fibroplasia; las células importantes en esta fase son los fibroblastos, las células endoteliales y los queratinocitos. Recordemos que la transición de la fase inflamatoria a la proliferativa se produce a medida que disminuye el número de células inflamatorias en la herida; sin embargo, los monocitos continuarán migrando a la herida y se activarán a macrófagos.

El tejido de granulación se crea a partir de la matriz extracelular (andamio) provisional formada por el coágulo de fibrina, la cual se transforma en tejido de granulación a través de una serie de eventos estimulados por macrófagos activados dentro de los tres a cinco días de la lesión en una herida sana, sin complicaciones. La acumulación de fibroblastos y la formación de matriz dérmica da lugar a la fibroplasia mientras que la angiogénesis conduce a una nueva formación capilar, ambos resultan en la característica apariencia carnosa y granular de este tejido (Lux, 2022) (Fossum *et al.*, 2018).

#### 2.2.2.1 Fibroplasia

El proceso de fibroplasia y el depósito temprano de colágeno se notan de manera prominente a los cuatro a cinco días, momento a partir del cual, la resistencia a la tracción aumenta rápidamente. Se originan a partir de células mesenquimales indiferenciadas presentes en el tejido conectivo que rodea la herida; migran a lo largo de las fibras presentes en el coágulo de fibrina gracias a receptores de integrina que les permiten unirse directamente a la fibrina y otras hebras de proteínas; asimismo, este movimiento es favorecido por los macrófagos activados, los cuales además liberan mediadores para estimular una mayor migración de fibroblastos, proliferación y expresión de integrinas.

La proliferación de fibroblastos es estimulada principalmente por macrófagos, citocinas y moléculas de la matriz extracelular, como el factor de crecimiento derivado de plaquetas, el factor de crecimiento transformador TGF- $\beta$  y el factor de crecimiento endotelial. La unión y el movimiento de las células fibroblásticas son estimulados por el TGF- $\beta$  y la posterior producción de fibronectina; asimismo, el

entorno de la herida, la ligera acidez y el contenido de oxígeno en los tejidos también estimulan la proliferación de fibroblastos y, por lo tanto, la síntesis de colágeno.

Vale la pena mencionar que los fibroblastos liberan enzimas proteolíticas (miembros de la familia de las metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMP), incluidas: colagenasa intersticial (MMP-1), gelatinasa (MMP-1) y estromelisina (MMP3) y el activador de plasminógeno para facilitar su migración a través de la matriz filamentosa de fibrina.

Una vez que los fibroblastos han entrado en la herida, realizan una función importante de síntesis de proteínas, inicialmente, grandes cantidades de fibronectina para formar una matriz extracelular laxa; seguida de una matriz colagenosa, en la que se incluye la producción de colágeno, elastina y proteoglicanos, que se organizan inicialmente en un patrón aleatorio. Hay que destacar que la vitamina C es esencial para una producción óptima de colágeno, y aunque el perro y el gato generalmente poseen niveles adecuados de vitamina C, vale la pena considerar su suplementación en pacientes muy estresados que tienen un estado nutricional deficiente.

Inicialmente, hay una producción predominante de colágeno tipo III (inmaduro), para formar el tejido de granulación temprano; su secreción máxima ocurre de cinco a siete días, y a medida que es depositado, se eliminan las fibras de fibrina y disminuye su tasa de síntesis. Gradualmente, este será removido por las colagenasas, ya que se establece un colágeno maduro (colágeno tipo I) durante un periodo de semanas a meses, abarcando también la fase de maduración, formando una red estructural de mayor resistencia a la tracción; asimismo, se produce

colágeno tipo VI, el cual regula la composición y el ensamblaje de la matriz dérmica. Los niveles de colágeno alcanzan su punto máximo dos a tres semanas posterior a la lesión, pero la resistencia a la tracción de la cicatriz aumenta progresivamente durante los próximos doce meses a medida que avanza la remodelación del colágeno.

Teniendo esto en consideración, podemos mencionar que el colágeno es directamente responsable de la resistencia a la tracción de una herida. Por lo que la falta de colágeno o su formación inadecuada puede conducir a la dehiscencia (Lux, 2022) (Balsa and Culp, 2015) (Pavletic, 2018).

#### 2.2.2.2 Angiogénesis

Es el proceso de formación de nuevos vasos sanguíneos, también llamado neovascularización, está dado por células endoteliales ubicadas cerca de los tejidos dañados de la herida. Vale la pena mencionar que el entorno local de la herida también potencia la angiogénesis, incluida la presencia de baja tensión de oxígeno secundaria al trauma tisular, las aminas biogénicas y el ácido láctico; la baja tensión de oxígeno es probable que estimule a los macrófagos a producir y secretar factores angiogénicos.

Es importante recordar que la epitelización depende de la presencia de una matriz vascularizada. Hay que tener en cuenta que estos brotes capilares inmaduros (células endoteliales) son porosos con pérdida de líquido en la herida: esto se observa en los tejidos de granulación inmaduros; con el tiempo, los capilares maduran con una disminución proporcional del líquido. Los vasos sanguíneos

eventualmente, involucrarán como un proceso de remodelación, este cambio en el tejido de granulación da como resultado apariencia pálida y menos carnosa, común en las heridas crónicas. En resumen, cuando el tejido de granulación sea rojo brillante, debe ser considerado normal al comienzo de esta fase, mientras que un color pálido al principio del proceso de curación se consideraría anormal (Lux, 2022) (Balsa and Culp, 2015) (Pavletic, 2018).

### 2.2.2.3 Reepitelización

La cicatrización de heridas está incompleta sin la restauración de la superficie epitelial. Uno o dos días después de la lesión, las células epiteliales comienzan a proliferar en la zona basal y sobre la capa de células espinosas a lo largo del borde viable del defecto de la piel, para restaurar la barrera impermeable de la piel. Esto en respuesta a las citocinas, VEGF y el TGF- $\alpha$ , secretado por las plaquetas y los macrófagos. Esta migración puede tardar semanas dependiendo del tamaño de la herida, e inicialmente, la cobertura es delgada y frágil; este proceso termina cuando las células epiteliales entran en contacto entre sí (inhibición por contacto).

La proliferación y diferenciación de las células se lleva a cabo para formar una nueva membrana basal junto a una red de colágeno tipo IV, generalmente en un plazo de siete a nueve días; esto no incluye la formación de otros anexos y, por lo tanto, inicialmente, y en algunos casos de forma permanente, la piel permanece sin pelo. La fase de reparación generalmente se considera completa cuando la epidermis se restablece a través del lecho de granulación (Lux, 2022) (Balsa and Culp, 2015).

#### 2.2.2.4 Contracción de la herida

Este es un proceso en el que la piel periférica al defecto de espesor total avanza de manera centrípeta hacia el centro de la herida. Se considera que comienza a los cinco días tras la lesión; aunque su efecto puede ser inaparente, hasta varios días después, por lo que abarca tanto la fase proliferativa como la de maduración. Las células responsables de este fenómeno se llaman miofibroblastos, ellos se alinean con las líneas de contracción de la herida, y la contracción de la herida se produce en la dirección de las líneas de tensión de la piel. La velocidad de contracción de la herida está inversamente relacionada con la concentración de la red de colágeno y es proporcional al número de células. Se menciona que la contracción alcanza su máximo a las dos semanas posterior a la lesión, terminando en promedio a las seis semanas, tiempo después del cual, cualquier defecto restante se cubrirá por reepitelización.

La contracción de la herida se inhibirá por la tensión excesiva en los bordes de la herida, así como por presencia de tejido necrótico, es decir, existe un mecanismo de retroalimentación negativa, el cual la detendrá una vez que los bordes de la herida entren en contacto. La mayoría de las heridas grandes en perros y gatos se curan de modo predominante por contracción de la herida, aunque no hay que olvidar que la epitelización se produce de manera independiente. Es importante mencionar que cuando la contracción de la herida cesa de forma natural o se ve afectada, la epitelización debe completar el proceso de cierre (Lux, 2022) (Balsa and Culp, 2015) (Pavletic, 2018).

### 2.2.3 Fase de maduración

También conocida como fase de remodelación, se caracteriza por el fortalecimiento del colágeno recién formado, tiene lugar desde el día 20 hasta aproximadamente un año después de la lesión; sin embargo, se produce a lo largo de todas las fases de la cicatrización, pues el coagulo de fibrina finalmente se remodela en la cicatriz acelular. Las características distintivas de esta fase son la apoptosis y la remodelación del colágeno, dando como resultado menos colágeno, pero con una configuración estructuralmente superior, evidenciada con fibras de mayor grosor y progresivamente más reticuladas. Por otro lado, la apoptosis de las células endoteliales y los miofibroblastos da como resultado contenido celular reducido del tejido de granulación y la transición a la cicatriz (acelular con fibras de colágeno tipo I) de la herida. Cualquier alteración en esta fase puede conducir a una cicatrización excesiva o a la cicatrización crónica.

Tres semanas después de la lesión, la cicatriz tiene el 20 % de su fuerza final, a partir de entonces, la ganancia de resistencia a la tracción se produce a un ritmo mucho más lento, por lo que, durante las próximas semanas, la cicatriz alcanzará solo el 70-80% de la resistencia a la tracción de la piel normal (Lux, 2022) (Balsa and Culp, 2015).

### 2.3 Clasificación de heridas

La clasificación de las heridas varia con respecto al autor que se consulte, se pueden categorizar mediante varios parámetros como la **causa** de la herida (trauma, cirugía y enfermedades crónicas), la **duración** (aguda o crónica) y la

**profundidad** de la lesión en la piel y los tejidos subyacentes (superficiales, de espesor parcial o dérmicas profundas, que involucran epidermis, dermis y tejidos subyacentes, respectivamente) (Kordestani, 2019). Otro aspecto para considerar es el tiempo transcurrido desde que se originó la lesión hasta que se le realiza manejo médico, pues este factor va ligado al grado de contaminación que puede presentar la herida.

No obstante, en este trabajo nos enfocaremos en la clasificación basada en la duración, puesto que más adelante se mencionan los efectos de las **Soluciones Súper Oxidadas (SSO)** sobre las heridas agudas y crónicas.

### 2.3.1 Clasificación por la duración

#### 2.3.1.1 Heridas agudas

La herida aguda se refiere a una ruptura de la integridad de los tejidos blandos, suele ser repentina y puede curarse de manera oportuna y predecible; es decir, por *primera intención*. A este tipo de heridas se les puede agregar la clasificación de simpleo o complejas, que depende de la localización, tamaño, estructuras anatómicas implicadas y carga biológica. Los ejemplos clásicos son las heridas traumáticas y quirúrgicas, por la simplicidad, se hace mención de que el proceso de cicatrización suele durar menos de 30 días (Kordestani, 2019).

#### 2.3.1.2 Heridas crónicas

Cuando una herida aguda no cicatriza de manera predecible y oportuna (cuatro a seis semanas), se produce una herida crónica, en la que el proceso de cicatrización puede retrasarse, detenerse o empeorar con el tiempo; esto debido a que la

regeneración tisular puede verse afectada de manera negativa por múltiples factores como infecciones, enfermedades concurrentes (por ejemplo, diabetes, enfermedades vasculares y cáncer), malnutrición; en presencia de los cuales, la herida no cicatriza y se convierte en una úlcera crónica. La mayoría están afectadas por un factor local, por lo que las heridas crónicas se caracterizan por altos niveles de enzimas proteolíticas y citocinas, las que inhiben la formación de tejido de granulación y la epitelización; lo que proporciona el entorno ideal para la colonización bacteriana, interrumpiendo el proceso de curación; estas heridas requieren de segunda intención para activar el proceso de cicatrización. Los principales ejemplos de heridas crónicas son las úlceras por presión, las úlceras vasculares y si bien las quemaduras no entran en principio en la clasificación, el mal manejo puede dar lugar a una inadecuada evolución y llevar a la prolongación innecesaria en tiempo (Kordestani, 2019).

