

# Terapia fotodinámica antimicrobiana en el tratamiento de las úlceras del pie en personas con diabetes mellitus: protocolo de ensayo controlado aleatorio

### RESUMEN

**Importancia** Las úlceras del pie diabético son una de las principales complicaciones de la diabetes y un importante problema de salud pública, que repercute enormemente en los costes sanitarios. Estas úlceras suelen tratarse con métodos convencionales como la limpieza con suero salino, el desbridamiento, los antibióticos y los apósitos tópicos. Sin embargo, el aumento de las amputaciones no traumáticas de miembros inferiores relacionadas con la diabetes, junto con la creciente resistencia a los antimicrobianos, pone de manifiesto la insuficiencia de estos tratamientos estándar para lograr una curación a tiempo.

**Avances recientes** Se están probando nuevas terapias coadyuvantes con fuentes de luz, como la terapia fotodinámica antimicrobiana, para ayudar a la curación de las úlceras del pie. Esta terapia consiste en utilizar luz (LASER o LED) para irradiar la lesión en combinación con un agente fotosensibilizante y oxígeno tisular. Este proceso favorece el estrés oxidativo y reduce los microorganismos presentes en la úlcera.

**Cuestiones críticas** Un reto importante en la aplicación de la terapia fotodinámica es la falta de estudios clínicos exhaustivos y de protocolos de tratamiento completos. Aunque cada vez hay más pruebas que respaldan la eficacia de esta terapia en diversas afecciones, la escasez de ensayos clínicos bien documentados y de réplicas fiables de estos estudios representa un obstáculo importante para otros investigadores que pretendan replicar los resultados.

**Orientaciones futuras** Este artículo proporciona un protocolo detallado y transparente, que puede ser fácilmente reproducido por otros investigadores, dando un paso significativo hacia la consolidación y expansión del uso de la terapia fotodinámica en el tratamiento de las úlceras diabéticas. Se espera que este estudio y el protocolo presentado sirvan de base para futuras investigaciones e innovaciones en terapia fotodinámica, abriendo nuevas posibilidades terapéuticas y contribuyendo a mejorar la calidad de la práctica clínica.

**Palabras clave** terapia fotodinámica, estrés oxidativo, pie diabético, curación de heridas, cuidado de heridas

**Como referencia** Brandão MGSA, et al. Antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of foot ulcers in people with diabetes mellitus: a randomised controlled trial protocol. WCET® Journal. 2024;44(4):28-38.

**DOI** <https://doi.org/10.33235/wcet.44.4.28-38>

*Presentado 13 septiembre de 2024, Aceptado 20 noviembre de 2024*

#### **Maria Girlane S A Brandão\***

RN estudiante PhD

Departamento de Enfermería General y Especializada, Escuela de Enfermería, Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil  
Correo electrónico [girlanealbuquerque@usp.br](mailto:girlanealbuquerque@usp.br)

#### **Idevania G Costa**

RN NSWOC PhD

Escuela de Enfermería, Universidad Lakehead, Thunder Bay, Canadá

#### **Mayra Gonçalves Meneguetti**

RN PhD

Departamento de Enfermería General y Especializada, Escuela de Enfermería, Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil

#### **Roberto Bueno Filho**

Doctor PhD

Departamento de Medicina Clínica, Facultad de Medicina de Ribeirão Preto, Hospital Universitario, Ribeirão Preto, Brasil

#### **Soraia Assad Nasbine Rabeh**

RN PhD

Departamento de Enfermería General y Especializada, Escuela de Enfermería, Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil

*\* Autor correspondiente*

## INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica que a menudo conlleva complicaciones, entre ellas las úlceras del pie diabético (DFU). Anualmente, 18,6 millones de personas desarrollan DFU, que preceden al 80% de las amputaciones de miembros inferiores en pacientes con DM. Las infecciones afectan al 50-60% de las DFU, y alrededor del 20% de los casos graves acaban en amputaciones de miembros inferiores (LLA).<sup>1</sup>

De 2010 a 2020, hubo más de 240 000 hospitalizaciones en Brasil relacionadas con la amputación de miembros inferiores debido a la DM.<sup>2</sup> Además, incluso después de la intervención quirúrgica en pacientes con amputaciones menores, hay una alta probabilidad de readmisión debido a infecciones. Los pacientes con amputaciones importantes tienen una alta probabilidad de reingreso para el tratamiento de la sepsis.<sup>3</sup>

