



Innovazioni nelle lesioni difficili da guarire

Roberto Brambilla¹, Jennifer Hurlow², Stephan Landis³, Randall Wolcott⁴

Una misura pratica e predittiva consolidata di una completa guarigione della lesione nel lungo termine (24 settimane) è la variazione percentuale nella zona della lesione nelle prime 4 settimane^[1]. Tuttavia, alcune condizioni hanno la capacità di ritardare la guarigione e alcuni segni possono indicare che la guarigione è in fase di stallo: infezione, ischemia, o infiammazione anomala, con compromissione della risposta infiammatoria che spesso si autoalimenta^[2]. Le lesioni che non giungono a guarigione contengono componenti microbiche, biochimiche o cellulari che ritardano la progressione della lesione verso la guarigione^[3], spesso con un'implicazione della presenza di biofilm^[4].

L'IMPATTO DELLE LESIONI DIFFICILI DA GUARIRE

Con la prevalenza e l'incidenza delle lesioni in aumento a causa di diversi fattori quali l'invecchiamento della popolazione e le patologie concomitanti, tra cui il diabete^[5], si incorre in un elevato dispendio economico e umano (Tabella 1). Nelle lesioni di difficile guarigione, questo dispendio è aggravato: si verificano complicazioni, i pazienti diventano più dipendenti e i costi aumentano, tipicamente a causa della necessità di tempi di assistenza maggiori da parte degli operatori sanitari^[6].

Tabella 1 | Costo delle lesioni per il sistema sanitario, la società e il paziente

Categoria	Esempi
Economia^[5,6]	
Costi ospedalieri e altri costi dei servizi	Ricoveri ospedalieri e riammissioni, visite ambulatoriali
Cure specialistiche o trattamenti specialistici	per es. procedure chirurgiche, come l'amputazione
Tempo dedicato all'assistenza sanitaria	per es. per cambi di medicazione, visite per assistenza domiciliare, viaggi/spostamenti
Materiali, interventi, attrezzature specialistiche	Medicazioni, dispositivi, medicinali (per es., antibiotici), altri materiali monouso, ortopedia correttiva strumentale
Strumenti di valutazione	Diagnostic equipment, laboratory testin Attrezzature diagnostiche, test di laboratorio g
Spese vive sostenute dal paziente	Per es., costi di viaggio
Perdita di produttività	Tempo di lavoro perso del paziente o di chi se ne occupa
Qualità della vita correlata alla salute^[7]	
Benessere fisico	Dolore, mobilità e funzione insufficienti, scarsa nutrizione e ore di sonno ridotte
Benessere mentale	Depressione, ansia
Benessere psicosociale	Isolamento sociale, difficoltà con le interazioni sociali
Benessere spirituale/culturale	Difficoltà a ritrovare se stessi e gli altri, impatto delle sfumature culturali e dei valori personali sul benessere fisico, mentale e psicosociale

LA GUARIGIONE DELLE LESIONI È COMPLESSA E SFACCETTATA

Numerosi fattori possono influenzare il complesso processo di guarigione delle lesioni^[6], compresi i problemi legati al paziente (ossia, comorbidità e farmaci), la lesione stessa (ad esempio, dimensioni, durata, localizzazione), la fornitura di servizi clinici (ossia, la competenza del personale sanitario) o vari fattori biologici e fisiologici (Figura 1)^[2].

Recentemente, alcuni fattori hanno ottenuto un riconoscimento grazie alla loro notevole influenza sugli esiti. Il biofilm è presente nella maggior parte delle lesioni croniche (almeno nel 60%)^[9], è spesso un precursore di infezione manifesta con un'aumentata resistenza agli agenti antimicrobici, compresi gli antibiotici, nonché tendente a formarsi dove l'essudato non è sotto controllo^[10-12].

Il biofilm può compromettere la guarigione stimolando una risposta infiammatoria che porta a un'abbondanza di neutrofili e macrofagi (nel tentativo di rimuovere il biofilm), che secernono alti livelli di specie reattive all'ossigeno e di proteasi (ossia, metalloproteasi della matrice [MMP])^[4]. Numerosi