A continuación, se presenta un cuadro que resume las diferencias entre una herida aguda y una crónica (Cuadro 2) (Kordestani, 2019).

**Cuadro 2. Principales características de las heridas agudas y crónicas**

<b>HERIDAS AGUDAS</b>	<b>HERIDAS CRÓNICAS</b>
Duración menor a un mes	No cicatriza dentro de las 6 semanas posteriores a la formación
No hay patología subyacente	Patología subyacente
Etapa inflamatoria normal	Etapa inflamatoria prolongada
Normalmente se cura sin complicaciones	Variedad de complicaciones

El líquido de la herida apoya a la proliferación celular	El líquido de la herida no apoya a la proliferación celular
Presencia de TGF- $\beta$	Degradación de TGF- $\beta$
Aumento de la concentración de PDGF, FGF y VEGF	Disminución de la concentración o falta de PDGF, FGF y VEGF

## 2.4 Contaminación, colonización e infección de heridas

Es importante considerar que, en todas las superficies, vivas o inertes, de manera habitual hay **contaminación** microbiológica, esto es, la presencia de virus, hongos y bacterias; las cuales se encuentran por circunstancias contextuales, pero que normalmente no se están multiplicando en ese medio. Esta contaminación se considera **colonización**, cuando los microorganismos proliferan para establecerse y extenderse mediante la creación de una colonia en la superficie en cuestión; vale la pena mencionar que, si se hace referencia a la superficie de un organismo, esta multiplicación no se produce en número suficiente para poder ser considerada infección y en ningún momento produce signos que se puedan considerar patológicos (González *et al.*, 2014). Para que esto suceda, en la herida debe haber la entrada y proliferación de diferentes tipos de microorganismo durante un período; las bacterias Grampositivas suelen entrar primero en el lecho de la herida; los estafilococos coagulasa negativos (CoNS) son el grupo predominante al ser comensales del entorno fisiológico de la piel intacta en las proximidades de la herida; este grupo bacteriano conforma una barrera de defensa contra la proliferación de otros microorganismos. Dependiendo del control inmunológico local del individuo, las bacterias Gramnegativas (principalmente bacilos) invaden el

campo y compiten con las especies que residen. Algunas de estas bacterias son: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonadaceae* y *Acinetobacter* spp.

Los microorganismos anaeróbios se presentan en las heridas crónicas debido a los cambios en el ambiente de la herida, pues bacterias como *E. coli*, reducen el contenido de oxígeno. Por diversas situaciones, no siempre se diagnostican (incluyendo costo), por lo que su presencia está subestimada y no es claro cuál es su papel en la evolución clínica de la cicatrización (Daeschlein, 2013).

Por otro lado, hay que tener en cuenta el concepto de “*biofilm*”, el cual hace referencia a una comunidad microbiana compleja, que consiste en bacterias unidas entre sí, por matriz de biopolímeros autoproducida de polisacáridos, proteínas y ADN de los microorganismos iniciadores. Esta matriz proporciona efecto protector para los microorganismos inmersos en ella y mejoran la tolerancia del sistema inmunológico en el huésped, a los antimicrobianos y el estrés ambiental. Las comunidades del *biofilm* interactúan con el tejido huésped, resulta en apego estable, nutrición sostenible y sobretodo, relación parasitaria. Por lo anterior, se debe destacar que la concentración mínima de inhibición y la concentración mínima bactericida de los antibióticos para las bacterias que crecen en el *biofilm* (biopelícula) pueden ser de hasta 100 a 1000 veces más altas que las necesarias para las bacterias planctónicas (superficiales).

La formación del *biofilm* se divide en fases:

- *Fase 1*: Es iniciada por bacterias planctónicas unidas de forma reversible a una superficie y aún susceptibles a los antibióticos.

- *Fase 2:* Las bacterias se unen irreversiblemente a la superficie y se multiplican para producir una matriz polimérica viscosa alrededor de las microcolonias. Durante los próximos días, el biofilm crece en grosor y exhibe la máxima resistencia a los antibióticos.
- *Fase 3:* Las áreas focales del biofilm se disuelven y forman películas hijas metastásicas en el área circundante.

Para evitar su establecimiento, se deben realizar intervenciones antes de la fase dos, como el desbride, uso de antibióticos y antisépticos (Daeschlein, 2013).

En general, se han encontrado estructuras de *biofilm* en el 60% de las heridas crónicas y el 6% de las heridas agudas, es un factor importante que contribuye a los cambios inflamatorios persistentes y crónicos en el lecho de la herida, son un problema en las heridas debido a que estimulan la respuesta inflamatoria crónica. Como podemos observar, desde la contaminación bacteriana, la colonización, la colonización crítica hasta la infección, es un proceso dinámico. El papel exacto de su mecanismo, aún no se comprende bien, ni los puntos críticos como el inicio exacto o la cinética de progresión de la infección local, no se pueden determinar, ni siquiera mediante biopsia (Daeschlein, 2013).

A continuación, se presenta el cuadro 3 con los puntos relevantes del proceso antes descrito (Leaper *et. al.* 2013).

**Cuadro 3. Características en la progresión de la carga microbiana en las heridas**

ESTADO DE LA HERIDA	CARACTERÍSTICAS
Contaminación	Las bacterias no proliferan ni causan signos clínicos.
Colonización	Las bacterias se multiplican, pero los tejidos de la herida no se dañan.
Colonización crítica / infección localizada	<p>-Las bacterias proliferan en la medida que el proceso de cicatrización se ve afectado y los tejidos de la herida están dañados.</p> <p>-También hace referencia a la presencia de <i>biofilm</i> en el lecho de la herida.</p>
Propagación de la infección	Las bacterias proliferan desde el lecho de la herida, causando problemas en el tejido sano cercano (celulitis y eritema)
Infección sistémica	Las bacterias se propagan desde el lecho de la herida, provocan infecciones en todo el organismo (respuesta inflamatoria sistémica, <i>sepsis</i> y disfunción orgánica)

### 2.5 Efectos de la carga bacteriana de heridas

A pesar de que se tienen algunos conocimientos sobre la interacción bacteriana con el epitelio y su papel en la homeostasis de las heridas, las conclusiones con respecto a esta relación aún son inexactas; se sabe que algunos patógenos como el *S. aureus* y los estreptococos del grupo A, pueden provocar fácilmente infecciones más o menos graves, alterando la cicatrización, sin olvidar que están involucradas la inmunidad del huésped, el tamaño del inóculo y la virulencia de las

cepas. Se tiene evidencia del efecto negativo de algunas especies bacterianas, atribuido a la liberación de enzimas líticas que destruyen el tejido, exotoxinas y endotoxinas, así como efectos antifagocíticos, lo que conduce al deterioro de la cicatrización en las heridas.

Como ya se mencionó, en las heridas agudas se encuentran principalmente *Pseudomonas aeruginosa* y *E. coli*, que en la mayoría de los casos no causan infecciones críticas en las heridas crónicas, a menos de que exista alguna alteración como la presencia de cuerpos extraños, alteraciones inmunitarias, politrauma y desnutrición. Mientras el individuo mantenga la homeostasis y los mecanismos de defensa, los patógenos ya no estarán presentes al momento del cierre. Mientras que, en la herida crónica, el aumento de la diversidad bacteriana es directamente proporcional al tiempo de evolución de la misma, habiendo especies aeróbicas y anaerobias, además del establecimiento del *biofilm*; las especies que se encuentran con mayor frecuencia son bacilos gramnegativos (*Enterobacteriaceae*), *P. aeruginosa*, estreptococos fecales (*Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*) y *S. aureus* (Daeschlein, 2013).

### **3. Generalidades de antisépticos**

No es tema de este escrito, pero recordemos que la asepsia se divide en antisepsia, desinfección y esterilización; la antisepsia se lleva a cabo con sustancias conocidas como antisépticos, que son productos químicos que se emplean en la superficie corporal (antisepsia), como la piel, membranas mucosas y heridas superficiales, con el propósito de inhibir el crecimiento microbiano; estos productos se caracterizan por la actividad antibacteriana, antifúngica y antiviral, pero carecen

de acción sobre esporas; de manera general se sabe que su función es disminuir la carga bacteriana. Aunque la esterilización (eliminación total de microorganismos y esporas) se realiza en objetos inanimados, se ha empleado en tejidos que sean utilizados para injertos (Babalska *et al.*, 2021).

### 3.1 Uso de antisépticos

Si conocemos el microbioma de la piel, y que dependiendo de factores ambientales y propios del individuo, la población bacteriana puede tornarse dañina, se puede determinar el uso del antiséptico adecuado; es decir, la lesión en piel no es igual, si se trata de un evento accidental (trauma, picadura de insecto), o intencional como la incisión quirúrgica; en el primero es más probable que haya incursión de patógenos bacterianos y se desarrolle la infección. Además del manejo sistémico (de acuerdo con cada individuo), se realiza la administración local en la herida de geles, pomadas, ungüentos, soluciones; todo acorde a las manifestaciones clínicas específicas. Además de las indicaciones terapéuticas y los antibióticos tópicos, los antisépticos se utilizan cada vez más en la prevención de infecciones de la piel, en particular para reducir las infecciones del sitio quirúrgico (antisepsia) en pacientes colonizados con *S. aureus* (Williamson *et al.*, 2017).

Los antisépticos se emplean, tanto de manera preventiva como terapéutica; siempre será mejor usarlos para prevenir la infección (posquirúrgica, nosocomial), la reinfección (dermatitis) o alguna alteración en el proceso de la cicatrización de heridas (o en heridas que requieren manejo médico), por lo que generalmente se aplican en las fases iniciales de la cicatrización. Existen objetivos adicionales y secundarios de la terapia antiséptica, como promover la proliferación y regeneración

celular (heridas crónicas -principalmente en la fase de desbridamiento-) (Daeschlein, 2013) (Williamson *et al.*, 2017).

### 3.2 Características del antiséptico ideal

Es bien conocido que no existe como tal; sin embargo, en la medida de lo posible hay características que deben ser consideradas para su empleo como:

- Tener acción rápida y duradera (horas).
- Ofrecer actividad contra el *biofilm*.
- Nula o baja toxicidad para los fibroblastos y queratinocitos.
- Contar con amplio espectro antimicrobiano (contra bacterias Grampositivas, Gramnegativas, antibiótico-resistentes (*S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA), o los enterococos resistentes a la vancomicina (VRE)); así como para esporas, virus y hongos.
- Mantener su efecto aún en contacto con materia orgánica.
- Evitar que sea absorbido por la piel y mucosas.
- No ser carcinogénico, mutagénico, alergénico, irritativo, ni lesionar tejido sano (manejo y almacenamiento seguros).
- De ser posible, que tenga características organolépticas agradables (Babalska *et al.*, 2021) (Daschlein. 2013).

### 3.3 Clasificación de los antisépticos

Debido a que los antisépticos son aplicados en las heridas, son considerados medicamentos, se diferencian de los antibióticos ya que tienen actividad de amplio

espectro, inhiben los microorganismos de manera no selectiva, generan poca resistencia y mínimos efectos secundarios.