Los cuidados convencionales de la DFU incluyen limpieza, desbridamiento, circulación, hidratación y control de infecciones.<sup>4</sup> Sin embargo, esto suele ser insuficiente para una reparación tisular oportuna, ya que la DM altera todas las fases de curación.<sup>5</sup> Se producen retrasos en la inflamación, la persistencia de citoquinas altera la proliferación y los cambios en los miofibroblastos dificultan la deposición de colágeno y la remodelación. La mayoría de las DFU también están colonizadas por múltiples bacterias.<sup>6,7</sup>

Estos microorganismos forman colonias y se agrupan, creando una película autoprotectora en el lecho de la úlcera. Esta película favorece la inflamación y el estancamiento de la curación, bloqueando la acción de los tratamientos y apósitos convencionales y las respuestas de defensa del huésped, lo que puede conducir a la progresión y cronicidad de la lesión.<sup>8</sup>

Por lo tanto, proporcionar un tratamiento adecuado para gestionar las comunidades microbianas de bacterias es vital para prevenir desenlaces graves en personas con DFU, como LLA o muerte.<sup>8</sup> Una terapia adyuvante que puede ayudar a tratar las úlceras del pie en personas con DM es la terapia fotodinámica (PDT).<sup>9,10</sup>

La PDT consiste en utilizar una fuente de luz (láser o LED) para irradiar agentes fotosensibles no tóxicos que interactúan con el oxígeno tisular, generando especies reactivas de oxígeno. Estas especies reactivas del oxígeno tienen un efecto letal sobre los agentes infecciosos, sin causar daños tisulares.<sup>11,12</sup> El agente fotosensible más utilizado es el azul de metileno, ya que tiene una buena disponibilidad en el mercado, un bajo coste y un escaso riesgo de reacciones adversas.<sup>13</sup> Una investigación coste-beneficio realizada en Italia demostró que el uso de la PDT en la DFU tenía un impacto presupuestario positivo, ya que reducía en un 50% el tiempo necesario para alcanzar el objetivo de curación ambulatoria.<sup>14</sup> Una revisión sistemática reciente sobre la eficacia de la PDT reveló sólo un conjunto limitado de cuatro ensayos clínicos sobre el tema.<sup>15</sup> Ninguno de estos estudios puso a disposición sus protocolos (con detalles metodológicos esenciales), lo que representa una barrera significativa para la replicación precisa y fiable de sus investigaciones. Además, estos estudios tienen limitaciones, como el uso de hisopos para la evaluación microbiológica y una amplia variación en los parámetros de aplicación de la PDT y los resultados clínicos.

Para el diagnóstico y la evaluación de la infección en las úlceras del pie, debe obtenerse una muestra para cultivo recogiendo un fragmento de tejido mediante legrado o biopsia, lo que se considera la mejor práctica.<sup>16,17</sup> Muchos estudios sobre la PDT para el tratamiento de las DFU utilizan parámetros de luz, dosis y longitudes de onda variados. Para establecer las mejores prácticas y normalizar su aplicación, es esencial realizar estudios que prueben y apliquen sistemáticamente estos parámetros.<sup>18</sup>

Por lo tanto, este estudio pretende llenar lagunas críticas en la literatura poniendo a disposición de forma transparente el protocolo completo del ensayo clínico. Esto incluye la publicación del Protocolo Operativo Estándar (SOP) para la PDT y la biopsia de las úlceras del pie para una evaluación microbiana más precisa. Este protocolo se construye sobre la base de la evidencia científica, promoviendo su reproducibilidad para el desarrollo de un ensayo clínico para evaluar la eficacia de la PDT antimicrobiana en el tratamiento de DFU.

## MÉTODO

### Diseño del estudio

Se trata de un protocolo de ensayo clínico aleatorizado (RCT) pragmático y longitudinal. En este estudio, pretendemos analizar la eficacia del tratamiento con PDT para la DFU, en dos grupos: el grupo de intervención (IG) y el grupo de control (CG). El protocolo de investigación se esboza siguiendo los preceptos de los Elementos Estándar de Protocolo: Recomendaciones para ensayos de intervención (SPIRIT).<sup>19</sup>

### Escenario de búsqueda

La investigación se llevará a cabo en el servicio de consultas externas de dos hospitales terciarios situados en Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. El primero es el Ambulatorio de Endocrinología y Metabolismo del *Hospital das Clínicas* de la Facultad de Medicina de Ribeirão Preto de la Universidad de São Paulo. El segundo centro es el ambulatorio de Cirugía Vasculardel hospital *Beneficência Portuguesa* de Ribeirão Preto.