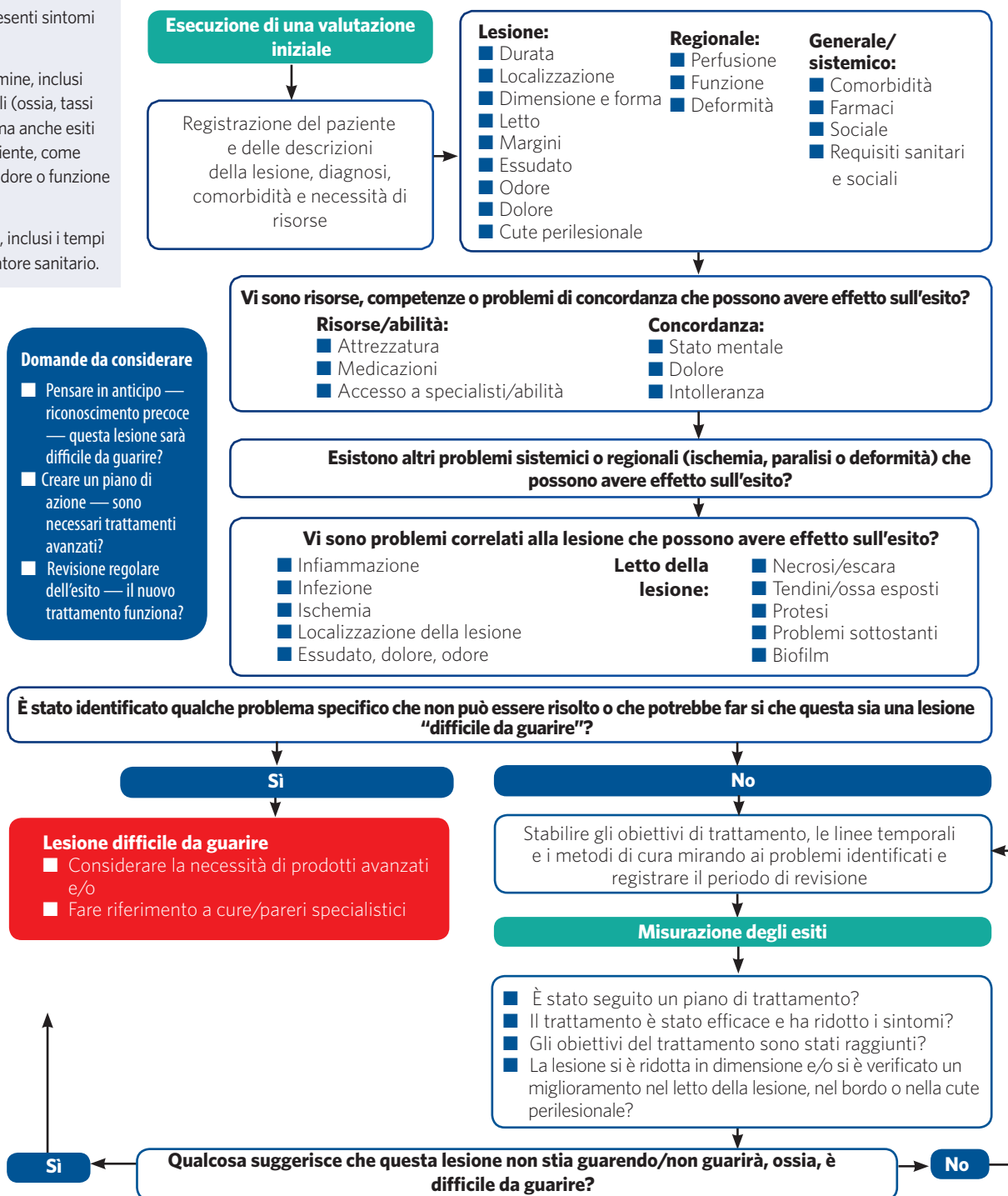
Riquadro 1: Avanzamenti nella cura

Modifiche alla diagnosi e al trattamento di lesioni di difficile guarigione, che utilizzano tecnologie avanzate^[8], potrebbero portare a miglioramenti in:

- qualità della vita del paziente
- controllo dei presenti sintomi quando
- esiti a lungo termine, inclusi quelli tradizionali (ossia, tassi di guarigione), ma anche esiti riportati dal paziente, come dolore, cattivo odore o funzione sociale
- costo della cura, inclusi i tempi ridotti dell'operatore sanitario.

studi hanno dimostrato che la presenza di biofilm promuove uno stato infiammatorio prolungato e ritardi nella guarigione delle lesioni^[13], e gli elementi di questa risposta possono effettivamente facilitare il suo sviluppo^[14]. Il biofilm fornisce protezione per i microrganismi contenuti e aumenta la produzione di essudato^[15], sostenendo l'inibizione del tessuto di granulazione e l'epitelizzazione.

Figura 1 | Esecuzione di una valutazione iniziale per il riconoscimento delle lesioni difficili da guarire. Adattato da Vowden, 2011^[2]



Riquadro 2: In che modo il biofilm protegge i microorganismi?

Il biofilm migliora la tolleranza dei microbi a fattori che potrebbero facilmente uccidere gli stessi microbi quando crescono in uno stato non protetto, compreso il sistema immunitario, antimicrobici e stress ambientali^[4].

La matrice del biofilm (o la sostanza polimerica extracellulare) forma una barriera fisica che impedisce la rimozione dei prodotti di scarto dai dintorni delle cellule microbiche^[38] creando regioni di rifiuti metabolici e bassa tensione di ossigeno, e impedendo che molecole grandi come gli anticorpi e le cellule infiammatorie penetrino in profondità nella matrice del biofilm^[4].