Una de las clasificaciones más utilizadas está basada en función de la composición bioquímica de estos (Cuadro 4), que los divide en:

**Cuadro 4. Clasificación por grupo químico de los antisépticos**

<b>GRUPO QUÍMICO</b>	<b>ANTISÉPTICOS</b>
<b>Alcoholes</b>	Etílico Isopropílico
<b>Biguanidas</b>	Clorhexidina
<b>Halogenados</b>	Soluciones de iodo Iodóforos
<b>Fenoles</b>	Hexaclorofeno Triclosán Cloroxifenon
<b>Tensioactivos</b>	Jabones Derivados de cuaternarios de amonio
<b>Metales pesados</b>	Nitrato de plata Sulfadiazina argéntica Mercurocromo Mertiolato
<b>Anilidas</b>	Triclocarbán
<b>Diamidinas</b>	Propamidina Dibromopropamidina
<b>Oxidantes</b>	Peróxido de hidrógeno

(Adaptado de González *et al.*, 2014)

Vale la pena mencionar que el uso de antisépticos ha experimentado un renacimiento en los últimos años con la aparición de nuevos y mejores productos, ya que los antisépticos históricos como el peróxido de hidrógeno, los alcoholes y la clorhexidina son citotóxicos, interfieren con la respuesta inflamatoria natural del

huésped y pueden aumentar la incidencia de infecciones; por tanto, en medicina humana, han sido reemplazadas en gran medida por antisépticos recientes, como la polihexanida (PHMB), octenidina (OCT) y el ácido hipocloroso (HOCl).

- *PHMB (polihexanida)*: Es un antiséptico con una amplia actividad antimicrobiana similar a la clorhexidina pero sin citotoxicidad asociada; el mecanismo de acción hace que el desarrollo de resistencia sea muy poco probable y no ha sido reportado. Su uso puede disminuir el tiempo de cicatrización y es eficaz contra el *biofilm*. Tiene efecto sostenido durante horas después de la administración, aunque se recomienda un tiempo de contacto mínimo de 10-15 min para el efecto antimicrobiano completo. Como resultado de su excelente compatibilidad con los tejidos, amplia actividad antimicrobiana, variedad de formulaciones y eficacia clínica comprobada, la PHMB es de los agentes antisépticos modernos y prometedores.
- *OCT (octenidina)*: Es un antiséptico catiónico, con una actividad antimicrobiana de amplio espectro, conserva su eficacia en el lecho de la herida, ha demostrado la destrucción de *biofilm* y no retrasa la cicatrización de heridas. Vale la pena resaltar que no requiere de tiempo de contacto tan prolongado como el PHMB (p. ej., es efectivo en un minuto); existe cierta evidencia de actividad superior contra *Pseudomonas aeruginosa* en comparación con otros antisépticos como el PHMB y la iodopovidona. Sin embargo, solo se recomienda la aplicación superficial porque en heridas profundas y punciones se ha asociado con edema y daño tisular.

- *HOCl (ácido hipocloroso)*: También conocido como agua superoxidada, se produce mediante la electrólisis del agua y el NaCl para generar especies reactivas de oxígeno. El producto resultante se estabiliza y neutraliza el pH, lo que evita la citotoxicidad en el huésped, a diferencia de los productos más antiguos a base de cloro, como la solución de Dakin, o la lejía acidificada, que no se recomiendan. Las nuevas soluciones de HOCl son eficaces para eliminar una amplia gama de microorganismos, sin prácticamente ninguna citotoxicidad en el huésped, incluso cuando se usan para lavado peritoneal o en contacto con estructuras del SNC. Además, se ha demostrado que aumenta la velocidad de curación y reduce las infecciones en comparación con la iodopovidona. Vale la pena mencionar, que generalmente se utiliza en concentración de 0.002% (Aisa & Parlier, 2022).

### 3.4 Directrices para el uso de antisépticos

Existen consensos y guías elaboradas en Europa, las indicaciones recientes para el uso de antisépticos en heridas específicas se presentan en el siguiente cuadro.

**Cuadro 5. Indicaciones para el uso de antisépticos en heridas específicas**

ANTISEPTICO		
TIPO DE HERIDA	PRIMERA OPCIÓN	SEGUNDA OPCIÓN
Heridas sin drenaje	HOCl	-
Heridas con colonización crítica	PHMB (0.02%, 0.04%, 0.1%), OCT	OCT, HOCl, antisépticos con plata
Heridas colonizadas o infectadas por microorganismos multirresistentes	OCT	PHMB, antisépticos con plata

<b>Limpieza de heridas agudas y crónicas</b>	HOCI, PHMB	-
<b>Preventivo a infecciones de sitio quirúrgico</b>	OCT	-

(Babalska *et al.*, 2021)

#### **4. Generalidades de las soluciones súper oxidadas**

También conocidas como soluciones de superoxidación, agua electrolizada (EW), solución de superoxidación electrolizada (SSE) y soluciones oxidantes mixtas; las soluciones súper oxidadas (SSO) son soluciones acuosas procesadas electroquímicamente, fabricadas a partir de agua pura, son conocidas por su efecto antiséptico, desinfectante y esterilizante, así como auxiliares en el tratamiento de infecciones en tejidos (Elizabeth *et al.*, 2013).

El concepto de SSO se desarrolló originalmente en Rusia, donde se utilizó para la descontaminación del agua y la desinfección en instituciones médicas. Desde la década de 1990, también han sido utilizadas y descritas en Japón (Tanaka *et al.*, 1996) (Shimizu, Y., & Hurusawa, T. 1992). Una de las primeras aplicaciones de las SSO fue la esterilización de instrumentos médicos en hospitales. Más tarde, se utilizó en varios campos como la agricultura y ganadería para potabilizar el agua (Stevenson *et al.*, 2004).

Históricamente, las SSO se han utilizado como desinfectantes en hospitales y se producen como soluciones ácidas (pH 2-4) o alcalinas (pH  $\geq$  9). Se utilizaron como alternativa en el campo de la asepsia y desinfección durante varios años, desafortunadamente, las SSO ácidas y alcalinas son muy corrosivas, con elevada

toxicidad e inestables debido a sus vidas medias muy cortas y no son seguras para uso medicinal y terapéutico (Bergstrom *et al.*, 2018).

Sin embargo, su uso se implementó en la agricultura, la industria alimentaria y en la desinfección de diversas superficies y materiales inertes por su alta capacidad microbicida (Lucio-Sauceda *et al.*, 2019).

Actualmente, gracias a los avances tecnológicos, se han obtenido SSO con un pH casi neutro (6.4 - 7.5) por selectividad iónica, que además de tener alta actividad y estabilidad microbicida, son más seguras (Liu y Lv, 2019). Por esto, las SSO se han convertido en una nueva alternativa para la asepsia tisular en diferentes áreas de la medicina como odontología, cirugía, dermatología, tratamiento de quemados y diabéticos. Algunas de estas aplicaciones se han descrito en: procesos infecciosos en piel y úlceras (Sekiya, Ohmori y Harii, 1997), la irrigación del mediastino después de cirugía a corazón abierto (Ohno, Higashidate y Yokosuka, 2000), esterilización de injertos de piel (Ge *et al.*, 2012) y tratamiento de peritonitis y abscesos intraperitoneales (Inoue, *et al.*, 1997) (Kubota *et al.*, 2009). También se han recomendado para el lavado y desinfección de manos en personal médico (Sakashita, Iwasawa and Nakamura, 2002).

La mayor ventaja de SSO de pH neutro para la inactivación de microorganismos patógenos radica en su impacto mínimo en el medio ambiente y en la salud de los usuarios por la ausencia de químicos peligrosos agregados en su producción (Ge *et al.*, 2012). Debido a la concentración controlada y a la estabilidad química de

los iones lograda en el proceso de las SSO con pH neutro, esta solución no es tóxica para las células del organismo humano (Stein, 2012).

#### 4.1 Obtención de las SSO

En general, la materia prima de las SSO es agua común más la adición de cloruro de sodio (NaCl). A nivel industrial, el agua de la llave se purifica a través de osmosis inversa y se le añade NaCl. A esta solución se le induce corriente eléctrica generando diversos elementos derivados de oxígeno (O), hidrogeno (H), y cloro (Cl). (Figura 1). Para ello, se hace pasar a través una cámara que cuenta con dos electrodos, uno positivo (ánodo) y otro negativo (cátodo), divididos por una membrana diafragmática o catiónica, a la que se le induce corriente eléctrica, establecida en 9 - 10 *volts* (Kumon,1997).

Esto genera que el NaCl en el agua se disocie en cloro con carga negativa, así como en sodio e hidrógeno con carga positiva. Los iones hidroxilo y cloro son absorbidos por el ánodo, mientras liberan un electrón para transformarse en radicales. Los radicales cloro e hidroxilo se mueven al ánodo se combinan para formar ácido hipocloroso (HClO), que se separa del ánodo; mientras que en el lado del cátodo cada sodio con carga positiva recibe un electrón y se vuelve sodio metálico; éste se combina con moléculas de agua para originar hidróxido de sodio (NaOH) y gas hidrógeno. Tras el proceso de electrólisis diafragmática se obtienen dos soluciones: agua electrolizada ácida (AEW) o agua electrolizada oxidante, generada en la cámara del ánodo con un pH de 2-3 y alto contenido de cloro libre activo, que puede usarse para desinfectar, esterilizar, purificar y matar bacterias; y agua electrolizada básica (BEW) o agua electrolizada reducida, con un pH de 10-13, generada en la

cámara del cátodo y que actúa como un poderoso agente de lavado y limpieza (Hricova, Stephan y Zweifel, 2008) (Gnatko *et al.*, 2011).

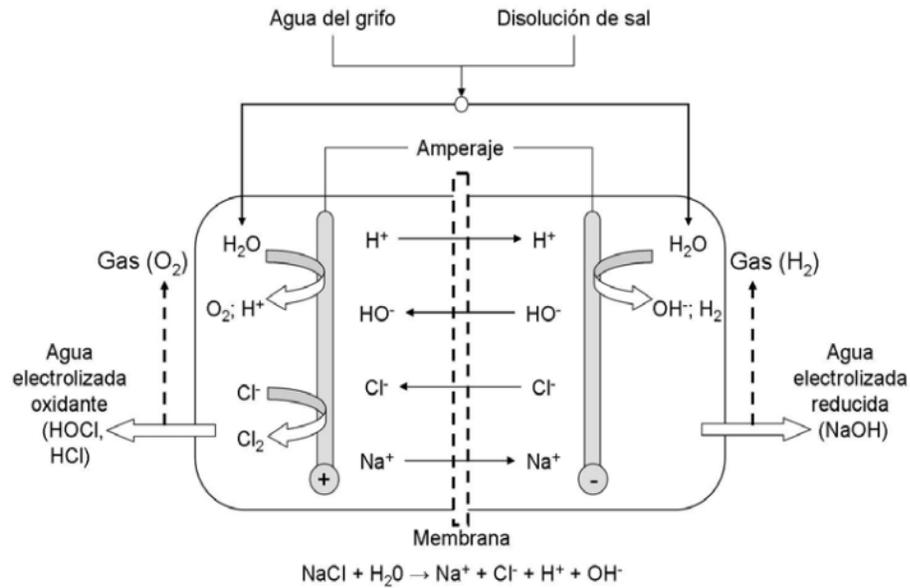


Figura 1. Diagrama esquemático de la síntesis de agua electrolizada (Tabernero de Paz *et al.*, 2013).

Existen dos formas para la obtención de agua electrolizada neutra (NEW):

- En primer lugar, se puede mezclar la AEW con iones OH<sup>-</sup>: En este proceso, parte de la AEW formada se canaliza de regreso a la cámara del ánodo, lo que aumenta el contenido de iones de hipoclorito (OCl<sup>-</sup>), esta reintroducción de la solución alcalina en la solución ácida permite ajustar el pH hasta neutro. Por lo tanto, esta solución se compone principalmente de HOCl, OCl<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup> e hipoclorito de sodio (NaOCl), este proceso da lugar a una solución neutra con un pH de 7 a 8 (Jiménez-González, 2021).
- La segunda forma es la producción de una solución electrolizada de selectividad iónica (SESI), aunque es un proceso similar, resulta más

compleja por la necesidad de obtener el pH neutro más ajustado, a través del control y la selección iónica, así como del control de los flujos. En este caso el sustrato, que es agua tratada con características fisicoquímicas muy específicas y solución saturada de NaCl grado reactivo, es sometido a un proceso de electrolisis controlada (parámetros estrictos de voltaje y carga de corriente) para la generación de iones, que son posteriormente ordenados por medio de electrodiálisis bipolar, y se seleccionan a través de electrodiálisis inducida (selectividad iónica), con el que se consiguen iones controlados y estables. Al final de este proceso se realiza la concentración controlada de volúmenes con neutralidad del pH. La ventaja de estos procesos es que resulta una solución con pH neutro de 6.4 a 7.5, estabilidad mayor ante condiciones ambientales, vida media más larga (>12 meses), con rangos de iones dentro de estándares conocidos y permitidos para fines terapéuticos (Durán, 2010).