### Estudio participantes y criterios de elegibilidad

Los participantes se seleccionarán mediante muestreo de conveniencia y se asignarán aleatoriamente a los grupos de intervención y control. El estudio incluirá: pacientes de ambos sexos; mayores de 18 años; que presenten DFU; que acepten someterse a una biopsia de la lesión; y que estén disponibles para asistir semanalmente a la consulta externa, durante siete semanas (seis semanas de tratamiento y una semana siguiente para la evaluación de los resultados y la repetición de la biopsia).

Los criterios de exclusión son pacientes con: diagnóstico o en tratamiento de neoplasias; insuficiencia renal crónica o insuficiencia vascular periférica; sospecha o confirmación de osteomielitis; una lesión con una superficie superior a 5 cm por 5 cm; o índice tobillo-Braquial (ABI) inferior a 0,7; ausencia de pulsos con isquemia, ya que el oxígeno debe llegar al lugar de tratamiento para que la PDT funcione.<sup>20</sup> También se excluirá a los pacientes que utilicen medicaciones inmunosupresoras, con una puntuación superior a 12 en el Algoritmo de Tardivo<sup>21</sup>. La justificación para excluir a los pacientes con estas características es la baja probabilidad de que el tratamiento sea eficaz para ellos. Por lo tanto, está permitido excluirlos de la investigación.<sup>22</sup>

Los participantes que falten a dos citas consecutivas o experimenten irritación cutánea como consecuencia del uso de azul de metileno serán excluidos del estudio y se computarán estos datos.

### Reclutamiento

*Hospital das Clínicas de la Facultad de Medicina de Ribeirão Preto:* los pacientes serán seleccionados a través del Ambulatorio de Endocrinología y Metabolismo y de acuerdo con los criterios de elegibilidad. Durante la consulta de enfermería y la evaluación de la DFU, el investigador, que está autorizado a acompañar en las consultas de enfermería, evaluará si el paciente cumple los requisitos de elegibilidad. Si la persona reúne los requisitos, el investigador le proporcionará una invitación y le explicará el proceso de investigación, incluidos los riesgos y beneficios, el tiempo de seguimiento y la necesidad de firmar voluntariamente el formulario de consentimiento informado aprobado por la Junta de Ética de la Investigación. A continuación, un dermatólogo realizará la biopsia y se asignará al paciente al azar.

*Beneficência Portuguesa Hospital de Ribeirão Preto:* los pacientes serán seleccionados a través de la Clínica Ambulatoria de Cirugía Vascul. Durante la consulta con el cirujano vascular, el investigador, que está autorizado a asistir a las consultas médicas, evaluará si el paciente cumple los requisitos de elegibilidad. Si el paciente cumple los criterios de inclusión, el investigador le proporcionará una invitación y le explicará todos los detalles sobre el estudio, incluidos los riesgos y beneficios, el tiempo de seguimiento y la necesidad de firmar voluntariamente el formulario de consentimiento informado aprobado por la Junta de Ética de la Investigación. Posteriormente, un cirujano vascular programará el procedimiento de biopsia y el paciente será aleatorizado.

### Aleatorización

Los pacientes se distribuirán aleatoriamente en dos grupos:

- **IG:** Limpieza con solución salina al 0,9%, desbridamiento instrumental/agudo (según necesidad), azul de metileno más PDT activado y aplicación de apósito secundario (alginato cálcico sin plata).

- **CG:** Limpieza con solución salina al 0,9%, desbridamiento instrumental/agudo (según necesidad), azul de metileno más PDT inactivado y aplicación de apósito secundario (alginato cálcico sin plata).

La asignación aleatoria se llevará a cabo utilizando sobres individuales, sellados, opacos, no translúcidos y a prueba de manipulaciones, proporcionados al equipo de investigación por una persona no relacionada con el estudio (una persona sin implicación en la investigación ni en la apertura de los sobres) y sin notas externas.<sup>22,23</sup> Los sobres se abrirán secuencialmente a medida que se desarrolle el ensayo, garantizando que cada paciente tenga las mismas posibilidades de ser asignado al IG o al CG. Para cada participante elegible, se abrirá un sobre que contendrá la asignación al grupo de tratamiento y el procedimiento se registrará por escrito en un diario de campo.<sup>24</sup>

### Cegamiento

Cuando se habla de cegamiento, el término doble ciego se sigue utilizando ampliamente. Sin embargo, este término está cayendo en desuso debido a su ambigüedad, en favor de especificaciones claras sobre quién estará enmascarado y quién conocerá la asignación de los participantes<sup>24</sup>. Por lo tanto, el plan de cegamiento se explica en la Tabla 1.