Questi nuclei anossici influenzano le cellule microbiche circostanti, fornendo effetti cooperativi e protettivi unici (come ad esempio la secrezione di enzimi protettivi che proteggono i microorganismi non resistenti agli antibiotici vicini), e rendendoli dormienti (metabolicamente quiescenti) e quindi più tolleranti agli antibiotici e ai biocidi^[39].

Infezione e biofilm

I microorganismi sono comunemente divisi in due fenotipi distinti: singole cellule (ossia, planctoniche) o aggregati sessili (ossia, la modalità di crescita del biofilm). La ricerca sulla patogenesi batterica si è già concentrata principalmente sulle infezioni acute — o planctoniche — che derivano da invasione di microorganismi, solitari, liberi di fluttuare, come ha fatto anche lo sviluppo di misure di prevenzione e controllo del trattamento. Tuttavia, una nuova categoria di infezione cronica causata da microorganismi che crescono come biofilm è diventata un punto focale sempre più importante nella cura delle lesioni^[16].

Le lesioni difficili da guarire sono spesso cronicamente infette, producendo un modello distinto di crescita associato con il biofilm^[17], che può essere da 500 a 5.000 volte più resistente agli antimicrobici^[18]. Le infezioni croniche basate su biofilm:

- Presentano una progressione più lenta delle infezioni acute
- Sono caratterizzate da una risposta infiammatoria adattativa
- Sono tipicamente estremamente resistenti agli antibiotici e a molte altre strategie antimicrobiche convenzionali
- Hanno una capacità innata di evadere le difese dell'ospite^[16].

Indipendentemente dal fenotipo, le cellule microbiche presentano molteplici meccanismi per attaccarsi agli epitopi specifici dell'ospite^[19-21]. In pochi minuti, possono essere espressi oltre 800 geni di biofilm^[20], che forniscono alle cellule microbiche la capacità genetica di comunicare e cooperare (quorum sensing)^[22-24], sviluppare una protezione (polimeri della matrice auto-secreta)^[25,26], e secernere molecole che impediscono le contromisure di immunità dell'ospite^[27-29] (Figura 2).

Figura 2 | Componenti molecolari, biochimiche e cellulari del biofilm^[17, 30-37]

A livello molecolare i biofilm richiedono:

- Collegamento
- Sviluppo rapido di una microcolonia
- Secrezione delle molecole per la produzione di cellule ospite senescenti (perdita della potenzialità delle cellule di dividersi e crescere)
- Iper-infiemmazione per produrre essudato plasmatico, raggiunta attraverso il rilascio di vesciche della membrana esterna, rilascio di cellule planctoniche, e sovvertimento dell'immunità dell'ospite

A livello biochimico e cellulare, i biofilm producono:

- Neutrofili in eccesso (ossia, lisozima, mieloperossidasi, catepsina G, ecc.)
- Citochine pro-infiammatorie elevate (IL-1, IL-8, gamma interferone, TNF- α)
- MMP elevate (MMP-2, MMP-8, MMP-9, elastase)

Essudato non controllato

L'essudato della lesione mal gestito può ostacolare la guarigione della lesione, come può rallentare o prevenire la proliferazione delle cellule, interferire con la disponibilità del fattore di crescita, o contenere alti livelli di proteasi e citochine pro-infiammatorie che degradano la matrice extracellulare dell'ospite^[40].

Inoltre il fluido della lesione cronica mette a dura prova l'integrità della cute intorno alla lesione - la cute perilesionale intatta ha dimostrato di avere una diminuzione di cinque volte della funzione di barriera semplicemente in virtù dell'infiammazione dei tessuti sottostanti^[41]. Inoltre, l'esposizione all'umidità prolungata porta alla macerazione^[42], che aumenta la probabilità di frizione e taglio. In combinazione con la diminuzione della funzione di barriera perilesionale, la macerazione aumenta il rischio di irritazione chimica da essudato infiammatorio e invasione batterica.

APPROCCI INNOVATIVI ALLE LESIONI DIFFICILI DA GUARIRE

Innovazione nella valutazione, nella diagnosi e nel trattamento

La chiave per mezzi diagnostici efficaci è l'efficienza con cui questi vengono utilizzati nella pratica. Sebbene le tecnologie disponibili nei centri di riferimento, come ad esempio un test che permetta ai professionisti di misurare un'attività della proteasi elevata^[43], possa offrire le migliori opportunità per il processo decisionale in tempo reale, queste devono ancora essere messe in pratica nella routine di cura quotidiana.