## 4.2 Mecanismo de acción

El mecanismo por el cual las SSO son antimicrobianas no se ha definido completamente, no obstante, existen múltiples teorías sobre cómo puede tener fuertes efectos inhibitorios sobre el crecimiento de diferentes tipos de microorganismos y esporas; algunas teorías sugieren que la sinergia entre el pH, el alto potencial de oxidación-reducción (ORP) y la concentración de cloro activo, es la razón principal detrás de las actividades bactericidas.

Los estudios han demostrado que un ambiente de pH bajo afecta seriamente la membrana externa bacteriana, lo que las hace más susceptibles al cloro activo y,

como resultado, pueden entrar más moléculas de HOCl a través de la membrana celular. Por otro lado, el alto ORP puede cambiar el flujo de electrones de las células bacterianas, lo que afecta el metabolismo energético y la generación de trifosfato de adenosina (ATP); además de dañar las membranas celulares. Aparte de la ayuda del bajo pH para entrar en las células, los compuestos de cloro activo pueden destruir la estructura de las membranas celulares, los cuales, al ingresar a las células pueden reaccionar con los ácidos nucleicos o destruir las enzimas clave que son importantes para las funciones metabólicas normales. El HOCl se considera uno de los agentes antimicrobianos más efectivos, ya que puede penetrar en las células y oxidar los compuestos metabólicos importantes en ésta; además de provocar la agregación de proteínas bacterianas esenciales. El alto ORP también puede conducir a la destrucción del metabolismo celular al reducir los radicales libres en los sistemas microbianos (Iram, Wang y Demirci, 2021).

Los efectos inhibitorios de las SSO se manifiestan en la reducción de la actividad de síntesis de proteínas, gran disrupción de nucleótidos y aminoácidos, e inhibición de las vías de biosíntesis de ATP como la glucólisis. Asimismo, disminuye más la actividad de la deshidrogenasa, lo que inhibe la respiración y el anabolismo, además de provocar fugas de ADN intracelular, K<sup>+</sup> y proteínas (Wang *et al.*, 2023).

Por otro lado, existen teorías en las que se explica el mecanismo de acción similar al fenómeno de estallido respiratorio que muestran los leucocitos fagocíticos. Brevemente, cuando los neutrófilos fagocitan a las bacterias, los neutrófilos producen y liberan rápidamente especies reactivas de oxígeno que conducen a la formación de HClO. El HClO es el principal ingrediente activo en SSO

neutras, aunque también encontramos NaClO. La carga neutra de las moléculas de HClO las atrae hacia la membrana celular bacteriana cargada positivamente. Las moléculas de ácido hipocloroso penetran la membrana, ingresan a la célula y comienzan a alterar las funciones metabólicas normales de las bacterias, produce radicales hidroxilo, los cuales ejercen su actividad antimicrobiana mediante la oxidación de sistemas metabólicos clave e inhibición en la síntesis de proteínas; además sensibilizan la membrana para la entrada de cloro, el cual además de destruir las membranas de los microorganismos actúa descarboxilando aminoácidos, reacciona con ácidos nucleicos y desequilibra el metabolismo al destruir enzimas. La lisis celular se produce a través del desequilibrio de presión osmótica entre la célula y la solución SSO hipotónica (Figura2) (Bergstrom *et al.*, 2018) (Hricova, Stephan y Zweifel, 2008).

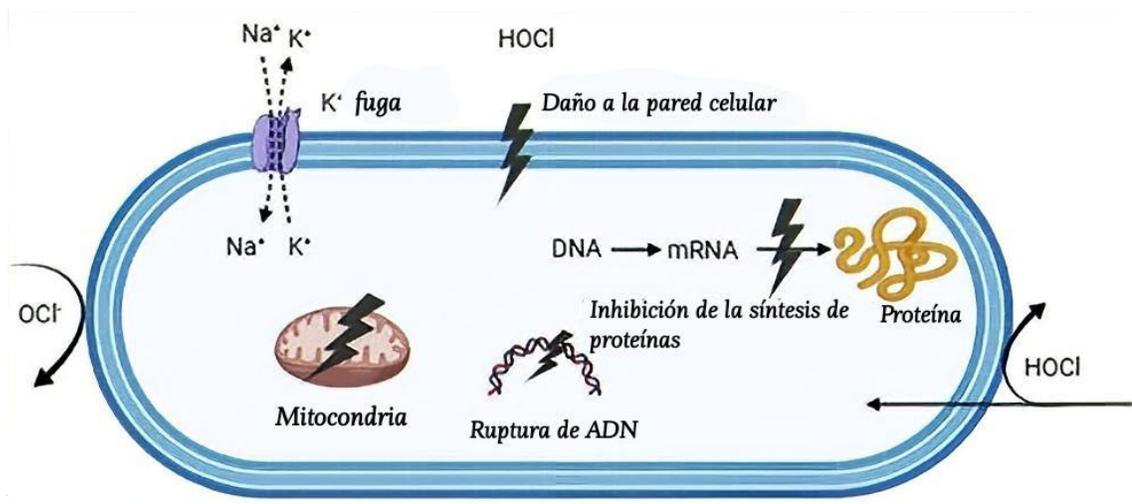


Figura 2. Mecanismo de acción de las soluciones de superoxidación sobre las bacterias (Modificado de Yan, Daliri, Oh, 2021).

Dado que los virus carecen de paredes celulares, se ha postulado que el mecanismo de acción sobre estos es la inactivación de las proteínas de superficie, la destrucción

de la envoltura viral e ingreso para la inactivación de las enzimas virales (ADNasas y ARNasas víricas) o la destrucción del ácido nucleico viral, erradicando colectivamente su potencial contagiosidad (Morita, 2000).

Vale la pena mencionar que basta con dejarla actuar durante 30 segundos para que ejerza su mecanismo de acción.

### 4.3 Clasificación de las SSO

Como ya se mencionó anteriormente, no todas las soluciones que pasan por un proceso de electrólisis son iguales, aunque todas provengan en principio de la misma materia prima y pasen por un proceso similar. Existen diferencias en el pH, el ORP, concentración de cloro disponible (ACC) y los componentes generados en el proceso electrolítico. Su clasificación se basa principalmente considerando el pH, por lo que se encuentran SSO ácidos fuertes (preparadas con soluciones con NaCl y que se electrolizan con electrodos positivos y negativos en pozos separados por una membrana catiónica) y ácidos débiles (obtenidas por electrólisis de soluciones con mayor concentración de NaCl en un solo pozo, sin una membrana catiónica). Además, se pueden encontrar SSO alcalinas, las cuales han sido estudiadas y se han demostrado sus propiedades microbicidas; no obstante, es más limitada su efectividad al disminuir la presencia de cloro, por lo que prácticamente no son utilizadas (Cuadro 6) (Durán, 2010).

Finalmente se citan a las SSO neutras, las cuales se obtienen mediante un proceso más ajustado de control y selección iónica, manteniendo en equilibrio la presencia de HClO y NaClO, lo que da como resultado una solución con alta eficacia contra

microorganismos mientras mantienen la estabilidad del producto y baja toxicidad (Bergstrom *et al.*, 2018).

**Cuadro 2. Tipos y características de las soluciones de superoxidación**

Tipo de SSO	pH	ORP (mV)	ACC (ppm)
Ácida	2-2.7	>1000	20 - 60
Ligeramente ácida	5-6.5	>850	10 – 30
Neutra	7-8	750 - 900	30 - 200
Alcalina	10-13	-800 - -900	80 - 100

(Sun *et al.*, 2022) (Iram, Wang y Demirci,2021) (Chen y Wang, 2022).

#### 4.3.1 SSO Ácida

Estas soluciones se caracterizan por su bajo pH, alto ORP y la presencia de HOCl, los cuales en conjunto producen efecto sinérgico que les brinda fuertes propiedades desinfectantes que alteran la estructura de la membrana celular de los microorganismos, lo que las hace más efectivas, comparadas con las SSO ligeramente ácidas. A diferencia de los desinfectantes convencionales, la SSO ácida no solo tiene un mejor efecto bactericida, sino también un impacto menos adverso en la salud pública y el medio ambiente. No obstante, hay que tener en cuenta que estas soluciones son volátiles, por lo que hay pérdida de gas Cl<sub>2</sub>, lo que a su vez reduce su eficacia antimicrobiana. Además, resultan corrosivas para materiales metálicos, especialmente aluminio (Al-Holy y Rasco, 2015) (Ding *et al.*, 2016) (Du *et al.*, 2016).

### 4.3.2 SSO ligeramente ácida

También denominadas como SAEW, tienen un valor de ORP relativamente más bajo que la AEW (menos de 1000 mV), pH cercano a la neutralidad pH 5.0-6.5 y HClO como el principal compuesto de cloro. Este pH ayuda a disminuir el riesgo de corrosión y mejora la estabilidad, mientras que al mismo tiempo proporciona actividad microbicida adecuada (Waters y Hung, 2014) (Ampiauw *et al.*, 2021).

### 4.3.3 SSO neutra

Esta solución es de especial interés pues debido a su pH neutro, no contribuye tan agresivamente como la AEW a la corrosión del equipo de procesamiento o la irritación de las manos, y es más estable, ya que la pérdida de Cl se reduce significativamente (Lin, Hung y Deng, 2020), lo que representa la alternativa eficaz de desinfección, con actividad antimicrobiana, no corrosiva, sin contaminar el medio ambiente, producción *in situ* a bajo costo y manejo seguro. En este tipo de soluciones en especial, el mecanismo de acción contra bacterias se atribuye al efecto de oxidación de los grupos sulfhidrilo (-SH) y aminoácidos de la pared bacteriana, con lo que se afecta el proceso de respiración y nutrición de los microorganismos, produciéndose oxidación de los componentes respiratorios, inhibición en la síntesis de proteínas, alteración en la producción de energía (ATP), ruptura de las cadenas de RNA y represión en la síntesis de moléculas del metabolismo celular. Asimismo, hay que destacar que debido a la concentración de iones y a la estabilidad química, las NEW, pueden considerarse como no tóxicas para las células eucarióticas, incluidas las del organismo humano, por lo que

representa una opción como antiséptico (Hernández-Pimentel *et al.*, 2020) (Tabernero de Paz *et al.*, 2013).

#### 4.3.4 SSO alcalina

Estas soluciones tienen un alto ORP negativo y una fuerte capacidad de reducción. Debido a estas características únicas, puede ingresar al espacio intercelular y favorecer fuerte penetración de agentes activos de cloro, lo que produce daño a las paredes celulares, al desestabilizar los compuestos poliméricos extracelulares alrededor de las envolturas celulares bacterianas. Asimismo, el ORP extremadamente bajo de la solución podría alterar las membranas celulares y provocar la muerte de microorganismos. También, tiene el potencial de reducir los radicales libres basándose en su fuerte capacidad de reducción (Lin, Hung y Deng, 2020).