Por lo tanto, sólo un investigador, responsable de aplicar la PDT, tendrá conocimiento de la asignación de los participantes. En este caso, no sería técnicamente posible que el investigador no supiera lo que está haciendo cuando utiliza la fuente de luz y el fotosensibilizador. No obstante, se ha procurado enmascarar a los demás participantes en el estudio.

### Equipo de investigación

Para cumplir las especificaciones del diseño del estudio, se organizó un equipo de investigadores formado por cuatro enfermeras (dos de ellas especializadas en enfermería de terapia enterostomal), un dermatólogo, un médico vascular y tres estudiantes de enfermería.

### Recogida de datos y medición de variables de referencia

La recogida de datos y las variables de referencia se llevarán a cabo mediante un instrumento semiestructurado que incluye datos sociodemográficos y clínicos de los participantes y

Tabla 1. Distribución de los participantes en el estudio y su condición de cegamiento.

Participantes en el estudio	Condición de cegamiento
Pacientes	Todo el procedimiento se realizará a ciegas para los pacientes, que no serán informados de en qué grupo se encuentran.
Médico responsable de la biopsia	El profesional encargado de recoger las biopsias de las úlceras de los pacientes no será informado de qué pacientes están en el IG o en el CG.
Aplicador de intervención	La PDT y la pseudointervención serán realizadas por una enfermera cualificada en terapia LASER en heridas complejas, que tendrá conocimiento de la asignación de los participantes, con el fin de llevar a cabo el protocolo de tratamiento indicado para cada grupo.
Evaluador de biopsias	El profesional del laboratorio de microbiología, responsable del cultivo microbiológico, no será informado de la asignación de pacientes.
Estadística	El profesional responsable de la estadística y el análisis de los resultados recibirá los datos recogidos en hojas de cálculo de Microsoft Excel®, en las que cada grupo se codificará con los símbolos griegos, ( $\omega$ ) omicron y ( $\lambda$ ) lambda, sin ninguna identificación de grupo de intervención o de control.

la evaluación de la DFU. Se recopilarán los siguientes datos sociodemográficos y clínicos:

- Información general: edad, sexo, ocupación, lugar de nacimiento, color de piel, estado civil y educación
- Evaluación de los factores de riesgo: enfermedades sistémicas asociadas, duración de la DM, tabaquismo, consumo de alcohol, nutrición, higiene, movilidad y medicación.

La evaluación de las úlceras se realizará utilizando la Herramienta de Evaluación de Heridas de Bates-Jensen (BWAT) validada para el portugués brasileño, que proporciona un método práctico, objetivo y concluyente para el seguimiento de la evolución de la curación.<sup>25</sup> La escala contiene 13 ítems que evalúan la lesión, incluyendo tamaño, profundidad, bordes, tipo de desprendimiento y cantidad de tejido necrótico, características y cantidad de exudado, edema e induración periferida, color de la piel periferida, calidad del tejido de granulación y epitelización. Cada elemento se clasifica en puntuaciones que van de 1 a 5, donde 1 indica el mejor estado y 5 el peor estado de la herida.

En cada ensayo se medirá la lesión con una regla de medición desechable, colocada junto al borde de la DFU. Además, en la fase inicial, se programará una extracción de sangre (en un plazo de 7 días) para evaluar la hemoglobina glicosilada al comienzo del tratamiento; y la evaluación del índice tobillo-brazo (ABI) se realizará el mismo día de la primera sesión de tratamiento.