Il quadro TIME (Tissue, Infection/Inflammation, Moisture, Edge of wound [Tessuto, infezione/infiammazione, umidità, bordo della lesione]) è un metodo di valutazione e gestione consolidata, e rimane il

Riquadro 3: Il ruolo della mappatura microbica della lesione

Tecnologia di auto-fluorescenza palmare che 'mappa' la distribuzione microbica^[45]. Mappatura microbica della lesione che permette sbrigliamenti mirati per ridurre la carica microbica, misurazione della temperatura perilesionale e valutazione dei modelli di dolore che consentono la stratificazione affidabile dei pazienti a ricevere un trattamento antibiotico appropriato^[45,46]

- Termografia a raggi infrarossi forward-looking per rilevare il calore dovuto all'infiammazione^[47]
- Rilevamento colorimetrico dei marker infiammatori dell'ospite dell'infezione^[48]
- Medicazioni che rispondono ai mediatori delle infezioni batteriche^[49] o parametri della lesione come il pH^[50]

paradigma tipico della preparazione del letto della lesione nella pratica clinica^[44]. Fin dalla sua presentazione originale, si sono verificati notevoli sviluppi nella nostra comprensione della cura delle lesioni; in particolare, per quanto riguarda il continuum batterico attraverso contaminazione, colonizzazione e infezione, così come la presenza di biofilm. Il TIME rimane rilevante, ma vi è la necessità di garantire che questi sviluppi siano incorporati nelle valutazioni^[15].

Altri mezzi diagnostici sono in fase di sviluppo con il potenziale di colmare le lacune, fornendo ulteriori mezzi obiettivi per migliorare il percorso di guarigione.

Una strategia innovativa, avanzata, che mira alle barriere locali alla guarigione

La gestione della carica microbica è essenziale nella prevenzione di infezioni. Inoltre, anche se non è più probabile che le strategie umide di guarigione delle lesioni promuovano un'infezione rispetto alle strategie più vecchie di guarigione delle lesioni asciutte^[51], la combinazione di essudato raccolto associato con medicazioni completamente saturate^[9] e la natura corrosiva dell'essudato delle lesioni croniche possono essere legati allo sviluppo del biofilm e a una conseguente infezione.

Prima della scoperta che mantenere le lesioni in ambiente umide potrebbe migliorare la guarigione^[52], l'approccio tradizionale è stato quello di assorbire liquidi e lasciare la lesione ad asciugare. Con l'aumento della comprensione dell'ambiente ottimale di guarigione delle lesioni, sono state sviluppate le prime medicazioni con pellicola dotate della tecnologia del poliuretano^[53], seguite da alternative come alginati e idrocolloidi^[54], e più tardi, Hydrofiber™ Technology.

Come mostrato nella figura 3, dal momento in cui il primo Hydrofiber™ Technology è stato sviluppato 20 anni fa, sono stati sviluppati vari prodotti sulla base delle sue proprietà fisico-chimiche uniche.

Riquadro 4: Cos'è Hydrofiber™ Technology e come funziona?

■ Cos'è?

- Hydrofiber™ Technology è un materiale morbido e conformabile composto di carbossimetilcellulosa sodica pura, che può assorbire una grande quantità di essudato della lesione che viene trasformato in gel per creare un ambiente umido. Mentre Hydrofiber™ Technology non è né un idrocolloide né un alginato, incorpora i benefici di entrambi sopperendo alle debolezze, incluse formazione di gel coesivo e adesione aggressiva (come dimostrato in vitro)^[55]

■ Modo di azione

- Hydrofiber™ Technology permette una permeazione rapida dell'essudato e un rigonfiamento delle fibre, creando un gel che resiste al logorio all'interno delle fibre e previene il logorio tra le fibre, attraverso un intrappolamento grazie al gel (come dimostrato in vitro)^[56]. Questo gel garantisce un intimo contatto con il letto della lesione, riempiendo gli 'spazi vuoti' dove i batteri potrebbero proliferare. L'essudato in eccesso viene intrappolato, rinchiudendo le componenti pericolose come le proteinasi endogene e i microrganismi esogeni che si trovano nell'essudato della lesione e riducendo la trasmissione alla cute perilesionale^[57].

Figura 3 | L'evoluzione di Hydrofiber™ Technology nelle medicazioni AQUACEL™

Hydrofiber Technology	AQUACEL
Con argento ionico per un'azione antimicrobica	AQUACEL Ag
Con fibra rinforzante	AQUACEL WSF (Ribbon)
Combinata con tecnologia idrocolloidale	AQUACEL Surgical
Combinata con tecnologia idrocolloidale e argento ionico per un'azione antimicrobica nella ferita chirurgica	AQUACEL Ag Surgical
Con un extra resistenza, assorbenza e durata	AQUACEL Extra
Una medicazione in schiuma confortevole e semplice	AQUACEL Foam
Con un extra resistenza, assorbenza e durata, con argento ionico	AQUACEL Ag Extra
Una medicazione in schiuma confortevole e semplice con argento ionico	AQUACEL Ag Foam
Con argento ionico per un'azione antimicrobica nella cura delle ustioni	AQUACEL Ag Burn
Con Tecnologia Ag+ e componenti sinergiche anti-biofilm — acido etilendiamminotetraacetico e benzetonio cloruro — per agire sul biofilm, gestire l'essudato e ridurre il rischio di infezione	AQUACEL Ag+ Extra

La Tabella 2 offre una visione complessiva dell'evidenze cliniche in vitro, in vivo e nella vita reale per la recente aggiunta di Ag+ Technology a Hydrofiber™ Technology.