#### 4.4 Espectro antimicrobiano

Aunque todas las SSO son preparadas por un proceso de electrolisis similar, como ya se mencionó, hay variaciones en su ORP, concentración de cloro libre activo y de pH; lo que provoca variaciones en la potencia microbiocida; no obstante, todas comparten un espectro antimicrobiano amplio, con actividad microbiocida significativa contra varias bacterias, virus y hongos en cinco minutos y contra esporas en 10 minutos, incluidos: *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Actinomyces israelii*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces viscosus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus cereus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Candida*

*albicans*, *Candida tropicalis*, *Clostridium difficile*, *Cryptococcus neoformans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Eubacterium lentum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rogosae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Peptococcus niger*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Porphyromonas endodontalis* o *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella loeschii*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella nigrescens*, *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus spp*, *Stenothrophomonas maltophilia*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus coccus sanguis*, *Streptococcus sobrinus*, *Veillonella parvula*, *Xanthomonas maltophilia*, *Coxsackievirus* tipo B1, *Echovirus* tipo 7, *Norovirus*, *Herpes simplex* tipo 1 y 2, *Adenovirus* tipo 1, 2 y 3 (para la destrucción de este virus se requiere la exposición durante al menos 10 minutos); *Poliovirus* tipos 2 y 3; y el virus de la inmunodeficiencia humana VIH-1 (Gnatko, 2011).

Por otro lado, se ha demostrado que además de tener potencial antifúngico, inactiva eficazmente otras especies de eucariotas patógenas al dañar las estructuras funcionales celulares. De particular interés es su eficacia contra *Cryptosporidium parvum*, un patógeno transmitido por el agua que previamente ha demostrado ser resistente al tratamiento estándar con cloro. La NEW mostró actividad significativa contra los ooquistes de *C. parvum* en contraste con actividad escasa o nula con solución de cloro libre (Venczel, 1997). La sensibilidad de las células eucariotas a

las SSO hace considerar el riesgo de toxicidad en mamíferos, el cual se considera más adelante.

Asimismo, las SSO pueden desorganizar el *biofilm*, el cual, como ya se mencionó, se considera un mecanismo evolutivo que proporciona mayor resistencia y supervivencia a los microorganismos. Aunque estas comunidades estructurales son, sin duda, omnipresentes en la naturaleza, se han realizado pocos estudios experimentales para investigar específicamente la sensibilidad de estas comunidades "tolerantes a los antimicrobianos" a las SSO. La eliminación efectiva de *biofilm* maduro de *P. aeruginosa* en la superficie del vidrio y el acero inoxidable después del tratamiento con NEW y AEW, se ha demostrado *in vitro* mediante microscopía óptica y electrónica (Sauer, 2009). Además, se demostró que tras el tratamiento con AEW se eliminó la matriz extracelular de los *biofilms* de *E. coli* y de colonias bacterianas reductoras de sulfato, utilizando microscopía de fuerza atómica *in vitro*, lo que indica la posible aplicación como agente antibioincrustante. Otros estudios han analizado la inactivación de las bacterias asociadas a la superficie, posterior al tratamiento con SSO y han demostrado actividad significativa contra *S. aureus* (incluyendo *S. aureus* resistente a la meticilina MRSA), *E. faecalis*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *A. baumannii*, *H. pylori* y *Mycobacterium spp* (Zan, 2016) (D'Atanasio, 2015) (Thorn, 2012).

Pese a todo, hay que considerar que la actividad antimicrobiana de las SSO depende de oxidantes no específicos altamente reactivos, y es casi seguro que estas fracciones activas se apagan competitivamente por los altos niveles de carga orgánica presente dentro del *biofilm*. Por lo tanto, se requeriría una

concentración y un tiempo de exposición suficientes para llegar a las células más profundas dentro de su arquitectura. De hecho, se ha postulado que los radicales OH presentes en las SSO pueden causar el colapso de la matriz altamente estructurada del *biofilm* mediante la eliminación de iones de hidrógeno (a través de la oxidación), exponiendo las células más profundas a agentes antimicrobianos (Marais y Brözel, 1999). En general, la literatura apoya el uso potencial de las SSO contra *biofilms*, pero se requiere más investigación en esta área para dilucidar la cinética y caracterizar los regímenes de tratamiento apropiados.

#### 4.5 Efecto antitoxinas

La capacidad de las SSO para inactivar las toxinas bacterianas preformadas se ha investigado mediante la enterotoxina A estafilocócica (SEA), clásicamente termoestable y resistente al tratamiento con ácidos y álcalis fuertes; sin embargo, se registró inactivación significativa con SSO (Suzuki, 2002). Se encontró que el sitio inmunorreactivo de la SEA estaba desnaturalizado (incluso en presencia de carga orgánica) y que se producía fragmentación extensa de péptidos con la consiguiente pérdida del contenido de aminoácidos. Por otro lado, la capacidad de las SSO para inactivar las toxinas fúngicas se ha investigado utilizando la aflatoxina de *Aspergillus parasiticus* y se midió la reducción significativa en el potencial mutagénico de esta aflatoxina mediante una prueba de Ames convencional (Suzuki, 2002). Estos informes aislados de la capacidad de las SSO para inactivar toxinas microbianas indican la eficacia no solo para matar microorganismos completos, sino también para desactivar o degradar factores de virulencia.

## 4.6 Citotoxicidad

Evaluar la citotoxicidad de las SSO es relevante, pues las especies reactivas de oxígeno y cloro posiblemente pueden inducir el envejecimiento y disfunciones celulares irreversibles que eventualmente producen la muerte celular. En general, se busca que los agentes utilizados para la desinfección y antisepsia no sean peligrosos, ni tóxicos para los tejidos vivos, según su aplicación particular y las concentraciones en uso. Por ello, vale la pena mencionar que existe una gran cantidad de evidencia científica que indica la seguridad y la no toxicidad de las SSO. Ejemplo de ello, se tiene en estudios de toxicidad oral en dosis única y dosis repetidas de 28 días de SSO en ratas, donde se careció de evidencia de efectos adversos, y los ratones que tuvieron acceso libre a SSO como agua potable durante 8 semanas no mostraron efectos secundarios tóxicos (Morita, 2011). Además, no se ha observado toxicidad aguda al utilizar concentraciones en uso, (DL 50) al aplicarlos en mucosas, en ensayos de irritación por acumulación, o en ensayos de sensibilización, lo que indica la biocompatibilidad de las SSO que a menudo se ha determinado a niveles de exposición relativamente altos, en comparación con aquellos bajos previstos, que se utilizan en la situación clínica real.

Por otro lado, se ha evaluado la toxicidad en ratas a las que se les administró por vía intraperitoneal NEW en dosis única y múltiple (día 1, 3 y 5), donde todas las ratas tratadas sobrevivieron después de la administración. Además, los exámenes macroscópicos y microscópicos no revelaron hallazgos patológicos, ni de toxicidad en la cavidad peritoneal e hígado, ni signos de complicaciones (Aras, 2017). Un estudio similar del mismo autor evaluó el efecto de NEW en el útero y el ovario

cuando se administró mediante infusión intraperitoneal en un modelo de rata, donde todos los animales se mantuvieron saludables después de una semana de seguimiento. Asimismo, los exámenes macroscópicos y microscópicos de los grupos tratados con NEW (dosis única y múltiple de NEW) no mostraron diferencias significativas en comparación con el grupo control (solución salina). El examen microscópico mostro estructuras glandulares en el útero y folículos funcionales en diferentes etapas de maduración en el ovario, lo que demuestra que la infusión intraperitoneal de NEW no produce toxicidad, ni complicaciones en estos tejidos (Aras, 2017). Un estudio específico de las NEW, demostró que no degrada los ácidos nucleicos, ni induce daño oxidativo en fibroblastos dérmicos *in vitro*. Este estudio llevó a los autores a concluir que la NEW no se dirigía a los núcleos celulares, producía solo daño limitado a las membranas celulares, ni inducía la oxidación del ADN, tampoco aceleraba el envejecimiento (Martínez, 2007).

Vale la pena mencionar, un estudio en el que se evaluó la eficacia de las NEW para la esterilización de piel de cerdo para injerto, en el que se demostró que las NEW no cambian las propiedades histológicas del injerto de piel, ya que todos los tejidos tenían organización de colágeno, uniones epidérmicas y arquitectura epidérmica normales; mientras que en la prueba de citotoxicidad, se utilizaron fibroblastos humanos en donde la piel de cerdo esterilizada por NEW, en ningún momento produjo citotoxicidad, resultado que corrobora el estudio de Iwasawa y Nakamura (2003), quienes evaluaron este parámetro con diferentes antisépticos y encontraron efectos tóxicos al utilizar solución de iodopovidona al 0,1% y al 0,01%, clorhexidina

al 0,0002 y al 0,0004%, y cloruro de benzalconio al 0,1 y a 10 µg/mL, pero en ningún momento sucedió con las SSO (Ge, 2012).

Asimismo, los estudios de mutagenicidad *in vitro* no han podido demostrar ninguna evidencia de genotoxicidad inducida por SSO, utilizando la prueba de Ames o la prueba de micronúcleo de genotoxicidad (Thorn, 2012), lo que indica que su uso es seguro.

También vale la pena señalar que las SSO, no presentan ningún peligro para el medio ambiente, ya que se convierte lentamente en agua salada durante el período de relajación química y es efectivamente inactivado por la materia orgánica cuando está presente en cantidades mínimas (Thorn, 2012).

#### 4.7 Efecto antiinflamatorio

Es importante mencionar que el HOCl tiene efectos antiinflamatorios a concentración dependientes, por lo que en las SSO no son tan notorios; no obstante, vale la pena tenerlo en cuenta. De ellos, se destaca la capacidad de oxidar el aminoácido taurina, e inducir la formación de cloro-aurina, la cual tiene efecto protector importante sobre los tejidos, ya que puede inhibir la producción de mediadores inflamatorios como el anión superóxido, el óxido nítrico, las interleucinas y las prostaglandinas en las células inflamatorias del tejido afectado.

Asimismo, puede inhibir las vías de señalización vinculadas con la expresión y translocación de factores de transcripción por oxidación, como el factor nuclear kb, el cual es un importante transductor de señales, responsable de la transcripción genética de muchos mediadores de la inflamación, como IL-1a, IL-1b, IL2, IL-6,

TNF- $\delta$ , NO, prostaglandina E2, TGF- $\beta$  y moléculas de adhesión; así como inhibidores de apoptosis (Lafaurie *et al.*, 2015).

#### 4.8 Uso como antiséptico y efectos sobre cicatrización

Como ya se mencionó, con el fin de prevenir y tratar infecciones cutáneas localizadas en la clínica, se ha fomentado el uso de antisépticos debido a la aparición de resistencias bacterianas a los antibióticos. Los antisépticos se aplican clínicamente por vía tópica sobre la piel para prevenir infecciones debido a su capacidad para reducir los microorganismos (Roberts, *et al.* 2017). Se recomienda aplicar antisépticos a bajas concentraciones ya que, según estudios previos, al ser elevadas pueden dañar el tejido tratado y afectar la viabilidad celular, además de la capacidad de migración de fibroblastos y queratinocitos, lo que es posible que retrase el proceso de cicatrización. A pesar de su uso clínico para la cicatrización de heridas, los antisépticos y los antibióticos pueden afectar la viabilidad de las células de la piel.

Teniendo esto en cuenta, se ha demostrado que las SSO ayudan en el proceso de cicatrización, además de mantener la viabilidad de las células de la piel, esto comparado con la mayoría de los antisépticos de uso común (Ortega-Llamas *et al.* 2022). Ejemplo de ello, son la iodopovidona, el digluconato de clorhexidina y el etanol, los cuales han demostrado ser de los antisépticos más citotóxicos en las líneas celulares de la piel como los fibroblastos y queratinocitos, sobre todo en usos prolongados y dependientes de su concentración (Thomas *et al.* 2009); mientras que las SSO no afectan significativamente la viabilidad celular, de hecho, muestran

tendencia de recuperación de la población de fibroblastos (Ortega-Peña *et al.* 2017).

Si bien no se tiene bien definido el mecanismo por el cual las SSO favorecen los procesos de cicatrización, hay diversos estudios que han comprobado estos efectos You *et al.* (2017), estudiaron la respuesta inmunitaria, el estrés oxidativo y el progreso en el tamaño de heridas provocadas en ratones sin pelo, utilizando SSO, iodopovidona y alcohol; donde observaron que el grupo tratado con SSO mostraba el mayor porcentaje de reducción de la herida; además, las actividades antioxidantes como la glutatión peroxidasa, la catalasa y la mieloperoxidasa del grupo SOS superaron el total de especies reactivas del oxígeno en la piel, lo que favorece a la cicatrización limitando el estrés oxidativo y maximiza el efecto curativo. Es un hecho, que las SSO aumentaron la producción de calcio intracelular y promueve el empleo para la curación más rápida; el calcio se ha identificado como un posible regulador central en la cicatrización de heridas en la piel, al ayudar a la proliferación y diferenciación de los queratinocitos mediante la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, lo que promueve la cicatrización, a través de la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK) o directamente por los genes de transcripción; por otra parte, gracias al HOCl se aumenta la oxigenación (TcPO 2) en las heridas mientras rompe el *biofilm* que se llegue a formar. Asimismo, a bajas dosis de HOCl, se activa proformas de metaloproteinasas (MMP), colagenasas y gelatinasas, lo que acelera el proceso de degradación y formación de tejido conectivo. En conjunto, se demuestra que las SSO son eficaces para la cicatrización de heridas mediante la

modulación inmunitaria y equilibrio oxidante, lo que favorece mejor cicatrización y rápida comparada con el uso de agentes convencionales.

Si bien, algunos autores atribuyen estos efectos a la acción del HOCl, se ha demostrado que pueden ser factores independientes a la presencia de este; una posibilidad es que los radicales libres, generados en las SSO por el contacto con la herida, puedan ser responsables del efecto temprano sobre la cicatrización de la herida, evidencia que apoya el mecanismo de regulación entre oxidantes y antioxidantes; además hay que considerar que las especies reactivas de oxígeno afectan la síntesis y proliferación de ADN en los fibroblastos, por lo que un nivel bajo de estas estimula la síntesis de ADN y la división celular; mientras que un nivel alto inhibe la síntesis de ADN (la citotoxicidad inducida es proporcional al nivel de especies reactivas de oxígeno). Asimismo, en pequeñas cantidades, se demostró que las especies reactivas de oxígeno están involucradas en el mecanismo subyacente a la quimiotaxis de fibroblastos en sitios de lesión o inflamación (Figura 3) (Murrell, Francis y Bromley, 1990).

Finalmente, es importante mencionar que no se han visto diferencias significativas en la aceleración de la cicatrización de heridas entre AEW y NEW (Yahagi, 2000).

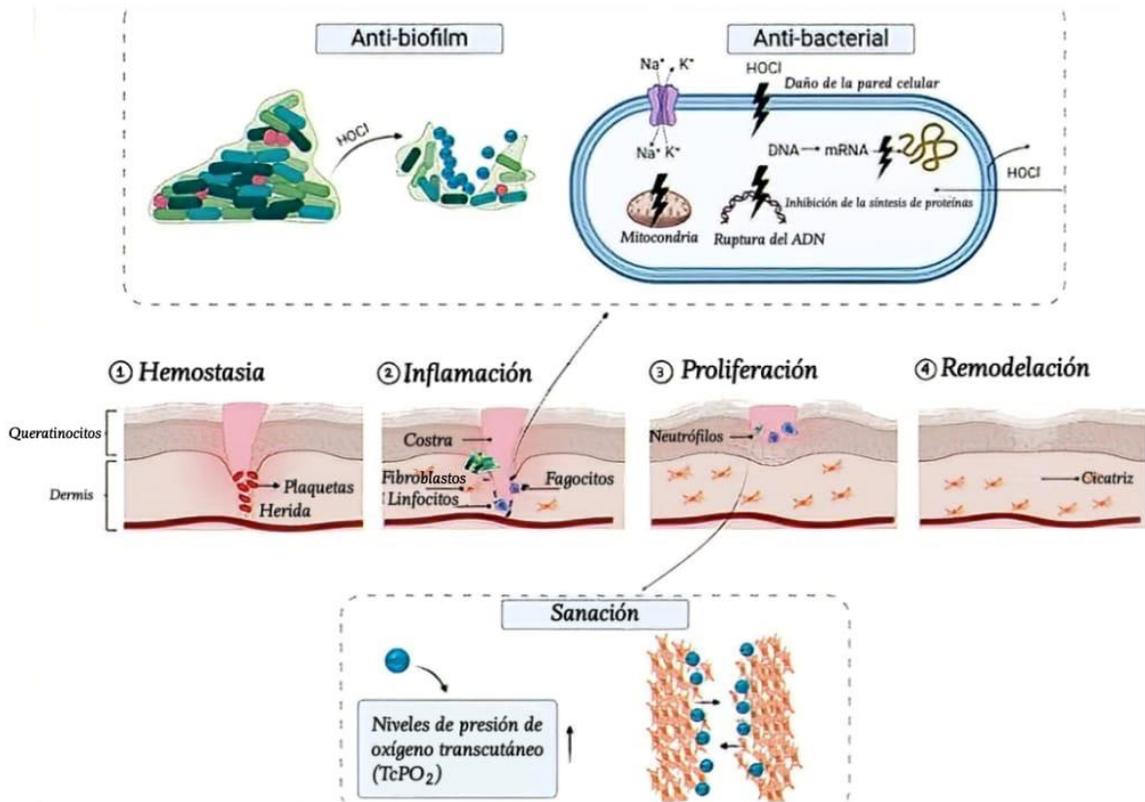


Figura 3. Efecto de las soluciones de superoxidación sobre la cicatrización (Modificado de Yan, Daliri, Oh, 2021).

#### 4.9 Efecto analgésico y hemostático

No existen publicaciones formales relacionadas con las propiedades analgésicas y hemostáticas de las SSO, por lo que se carece del mecanismo fisiológico mediante el cual se atribuyen estos efectos; no obstante, se ha comprobado en estudios en los cuales se utilizan las NEW como antiséptico bucal, ya sean solas o en combinación con otras sustancias, como el clorhidrato de bencidamina, donde la disminución del dolor es de 90 hasta 100%, por ejemplo, en pacientes con exposición o necrosis ósea; por otro lado, en un estudio realizado en ratas a las cuales se les indujo una herida quirúrgica, se demostró la actividad analgésica de

la NEW (mediante la prueba de formalina), la cual es comparable e incluso ligeramente superior al Ketorolaco; algunos autores atribuyen este efecto al mecanismo de bloqueo de la transmisión de la señal dolorosa por inhibición en la síntesis de prostaglandinas.

Asimismo, se ha demostrado un efecto hemostático hasta seis veces más rápido que sin su uso, esto aplicado de forma transquirúrgica, y es atribuido a un efecto sobre la fase plasmática y plaquetaria (Millán, 2023).

## **5. Uso de NEW para el manejo de heridas**

### **5.1 Uso de NEW para el manejo de heridas agudas**

Considerando que un antiséptico como las NEW pueden reducir la carga biológica bacteriana de la herida sin afectar la capacidad de cicatrización, su uso para el manejo de heridas agudas es indispensable.

Vale la pena recordar que la cicatrización de heridas es un proceso complejo que incluye múltiples etapas, mencionadas anteriormente, por lo que la resolución oportuna de cada etapa es fundamental para promover la cicatrización y evitar la formación excesiva de cicatrices. Actualmente, los tratamientos para el adecuado manejo de heridas se centran en la optimización de factores controlables, incluida la eliminación de infecciones, la protección mecánica y el apoyo nutricional. El cuidado de las heridas también debe minimizar las cicatrices y la inflamación.

Recientemente, las SSO, principalmente las NEW, se han utilizado como parte de las terapias de proliferación celular, antisepsia y anti *biofilm*. En diversos estudios

se han comprobado sus efectos reduciendo cargas bacterianas de heridas y mejorando al menos en un 75% la reducción de lesiones (Yan, Daliri y Oh, 2021).

Al tener lo anterior en consideración, su uso es valioso en el manejo de heridas limpias, contaminadas e infectadas, como solución de lavado para favorecer el desbridamiento, la formación de tejido de granulación y la reepitelización.

## 5.2 Uso de NEW en heridas crónicas

El uso de estas soluciones para el manejo de heridas crónicas se ha referido en humano, en casos de: úlceras de pie diabético, úlceras venosas de las piernas y quemaduras; en donde se evidencio que su uso acelera la curación de heridas profundas debido al efecto positivo en la aparición de tejido de granulación y reepitelización que se asocia directamente con la disminución en el tiempo de curación y en las tasas de infección, disminuye la tasa de hospitalización, y presenta efecto adyuvante en hemostasia y analgesia (Eftekharizadeh *et al.*, 2016).

Vale la pena mencionar que, gracias a su amplio espectro antimicrobiano, se eliminan la diversidad de bacterias, virus, hongos y esporas presentes comúnmente en las heridas crónicas. Por otra parte, se considera que la formación de *biofilms* provoca infecciones prolongadas de las heridas debido a su estructura, la regulación genética diferencial para combatir el estrés y la producción de sustancias poliméricas extracelulares; destaca la capacidad de las NEW para eliminarlos (Yan, Daliri y Oh, 2021).

### 5.2.1 Ejemplo de uso de NEW en herida crónica

Si bien se tienen descritos los efectos positivos de las NEW en las heridas crónicas, no se tiene estandarizada la metodología para su uso, debido principalmente a falta de estudios en la que se comparen metodologías de aplicación, o comparación con otros antisépticos.

No obstante, Sandoval-Cuevas *et al.* (2023), describieron el caso de un paciente con herida por loxoscelismo cutáneo en el tobillo izquierdo, el cual recibió tratamiento convencional de antibióticos, antiinflamatorios, antihistamínicos y analgésicos y fue dado de alta. Sin embargo, la lesión evolucionó por un periodo de tres meses y fue tratada de manera casera con remedios tradicionales; esta se extendió 360° y presentaba exudado al momento en que decidió regresar al hospital.

A la revisión, la herida presento abundante esfacelo, fibrina, tejido de granulación exuberante, bordes hiperqueratosos, *biofilm* y exudado. Se comenzó el abordaje de la herida crónica, y debido a que la terapia convencional no logro adecuada evolución clínica, se opto por el uso de la NEW (0.002%) para tratar la herida y la infección de manera local. En primer lugar, se realizo el lavado con la solución NEW, y se continuó con el desbride quirúrgico en capa retirando el esfacelo y tejido de granulación en mal estado; posteriormente se aplicó una capa de gel NEW sobre el lecho de la herida y se colocó un apósito hidrocoloide, con el fin de favorecer el desbride autolítico.

El manejo continuó con lavados con alto volumen de solución NEW, aplicación de gel NEW junto a gasas envaselinadas para mantener la humedad en el lecho de la

herida; tres veces al día, durante tres días, al terminó de los cuales se comenzó a observar clara disminución de la cantidad de fibrina, esfacelo e hiperqueratosis; así como del *biofilm* en el lecho de la herida. Con base en estos resultados positivos sobre la infección, se decidió no incluir antibioterapia en el esquema de tratamiento y se continuo con el régimen de lavados con la solución NEW y aplicación de gel NEW cada 48 horas.

Siete días postratamiento, el paciente refirió una disminución considerable del dolor y en la herida se observó tejido de granulación con bordes que iniciaban su avance; así como exudado moderado; los restos de fibrina y tejido desvitalizado aún presentes se removieron de manera atraumática. Al día 25, el paciente ya no manifestó dolor y en el lecho de la herida había abundante tejido de granulación y contracción, un exudado seroso y escasa fibrina.