Tabella 2 Evidenze disponibile per la combinazione di Hydrofiber™ e Ag+ Technology	
Anno	
2014 ^[58-60]	<p>I dati in vitro hanno mostrato:</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Eradicazione del biofilm con una sola applicazione di medicazione — biofilm da <i>Pseudomonas aeruginosa</i> matura (4 giorni) e <i>Staphylococcus aureus</i> meticillina-resistente associato alla comunità (CA-MRSA) (5 giorni) ■ Conte batteriche significativamente ridotte ($p < 0,05$), e miglioramenti nel peso batterico/nella guarigione nelle lesioni polibatteriche ($p < 0,05$) ■ Capacità di prevenire la formazione recidiva (controllo del bioburden dopo un evento di contaminazione simulata) ■ L'effetto di Hydrofiber™ Technology è aumentato dall'argento ionico, e ulteriormente dalla Tecnologia Ag+, che aumenta la rimozione e distrugge la struttura del biofilm, potenziando l'efficacia antimicrobica dell'argento ionico ■ L'azione sinergica dell'acido etilendiamminotetraacetico e benzetonio cloruro distrugge il biofilm — con l'argento come battericida — per conferire efficacia <p>I dati in vivo hanno mostrato:</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Conte diminuite in maniera consistente di <i>P. aeruginosa</i>, e guarigione delle lesioni migliorata relativamente a veicolo inattivo e al controllo attivo delle lesioni ($p < 0,05$)
2015 ^[61,62]	<p>Le valutazioni cliniche nella vita reale hanno mostrato:</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Buoni tassi di chiusura delle lesioni, con indicazione di potenziale riduzione dei costi ■ Riduzione dei segni clinici di infezione e del sospetto di biofilm ■ Miglioramento del periodo di trattamento medio, accompagnato da alta soddisfazione del medico rispetto a efficacia e frequenza di cambio della medicazione
2016 ^[63-65]	<p>I dati in vivo hanno mostrato:</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ L'efficacia antimicrobica dell'argento ionico contro il biofilm è sostanzialmente migliorata dall'argento ionico con un agente chelante del metallo e un tensioattivo, che agiscono sinergicamente (Ag+ Technology) <p>Le valutazioni cliniche nella vita reale hanno mostrato:</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Notevoli miglioramenti nei tassi di guarigione, nelle condizioni dell'ulcera, nei livelli di dolore e nell'area della lesione, con un profilo di sicurezza accettabile ■ Le lesioni generalmente passano da stagnanti o peggiorate a migliorate, i livelli di essudato migliorano, e il tipo di tessuto si sposta da tessuto con molto biofilm a tessuto di granulazione in gran parte.

Riassunto

La guarigione delle lesioni normalmente si verifica in una sequenza prevedibile, tuttavia, in alcuni casi la guarigione è prolungata o si arresta. Il processo di guarigione è una complessa interazione che coinvolge fattori correlati al paziente e alla lesione, al trattamento utilizzato e alle competenze e alle conoscenze degli operatori sanitari. Un'attenta valutazione iniziale e la valutazione ripetuta della terapia sono necessarie per riconoscere e valutare i potenziali fattori relativi alla complessità della lesione. Negli ultimi anni, è stato osservato come alcuni fattori abbiano una notevole influenza sulla guarigione, inclusi l'infezione della lesione, il biofilm e l'essudato.

Per gli operatori sanitari, avviare strategie terapeutiche efficaci in modo tempestivo ed economico per ridurre la complessità della lesione, gestire i sintomi e le aspettative del paziente e, ove possibile, ottenere la guarigione, rimane una sfida. In effetti, la spinta verso la garanzia del finanziamento per terapie di wound care efficaci e convenienti continua a ritmo sostenuto.

Le strategie innovative per la diagnosi e il trattamento sono critiche. Apportare modifiche di approccio al mondo del wound care potrebbe portare a un migliore controllo dei sintomi e ad esiti a lungo termine, alla riduzione dei costi e ad una migliore qualità della vita del paziente. Gli interessanti sviluppi nel campo dei test diagnostici presso i centri di riferimento, che sono stati presentati sopra, hanno il potenziale di facilitare dei miglioramenti nella pratica e offrire un approccio più mirato ed efficace per la gestione delle lesioni. L'evoluzione di Hydrofiber™ Technology nelle medicazioni con l'aggiunta di Tecnologia Ag+ anti-biofilm presenta inoltre il caso di una tecnologia avanzata innovativa per lesioni difficili da guarire che combatte alcuni fattori che hanno una notevole influenza sulla guarigione: biofilm, essudato e rischio di infezione.