Se prosiguió con el esquema de tratamiento, cada 48 horas, con lo que se logró la contracción del lecho de la herida y su reepitelización a 45 días después de iniciar el tratamiento con la solución y gel NEW. En esta fase se decidió continuar con el manejo cada 72 horas y utilizar como coadyuvante en la proliferación de la epidermis la aplicación tópica de *Triticum vulgare* 15g / Fenoxietanol 1g cada 24 horas; y con este esquema, 22 días después se logró el cierre total de la herida sin más complicaciones y sin necesidad de antibióticos sistémicos ni procedimientos quirúrgicos.

## 6. Análisis de la información

De acuerdo con la literatura revisada, poder observar que los antisépticos desempeñan un papel fundamental en el manejo de heridas, ya que se utilizan tanto de manera preventiva como terapéutica para crear un entorno propicio que favorezca el proceso de cicatrización. A lo largo del tiempo, se han desarrollado diversos antisépticos; sin embargo, la mayoría de ellos han demostrado tener efectos citotóxicos, retrasar la respuesta inflamatoria natural del huésped y aumentar la incidencia de infecciones; por esta razón, actualmente se han reemplazado por antisépticos como la OCT, PHMB y el HOCl, que carecen o presentan en menor medida estos efectos negativos.

Es relevante considerar que existen pocos estudios comparativos que evalúen la efectividad de estos antisépticos en heridas y condiciones similares. Por lo tanto, es necesario llevar a cabo estas investigaciones para poder comparar sus efectos en diferentes condiciones, y así establecer guías claras para su uso en diferentes casos clínicos.

Las soluciones a base de HOCl, denominadas SSO/EW/SSE, se han utilizado históricamente como desinfectantes en instituciones médicas y para la potabilización de agua en la industria agrícola y ganadera. Posteriormente se utilizaron como alternativa en el campo de la asepsia, desafortunadamente, los primeros tipos de SSO (AEW y BEW) resultaron muy corrosivas, con elevada toxicidad e inestables. Actualmente, gracias al avance tecnológico se han desarrollado nuevas SSO (SAEW y NEW) que reducen estos efectos negativos, y se pueden considerar como alternativas para uso medicinal y terapéutico.

Estas soluciones se clasifican de acuerdo con su pH, ACC, ORP y componentes generados durante el proceso electrolítico, en AEW, SAEW, BEW y NEW. De ellas, podemos destacar las NEW, que, gracias a su pH neutro, cumplen con la mayoría de las características del antiséptico ideal.

Existen diversas teorías sobre su mecanismo de acción pues aún no se tiene bien esclarecido, algunas de ellas sugieren que la sinergia entre el pH, el alto ORP y la ACC son la razón principal de su actividad. Tienen un efecto microbicida significativo contra bacterias, hongos y virus en 5 minutos y contra esporas en 10 minutos; además han demostrado eliminación efectiva de *biofilm* maduro de *E. coli* y *P. aeruginosa*, aunque solo en pruebas *in vitro*.

Asimismo, se ha evidenciado un efecto antitoxinas, estudiado mediante la SEA, clásicamente termoestable y resistente al tratamiento con ácidos y álcalis fuertes; sin embargo, registro inactivación significativa con las SSO.

Es importante resaltar que las NEW no tienen efectos citotóxicos, por lo que no afecta a los fibroblastos, ni retrasa el proceso de cicatrización, por el contrario, se ha observado que tienen efecto antiinflamatorio, de modulación inmunitaria y favorece el equilibrio oxidante, lo que promueve una mejor y más rápida cicatrización comparada con el uso de antisépticos históricos como la iodopovidona.

Si bien, no se tienen publicaciones formales al respecto, se menciona que también pueden tener un efecto analgésico comparable e incluso ligeramente superior al ketorolako; y un efecto hemostático hasta seis veces más rápido que sin su uso.

La literatura sobre su uso específico en el manejo de heridas tanto en medicina humana, como en veterinaria, específicamente en perros, es escasa; lo que contrasta con su amplia distribución y aplicación.

Considerando la información recabada, podemos evidenciar la falta de información que esclarezca el mecanismo de acción de las SSO sobre los diferentes microorganismos; además de estudios que comprueben de forma práctica algunos de sus efectos como su actividad contra *biofilm* y toxinas, para poder establecer una metodología de aplicación efectiva en diversas situaciones. Además, es fundamental considerar la literatura limitada acerca de su aplicación en distintos tipos de heridas, así como de la diversidad de posibles usos. Esto es relevante para fortalecer las bases científicas que sustenten su utilización.

## REFERENCIAS

Aisa, J. and Parlier, M. (2022) 'Local wound management: A review of modern techniques and products', *Veterinary Dermatology*, 33(5), pp. 463–478. doi:10.1111/vde.13104.

Al-Holy, M. A. y Rasco, B. A. (2015) "The bactericidal activity of acidic electrolyzed oxidizing water against *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* on raw fish, chicken and beef surfaces", *Food control*, 54, pp. 317–321. doi: 10.1016/j.foodcont.2015.02.017.

Ampiauw, R. E., Yaqub, M. y Lee, W. (2021) "Electrolyzed water as a disinfectant: A systematic review of factors affecting the production and efficiency of hypochlorous acid", *Journal of water process engineering*, 43(102228), p. 102228. doi: 10.1016/j.jwpe.2021.102228.

Aras, A., Karaman, E., Çim, N., *et al.* (2017) "The effect of super-oxidized water on the tissues of uterus and ovary: An experimental rat study," *Eastern journal of medicine: EJM*, 22(1), pp. 15–19. doi: 10.5505/ejm.2017.42714.

Aras, A., Karaman, E., Yıldırım, S., *et al.* (2017) "Intraperitoneal infusion of neutral-pH Superoxidized solution in rats: Evaluation of toxicity and complications on peritoneal surface and liver," *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 23, pp. 960–965. doi: 10.12659/msm.899453.

Babalska, Z.Ł., Korbecka-Paczkowska, M. and Karpiński, T.M. (2021) 'Wound antiseptics and European guidelines for antiseptic application in wound treatment', *Pharmaceuticals*, 14(12), p. 1253. doi:10.3390/ph14121253.

Balsa, I. M. and Culp, W. T. N. (2015) "Wound care," *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 45(5), pp. 1049–1065. doi: 10.1016/j.cvsm.2015.04.009.

Bergstrom, B. E. *et al.* (2018) "Antibacterial activity and safety of commercial veterinary cationic steroid antibiotics and neutral superoxidized water," *PloS one*, 13(3), p. e0193217. doi: 10.1371/journal.pone.0193217.

Castellanos I. *et al.* (2005) Estructura histológica normal de la piel del perro. *Rev Med Vet.* 1(10) pp. 109-122 Disponible en: <https://www.studocu.com/es-mx/document/escuela-superior-de-medicina-veterinaria-y-zootecnia-ac/medicina-y-zootecnia-acuicola/estructura-histologica-normal-de-la-piel-del-perro-estado-del-ar/35061991> (Consultado el: 22 de junio de 2023).

Chen, B.-K. y Wang, C.-K. (2022) "Electrolyzed water and its pharmacological activities: A mini-review", *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(4), p. 1222. doi: 10.3390/molecules27041222.

Daeschlein, G. (2013) 'Antimicrobial and antiseptic strategies in Wound Management', *International Wound Journal*, 10(s1), pp. 9–14. doi:10.1111/iwj.12175.

D'Atanasio, N. *et al.* (2015) "A new acid-oxidizing solution: Assessment of its role on methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) biofilm morphological changes," *Wounds: a compendium of clinical research and practice*, 27(10), pp. 265–273.

Ding, T. *et al.* (2016) "Disinfection efficacy and mechanism of slightly acidic electrolyzed water on Staphylococcus aureus in pure culture", *Food control*, 60, pp. 505–510. doi: 10.1016/j.foodcont.2015.08.037.

Du, S. *et al.* (2016) "Acidic electrolyzed water as a novel transmitting medium for high hydrostatic pressure reduction of bacterial loads on shelled fresh shrimp", *Frontiers in microbiology*, 7, p. 305. doi: 10.3389/fmicb.2016.00305.

Durán, H. C. (2010) "Soluciones de superoxidación y su evolución tecnológica", *Revista Dol Foro Nal Invest Clín Méd*, 7(3) pp. 4-8 Disponible en: <https://www.imbiomed.com.mx/articulo.php?id=67140> (Consultado el: 25 de mayo de 2023)

Elizabeth, M. *et al.* (2013) *Evaluación comparativa de la capacidad antimicrobiana de una solución electrolizada de superoxidación con pH neutro y una solución a base de peróxido de hidrógeno*, *Revista ADM*. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2013/od134e.pdf> (Consultado: el 23 de abril de 2023).

Eftekhari-zadeh, F. *et al.* (2016) "Health technology assessment on super oxidized water for treatment of chronic wounds," *Medical journal of the Islamic Republic of Iran*, 30, p. 384.

Fossum, T. W. *et al.* (2018) *Small Animal Surgery*. 5th ed. St. Louis, MO: Mosby.

Ge, L. *et al.* (2012) "Feasibility study of the sterilization of pigskin used as wound dressings by neutral electrolyzed water", *The journal of trauma and acute care surgery*, 72(6), pp. 1584–1587. doi: 10.1097/TA.0b013e318243a1dc.

González, L.L. *et al.* (2014) 'Introducción a Los Antisépticos', *Atención Primaria*, 46, pp. 1–9. doi:10.1016/s0212-6567(14)70055-1.

Gnatko, E. N. *et al.* (2011) "Emergence of the science and technology of electroactivated aqueous solutions: Applications for environmental and food safety," in *Environmental Security and Ecoterrorism*. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 101–116.

Hernández-Pimentel, V. M. *et al.* (2020) “Effect of neutral electrolyzed water as antimicrobial intervention treatment of chicken meat and on trihalomethanes formation”, *The Journal of applied poultry research*, 29(3), pp. 622–635. doi: 10.1016/j.japr.2020.04.001.

Hricova, D., Stephan, R. and Zweifel, C. (2008) “Electrolyzed water and its application in the food industry,” *Journal of food protection*, 71(9), pp. 1934–1947. doi: 10.4315/0362-028x-71.9.1934.

Ignatov, I. *et al.* (2015) “Preparación de soluciones de agua activadas electroquímicamente (catolito/anolito) y estudio de sus propiedades físico-químicas”, *Journal of Health, Medicine and Nursing*, 13(0), pp. 64–78. Disponible en: <https://iiste.org/Journals/index.php/JHMN/article/view/22411> (Consultado: 26 de mayo de 2023).

Iram, A., Wang, X. y Demirci, A. (2021) “Electrolyzed oxidizing water and its applications as sanitation and cleaning agent”, *Food engineering reviews*, 13(2), pp. 411–427. doi: 10.1007/s12393-021-09278-9.

Iwasawa A. and Nakamura Y. (2003) “Cytotoxic effect of antiseptics: comparison In vitro. In vivo examination of strong acidic electrolyzed water, povidone-iodine, chlorhexidine and benzalkonium chloride,” *Kansenshogaku zasshi. The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases*, 77(5), pp. 316–322. doi: 10.11150/kansenshogakuzasshi1970.77.316.

Jimenez-Gonzalez, H. A. *et al.* (2021) “Antimicrobial effect of calcium hydroxide combined with electrolyzed superoxidized solution at neutral pH on *Enterococcus faecalis* growth,” *BioMed research international*, 2021, p. 6960143. doi: 10.1155/2021/6960143.

Kordestani, S. S. (2019) “Wound Classification,” in *Atlas of Wound Healing*. Elsevier, pp. 49–50.

Kubota, A. *et al.* (2009) «Effect of electrolyzed strong acid water on peritoneal irrigation of experimental perforated peritonitis», *Surgery Today*, 39(6), pp. 514-517. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00595-008-3914-4>.

Kumon, K. (1997) “What is functional water?,” *Artificial organs*, 21(1), pp. 2–4. doi: 10.1111/j.1525-1594.1997.tb00688.x.