AUTORI

1. Professor Roberto Brambilla, Responsabile Centro di Vulnologia Istituti Clinici Zucchi, Monza, Italy
2. Jennifer Hurlow, certified wound specialised Nurse Practitioner and Board Director, Association Advancement of Wound Care
3. Stephan Landis MD, FRCP(C), Department Hospital Medicine, Ambulatory Wound Clinic Waterloo-Wellington CCAC Clinic, Guelph General Hospital, Guelph, Ontario, Canada
4. Randall Wolcott, MD, President, Professional Association and Research and Testing Lab of the South Plains, Texas, USA

* AQUACEL and Hydrofiber are trademarks of ConvaTec Inc. All other trademarks are property of their respective owners. This clinical report has been sponsored by ConvaTec



Bibliografia

1. Kantor J, Margolis DJ. A multicentre study of percentage change in venous leg ulcer area as a prognostic index of healing at 24 weeks. *Br J Dermatol* 2000; 142(5):960-4.
2. Vowden P. *Hard-to-heal wounds Made Easy*. Wounds International 2011; 2(4): Available from <http://www.woundsinternational.com>
3. Acosta JB, del Barco DG, Vera DC, Savigne W, Lopez-Saura P, Guillen Nieto G et al. The pro-inflammatory environment in recalcitrant diabetic foot wounds. *Int Wound J* 2008; 5(4):530-9.
4. Phillips PL, Wolcott RD, Fletcher J, Schultz GS. *Biofilms Made Easy*. Wounds International 2010; 1(3): Available from <http://www.woundsinternational.com>
5. International consensus. *Making the case for cost-effective wound management*. Wounds international 2013. Available to download from www.woundsinternational.com
6. Dowsett C. Breaking the cycle of hard-to-heal wounds: balancing cost and care. *Wounds Int* 2015; 6(2):17-21.
7. International consensus. *Optimising wellbeing in people living with a wound. An expert working group review*. London: Wounds International, 2012. Available from: www.woundsinternational.com
8. Evidence-Based Synthesis Programme (EBSP) (2010) *Advanced Wound Care Therapies for Non-Healing Diabetic, Venous, and Arterial Ulcers: A Systematic Review*. Available at: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/PMH0054957/pdf/PubMedHealth_PMH0054957.pdf (accessed on 15.03.16)
9. James G, Swogger E, Wolcott R, Pulcini E, Secor P, et al. Biofilms in chronic wounds. *Wound Repair Regen* 2008 Jan 1; 16:37-44.
10. Percival S, Bowler P, 2004. Biofilms and their potential role in wound healing. *WOUNDS - A Compendium of Clinical Research and Practice* 2004 Jul 1; 16: 234-40.
11. Burmølle M, Thomsen TR, Fazli M, et al. Biofilms in chronic infections — a matter of opportunity — monospecies biofilms in multispecies infections. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2010; 59:324-336.
12. Hurlow, J, Couch, K, Laforet, K, Bolton, L, Metcalf, D, Bowler, P, 2014. Clinical Biofilms: A Challenging Frontier in Wound Care. *Advances in wound care* 2015 May 1; 4:295-301.
13. Metcalf D, Bowler P. Biofilm delays wound healing: a review of the evidence. *Burns & Trauma* 2013; 1(1): 5-11.
14. Wolcott RD, Rhoads DD, Dowd SE. Biofilms and chronic wound inflammation. *J Wound Care* 2008; 17(8):333-41.
15. Leaper DJ, Schultz G, Carville K, Fletcher J, Swanson T and Drake R (2012). Extending the TIME concept: what have we learned in the past 10 years? *International Wound Journal* 9(Suppl 2): 1-19.
16. Bjarnsholt T (2013) The role of bacterial biofilms in chronic infections. *APMIS* 121 (Suppl 136): 1-51.
17. Lächli S, Swanson T, Serena T, Harding K. The use of a point-of-care test for bacterial protease activity in chronic wounds. *Wounds International* 2015; 6(4).
18. Watters C, Everett J, Haley C, Clinton A, Rumbaugh K. Insulin treatment modulates the host immune system to enhance *Pseudomonas aeruginosa* wound biofilms. *Infect Immun* 2014, 82(1):92-100.
19. Souza MC, dos Santos LS, Sousa LP, Faria YV, Ramos JN, Sabbadini PS, et al. Biofilm formation and fibrinogen and fibronectin binding activities by *Corynebacterium pseudophtheriticum* invasive strains. *Antonie van Leeuwenhoek*. 2015 Jun 1; 107(6):1387-99.
20. Sillanpaa J, Chang C, Singh KV, Montealegre MC, Nallapareddy SR, Harvey BR, et al. Contribution of individual Ebp Pilus subunits of *Enterococcus faecalis* OG1RF to pilus biogenesis, biofilm formation and urinary tract infection. *PLoS one* 2013; 8(7):e68813.