Lafaurie, G. I. *et al.* (2015) “Ácido Hipocloroso: una Nueva Alternativa como Agente Antimicrobiano y para la Proliferación Celular para Uso en Odontología,” *International journal of odontostomatology*, 9(3), pp. 475–481. doi: 10.4067/s0718-381x2015000300019.

Leaper, D.J. *et al.* (2012) 'Extending the time concept: What have we learned in the past 10 years?\*', *International Wound Journal*, 9, pp. 1–19. doi:10.1111/j.1742-481x.2012.01097.x.

Lucio-Sauceda, D. G. *et al.* (2019) "Antimicrobial and anti-biofilm effect of an electrolyzed superoxidized solution at neutral-pH against *Helicobacter pylori*", *BioMed research international*, 2019, p. 6154867. doi: 10.1155/2019/6154867.

Lin, H.-M., Hung, Y.-C. y Deng, S.-G. (2020) "Effect of partial replacement of polyphosphate with alkaline electrolyzed water (AEW) on the quality of catfish filets", *Food control*, 112(107117), p. 107117. doi: 10.1016/j.foodcont.2020.107117.

Liu, D. y Lv, R. (2019) «Safety Evaluation of Electrolyzed Water», en Springer eBooks. Springer Nature, pp. 261-267. Disponible en: [https://doi.org/10.1007/978-981-13-3807-6\\_11](https://doi.org/10.1007/978-981-13-3807-6_11).

Lopez-Ojeda, W. *et al.* (2022) *Anatomy, skin (integument)*. StatPearls Publishing. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441980/> (Consultado: Junio 22, 2023).

Lux, C. N. (2022) "Wound healing in animals: a review of physiology and clinical evaluation," *Veterinary dermatology*, 33(1), pp. 91-e27. doi: 10.1111/vde.13032.

Marais, J. T. and Brözel, V. S. (1999) "Electro-chemically activated water in dental unit water line," *British dental journal*, 187(3), pp. 154–158. doi: 10.1038/sj.bdj.4800228.

Martínez-De Jesús, F. R. *et al.* (2007) "Efficacy and safety of neutral pH superoxidised solution in severe diabetic foot infections," *International wound journal*, 4(4), pp. 353–362. doi: 10.1111/j.1742-481X.2007.00363.x.

McKnight, G., Shah, J. and Hargest, R. (2022) "Physiology of the skin," *Surgery*, 40(1), pp. 8–12. doi: 10.1016/j.mpsur.2021.11.005.

Millán, A. G. (2023) "Soluciones electrolizadas de superoxidación con pH neutro: un antiséptico eficaz" *Odontogenesis*. Disponible en: <https://www.odontogenesis.com.mx/soluciones-electrolizadas-de-superoxidacion-con-ph-neutro-un-antiseptico-eficaz/#:~:text=Las%20soluciones%20electrolizadas%20de%20superoxidaci%C3%B3n,funciones%20desinfectantes%2C%20esterilizantes%20y%20antis%C3%A9pticas>. (Consultado el: 6 de julio de 2023).

Miller, W. H., Griffin, C. E. and Campbell, K. L. (2013) *Muller and kirk's small animal dermatology*. 7th ed. Saunders.

Morita, C. *et al.* (2000) "Disinfection potential of electrolyzed solutions containing sodium chloride at low concentrations," *Journal of virological methods*, 85(1–2), pp. 163–174. doi: 10.1016/s0166-0934(99)00165-2.

Morita, C., Nishida, T. and Ito, K. (2011) "Biological toxicity of acid electrolyzed functional water: effect of oral administration on mouse digestive tract and changes in body weight," *Archives of oral biology*, 56(4), pp. 359–366. doi: 10.1016/j.archoralbio.2010.10.016.

Murrell, G. A., Francis, M. J. and Bromley, L. (1990) "Modulation of fibroblast proliferation by oxygen free radicals," *The Biochemical journal*, 265(3), pp. 659–665. doi: 10.1042/bj2650659.

Naldaiz-Gastesi, N. *et al.* (2018) "The panniculus carnosus muscle: an evolutionary enigma at the intersection of distinct research fields," *Journal of anatomy*, 233(3), pp. 275–288. doi: 10.1111/joa.12840.

Ohno, H., Higashidate, M. y Yokosuka, T. (2000) "Mediastinal irrigation with superoxidized water after open-heart surgery: the safety and pitfalls of cardiovascular surgical application", *Surgery today*, 30(11), pp. 1055–1056. doi: 10.1007/s005950070035.

Ortega-Llamas, L. *et al.* (2022) "Cytotoxicity and wound closure evaluation in skin cell lines after treatment with common antiseptics for clinical use," *Cells (Basel, Switzerland)*, 11(9), p. 1395. doi: 10.3390/cells11091395.

Ortega-Llamas, L., Quiñones-Vico, M. I., García-Valdivia, M., Fernández-González, A., Ubago-Rodríguez, A., Sanabria-de la Torre, R., & Arias-Santiago, S. (2022). Cytotoxicity and wound closure evaluation in skin cell lines after treatment with common antiseptics for clinical use. *Cells (Basel, Switzerland)*, 11(9), 1395. <https://doi.org/10.3390/cells11091395>

Ortega-Peña, S. *et al.* (2017) "In vitro microbicidal, anti-biofilm and cytotoxic effects of different commercial antiseptics: Antibiofilm effects of different commercial antiseptics," *International wound journal*, 14(3), pp. 470–479. doi: 10.1111/iwj.12625.

Pavletic, M. M. (2018) *Atlas of small animal wound management and reconstructive surgery*. 4th ed. Edited by M. M. Pavletic. Nashville, TN: John Wiley & Sons.

Roberts, C. D., Leaper, D. J., & Assadian, O. (2017). The role of topical antiseptic agents within antimicrobial stewardship strategies for prevention and treatment of surgical site and chronic open wound infection. *Advances in Wound Care*, 6(2), 63–71. <https://doi.org/10.1089/wound.2016.0701>

Sakashita, M., Iwasawa, A. and Nakamura, Y. (2002) "Antimicrobial effects and efficacy on habitually hand-washing of strong acidic electrolyzed water," *Kansenshogaku zasshi. The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases*, 76(5), pp. 373–377. doi: 10.11150/kansenshogakuzasshi1970.76.373.

Sandoval-Cuevas, B. *et al.* (2023) 'Tratamiento de una lesión primaria por loxoscelismo Cutáneo, complicada por infección, Con Solución electrolizada de Superoxidación Con ph neutro (SES). Informe de un Caso', *Revista de la Facultad de Medicina*, 66(2), pp. 20–28. doi:10.22201/fm.24484865e.2023.66.2.03.

Sauer, K. *et al.* (2009) "Neutral super-oxidised solutions are effective in killing *P. aeruginosa* biofilms," *Biofouling*, 25(1), pp. 45–54. doi:10.1080/08927010802441412.

Sekiya, S., Ohmori, K. y Harii, K. (1997) «Treatment of Infectious Skin Defects or Ulcers with Electrolyzed Strong Acid Aqueous Solution», *Artificial Organs*, 21(1), pp. 32-38. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1525-1594.1997.tb00696.x>.

Shimizu, Y., & Hurusawa, T. (1992). Antiviral, antibacterial, and antifungal actions of electrolyzed oxidizing water through electrolysis. *Dental J*, 37, pp. 1055-1062.

Stein, G. E. (2012) "Efectividad de la irrigación supra y subgingival con una solución electrolizada de superoxidación con pH neutro", *Odont act*, 8(108), pp. 50-54.

Stevenson, S. M. L. *et al.* (2004) "Effects of water source, dilution, storage, and bacterial and fecal loads on the efficacy of electrolyzed oxidizing water for the control of *Escherichia coli* O157:H7", *Journal of food protection*, 67(7), pp. 1377–1383. doi: 10.4315/0362-028x-67.7.1377.

Sun, J. *et al.* (2022) "Recent trends and applications of electrolyzed oxidizing water in fresh foodstuff preservation and safety control", *Food chemistry*, 369(130873), p. 130873. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130873.

Suzuki, T. *et al.* (2002) "Inactivation of staphylococcal enterotoxin-A with an electrolyzed anodic solution," *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(1), pp. 230–234. doi: 10.1021/jf010828k.

Suzuki, T., Noro, T., *et al.* (2002) "Decontamination of aflatoxin-forming fungus and elimination of aflatoxin mutagenicity with electrolyzed NaCl anode solution," *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(3), pp. 633–641. doi: 10.1021/jf0108361.

Tabernero de Paz, MJ., Bodas, R., Bartolomé, D., Posado, R., García, JJ., & S., Olmedo. (2013), "AGUA ELECTROLIZADA COMO HIGIENIZANTE EN PRODUCCIÓN ANIMAL: EFECTOS EN SANIDAD Y PRODUCTIVIDAD." *Archivos de Zootecnia*, vol. 62, núm. , pp.13-23 [Consultado: 11 de Julio de 2023]. ISSN: 0004-0592. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49558826002>

Tanaka, H. *et al.* (1996) "Antimicrobial activity of superoxidized water", *The journal of hospital infection*, 34(1), pp. 43–49. doi: 10.1016/s0195-6701(96)90124-3.

Thomas, G. W. *et al.* (2009) "Mechanisms of delayed wound healing by commonly used antiseptics," *The journal of trauma*, 66(1), pp. 82–90; discussion 90-1. doi: 10.1097/TA.0b013e31818b146d.

Thorn, R. M. S. *et al.* (2012) "Electrochemically activated solutions: evidence for antimicrobial efficacy and applications in healthcare environments," *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 31(5), pp. 641–653. doi: 10.1007/s10096-011-1369-9.

Tobias, K. M. and Johnston, S. A. (2011) *Veterinary surgery: Small animal: 2-Volume set*. London, England: W B Saunders.

Venczel, L. V. *et al.* (1997) "Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Clostridium perfringens* spores by a mixed-oxidant disinfectant and by free chlorine," *Applied and environmental microbiology*, 63(4), pp. 1598–1601. doi: 10.1128/aem.63.4.1598-1601.1997.

Velázquez, J. G. P. (2017) *Actualidades en el tratamiento médico - quirúrgico de heridas en perros y gatos: Estudio de revisión*. Universidad Nacional Autónoma de México.

Wang, F. *et al.* (2023) "Mechanisms of acidic electrolyzed water killing bacteria", *Food control*, 147(109609), p. 109609. doi: 10.1016/j.foodcont.2023.109609.

Waters, B. W. y Hung, Y.-C. (2014) "The effect of pH and chloride concentration on the stability and antimicrobial activity of chlorine-based sanitizers: PH and chloride effect on antimicrobial...", *Journal of food science*, 79(4), pp. M622-7. doi: 10.1111/1750-3841.12422.

Williamson, D.A., Carter, G.P. and Howden, B.P. (2017) 'Current and emerging topical antibacterials and antiseptics: Agents, action, and Resistance Patterns', *Clinical Microbiology Reviews*, 30(3), pp. 827–860. doi:10.1128/cmr.00112-16.

Yahagi, N. *et al.* (2000) "Effect of electrolyzed water on wound healing," *Artificial organs*, 24(12), pp. 984–987. doi: 10.1046/j.1525-1594.2000.06557-3.x.

Yan, P., Daliri, E. B.-M. and Oh, D.-H. (2021) "New clinical applications of electrolyzed water: A review," *Microorganisms*, 9(1), p. 136. doi: 10.3390/microorganisms9010136.

You, H. S. *et al.* (2017) "Wound healing effect of slightly acidic electrolyzed water on cutaneous wounds in hairless mice via immune-redox modulation," *Biological & pharmaceutical bulletin*, 40(9), pp. 1423–1431. doi: 10.1248/bpb.b17-00219.

Zan, R. *et al.* (2016) "Antibacterial efficacy of super-oxidized water on *Enterococcus faecalis* biofilms in root canal," *Jundishapur journal of microbiology*, 9(9), p. e30000. doi: 10.5812/jjm.30000.