21. Chavakis T, Wiechmann K, Preissner KT, Herrmann M. *Staphylococcus aureus* interactions with the endothelium: the role of bacterial 'secretable expanded repertoire adhesive molecules' (SERAM) in disturbing host defense systems. *Thrombosis and haemostasis* 2005; 94(2):278-85.
22. Singh R, Ray P. Quorum sensing-mediated regulation of staphylococcal virulence and antibiotic resistance. *Future microbiology* 2014; 9(5):669-81.
23. Lavery G, Gorman SP, Gilmore BF. Biomolecular mechanisms of staphylococcal biofilm formation. *Future microbiology* 2013; 8(4):509-24.
24. Coggan KA, Wolfgang MC. Global regulatory pathways and cross-talk control *Pseudomonas aeruginosa* environmental lifestyle and virulence phenotype. *Current issues in molecular biology* 2012; 14(2):47-70.
25. Swanson T, Grothier L, Schultz G. *Wound Infection Made Easy*. Wounds International 2014. Available from: www.woundsinternational.com
26. Whitfield GB, Marmont LS, Howell PL. Enzymatic modifications of exopolysaccharides enhance bacterial persistence. *Front Microbiol* 2015; 6:471.
27. Moyat M, Velin D. Immune responses to infection. *WJG* 2014; 20(19):5583-93.
28. Durand E, Cambillau C, Cascales E, Journet L, Vgr G, Tae, Tle, and beyond: the versatile arsenal of Type VI secretion effectors. *Trends in microbiology* 2014; 22(9):498-507.
29. Raymond B, Young JC, Pallett M, Endres RG, Clements A, Frankel G. Subversion of trafficking, apoptosis, and innate immunity by type III secretion system effectors. *Trends in microbiology* 2013; 21(8):430-41.
30. Torres VJ, Stauff DL, Pishchany G, Bezbradica JS, Gordy LE, Iturregui J, et al. A *Staphylococcus aureus* regulatory system that responds to host heme and modulates virulence. *Cell host & microbe* 2007; 1(2):109-19.
31. Harrison-Balestra C, Cazzaniga AL, Davis SC, Mertz PM. A wound-isolated *Pseudomonas aeruginosa* grows a biofilm in vitro within 10 hours and is visualized by light microscopy. *Dermatologic surgery* 2003; 29(6):631-5.
32. Schooling SR, Beveridge TJ. Membrane vesicles: an overlooked component of the matrices of biofilms. *Journal of bacteriology* 2006; 188(16):5945-57.
33. Diegelmann RF. Excessive neutrophils characterize chronic pressure ulcers. *Wound Repair Regen* 2003; 11(6):490-5.
34. Trengove NJ, Stacey MC, MacAuley S, Bennett N, Gibson J, Burslem F, et al. Analysis of the acute and chronic wound environments: the role of proteases and their inhibitors. *Wound Repair Regen* 1999; 7(6):442-52.
35. Mori S, Pawankar R, Ozu C, Nonaka M, Yagi T, Okubo K. Expression and Roles of MMP-2, MMP-9, MMP-13, TIMP-1, and TIMP-2 in Allergic Nasal Mucosa. *Allergy Asthma Immunol Res* 2012; 4(4):231-9.
36. Nwomeh BC, Liang HX, Cohen IK, Yager DR. MMP-8 is the predominant collagenase in healing wounds and non-healing ulcers. *The Journal of surgical research* 1999; 81(2):189-95.
37. Purevdorj-Gage B, Costerton WJ, Stoodley P. Phenotypic differentiation and seeding dispersal in non-mucoid and mucoid *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Microbiology* 2005; 151(Pt 5):1569-76.
38. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* 2004; 2(2):95-108.
39. Sun Y, Smith E, Wolcott R, Dowd SE. Propagation of anaerobic bacteria within an aerobic multi-species chronic wound biofilm model. *J Wound Care* 2009; 18(10):426-31.
40. Romanelli M, Vowden K, Weir D. Exudate management Made Easy. *Wounds Int* 2010; 1(2): available from <http://www.woundsinternational.com>
41. Bishop SM, et al. Moisture Balance: Optimizing the wound-dressing interface. *J of Wound Care* 2003; 12(4).
42. Minematsu T, Yamamoto Y, Nagase T, Nakagami G, Sugama J, Sanada H. Changes in tissue structure and barrier function in macerated skin. *J Jpn WOCM* 2011; 15: 278-281
43. Young T (2012) Using a protease test to inform wound care treatment decisions. *Wounds UK* 8(4): 74-80.
44. Dowsett C, Newton H. Wound bed preparation: TIME in practice. *Wounds UK* 2005 Mar; 1(3):58.
45. DaCosta RS, Kulbatski I, Lindvere-Teene, D Starr, K Blackmore, J Silver, J Opoku, Y Wu, P Mededeiros, W Xu, L Xu, B Wilson, C Rosen, R Linden. Point-of-care autofluorescence imaging for real-time sampling and quantitative guidance of bioburden in chronic wounds: First-human results. *PLoS one* Mar 2015 19; 10(3):e0116623.
46. Wu YC, M Smith, A Chu, L Lindvere-Teene, D Starr, K Tapang, R Shekman, O Wong, R Linden, RS DaCosta. Handheld fluorescence imaging device detects subclinical wound infection in an asymptomatic patient with chronic diabetic foot ulcer: a case report. *Int Wound J* 2015 Apr 1.
47. Kanazawa T, Nakagami G, Goto T, Noguchi H, Oe M, Miyagaki T, Hayashi A, Sasaki S, Sanada H. Use of smartphone attached mobile thermography assessing subclinical inflammation: a pilot study. *J Wound Care* 2016; 25:177-82.
48. Tegl G, Schiffer D, Sigl E, Heinzle A, Guebitz GM. Biomarkers for infection: enzymes, microbes, and metabolites. *Appl Microbiol Biotechnol* 2015; 99:4595-614.
49. Thet NT, Alves DR, Bean JE, Booth S, Nzakizwanayo J, Young AE, Jones BV, Jenkins AT. Prototype Development of the Intelligent Hydrogel Wound Dressing and Its Efficacy in the Detection of Model Pathogenic Wound Biofilms. *ACS Appl Mater Interfaces* 2015, Oct 22 [Epub ahead of print].
50. Tamayol A, Akbari M, Zilberman Y, Comotto M, Lesho E, Serex L, Bagherifard S, Chen Y, Fu G, Ameri SK, Ruan W, Miller EL, Dokmeci MR, Sonkusale S, Khademhosseini A. Flexible pH-Sensing Hydrogel Fibers for Epidermal Applications. *Adv Healthc Mater* 2016 ; 5:711-9.
51. Hutchinson JJ and Lawrence JC . *Wound infection under occlusive dressings* 1991 Feb 28; 17(2):83-94.
52. Winter G. Formation of the Scab and the Rate of Epithelialisation of Superficial Wounds in the Skin of the Young Domestic Pig. *Nature* 1962; 293-294.
53. Jones VJ. The use of gauze: Will it ever change? *J Wound* 2006; 3:79-86.
54. Thomas S. Hydrocolloid dressings in the management of acute wounds: a review of the literature. *Int Wound J* 2008; 5:602-13.
55. Queen D. Technology update: Understanding Hydrofiber® Technology. *Wounds International* 2010; 1(5).
56. Waring MJ, Parsons D. Physicochemical characterisation of carboxy-methylated spun cellulose fibres. *Biomaterials* 2000; 22: 903-12.
57. Walker M, Hobot JA, Newman GR, Bowler PG. Scanning electron microscopic examination of bacterial immobilisation in a carboxymethyl cellulose (AQUACEL®) and Alginate Dressing. *Biomaterials* 2003; 24: 883-90.
58. Parsons D. *Designing a dressing to address local barriers to wound healing. In: Next-generation antimicrobial dressings: AQUACEL™ Ag+ Extra™ and Ribbon*. London: Wounds International 2014 (Suppl). Available to download from: www.woundsinternational.com
59. Said J, Walker M, Parsons D, Stapleton P, Beezer AE, Gaisford S. An in vitro test of the efficacy of an anti-biofilm wound dressing. *Int J Pharm* 2014; 474:177-81.
60. Seth AK, Zhong A, Nguyen KT, Hong SJ, Leung KP, Galiano RD, Mustoe TA. Impact of a novel, antimicrobial dressing on in vivo, *Pseudomonas aeruginosa* wound biofilm: quantitative comparative analysis using a rabbit ear model. *Wound Repair Regen* 2014; 22:712-9.
61. Harding KG, Szczepkowski M, Mikosiński J, Twardowska-Sauchka K, Blair S, Ivins NM, Saucha W, Cains J, Peters K, Parsons D, Bowler P. Safety and performance evaluation of a next-generation antimicrobial dressing in patients with chronic venous leg ulcers. *Int Wound J* 2015. doi: 10.1111/iwj.12450.
62. Walker M, Metcalf D, Parsons D, Bowler P. A real-life clinical evaluation of a next-generation antimicrobial dressing on acute and chronic wounds. *J Wound Care* 2015; 24:11-22.
63. Metcalf D, Parsons D, Bowler P. A next-generation antimicrobial wound dressing: a real-life clinical evaluation in the UK and Ireland. *J Wound Care* 2016; 25:132-8.
64. Metcalf DG, Parsons P, Bowler PG. Clinical safety and effectiveness evaluation of a new antimicrobial wound dressing designed to manage exudate, infection and biofilm. *Int Wound J* 2016; doi: 10.1111/iwj.12590.
65. Bowler PG, Parsons D. Combatting wound biofilm and recalcitrance with a novel anti-biofilm Hydrofiber® wound dressing. *Wound Medicine* 2016; 14:6-11.