El ABI se realizará a todos los pacientes por la misma enfermera, utilizando un equipo Doppler Vascular Portátil DV610 MegaMED, para localizar los pulsos arteriales, utilizando un transductor a una frecuencia de 10Mhz con un nivel de sensibilidad muy alto; y un esfigmomanómetro para medir la presión sistólica. Con el participante en decúbito supino, tras 10 minutos de reposo, se recogerán mediciones de la presión sistólica de la arteria dorsal del pie y de la arteria braquial, bilateralmente. El resultado se obtendrá mediante la relación entre la presión más alta de la arteria dorsal del pie a la altura del tobillo y la presión más alta de la arteria braquial de la extremidad superior, obteniéndose así el ABI. Se considerarán valores normales para el ABI entre 0,9 y 1,3.<sup>26</sup>

## DEFINICIÓN DE PROCEDIMIENTOS DE TRATAMIENTO

### Protocolo para aplicar el tratamiento de terapia fotodinámica, grupo de intervención (Apéndice 1)

Para realizar la PDT, se necesita un compuesto fotosensible y una fuente de luz para generar estrés oxidativo con oxígeno tisular. Así, la solución de azul de metileno (1%) se utilizará como agente fotosensibilizante. Esta solución será formulada bajo pedido por Imbralab - *Química e Farmacêutica Ltda* (CNPJ-05.123.544/0001-64), ubicada en la ciudad de Ribeirão Preto, São Paulo. Se eligió el azul de metileno porque tiene baja toxicidad, buena disponibilidad en el mercado y se utiliza a menudo en combinación con la PDT en la investigación clínica.<sup>13,27</sup>

Este fotosensibilizante se aplicará sobre la lesión (cubriendo un borde de 0,5 cm y la porción central) utilizando una pipeta desechable de 3 ml. La cantidad utilizada dependerá

del tamaño de cada lesión, por ejemplo, 0,5 ml para lesiones de hasta 4 cm<sup>2</sup> y 1 ml para lesiones de más de 4cm<sup>2</sup>. Tras la aplicación, se cronometrarán cinco minutos de absorción en el tejido mediante un teléfono inteligente.

Tras la absorción, se procederá a la irradiación con luz utilizando el equipo Therapy EC de la empresa DMC (regulado por el registro de ANVISA 80030819013). La irradiación utilizará una longitud de onda de 660 nm, una dosis de 9 julios y un tiempo de irradiación de 90 segundos por punto.<sup>28</sup> La aplicación utilizará una técnica de contacto puntual, manteniendo una distancia estandarizada de 1 cm entre un punto y otro alrededor de la lesión y de 0,5 cm desde el borde de la lesión, garantizando que toda la zona de la úlcera reciba la irradiación de la luz. Este procedimiento es seguro e indoloro para el paciente.<sup>10</sup>

Para minimizar el riesgo de contaminación de la punta del LASER con la úlcera, la punta se cubrirá con una película de plástico y se volverá a cubrir para cada paciente, después de limpiar el dispositivo con alcohol líquido al 70%. Todas las aplicaciones de PDT serán realizadas por una enfermera cualificada en terapia LASER. Tras aplicar la PDT, se utilizará un apósito secundario de alginato cálcico sin plata para cubrir la lesión. Cada paciente recibirá la cobertura indicada para poder cambiar el apósito en casa. Estos cambios se producirán en función de la evaluación del nivel de exudación y tanto los pacientes como los acompañantes serán debidamente informados al respecto. Se eligió el alginato de calcio sin plata porque tiene una capacidad moderada a alta de absorción de exudado y la capacidad de mantener un entorno fisiológicamente húmedo, favoreciendo el desbridamiento autolítico sin tener actividad antimicrobiana que pudiera interferir con los resultados de la PDT.

### Protocolo de aplicación del tratamiento, grupo de control (Apéndice 2)

Tras limpiar la úlcera como se ha descrito anteriormente y realizar el tratamiento convencional, se utilizará azul de metileno como una pseudointervención en las mismas condiciones y concentración que el utilizado en el IG. Se eligió el azul de metileno porque deja el lecho de la úlcera de color azul oscuro incluso después de eliminar el exceso. Esto garantiza que los participantes, que podrían intercambiar información en la sala de espera, y otros colaboradores del estudio no puedan determinar dónde está asignada la intervención activa.

Después de aplicar el azul de metileno y tras el tiempo de reposo, se irradiará luz LASER con el mismo dispositivo y las mismas técnicas de aplicación que para el IG. Sin embargo, la punta del dispositivo se inactivará bloqueándola con caucho de silicona para impedir la irradiación real de la PDT sobre la lesión, como se muestra en la Figura 1.

### Medición de resultados

En este estudio, la reducción de bacterias mediante biopsia de tejido se seleccionó como resultado primario, mientras que la evolución clínica, descrita por los signos de mejoría de la lesión y la tasa de curación son resultados secundarios.

#### • Evaluación de bacteria

Un estudio reciente que comparó la técnica de aspiración con la biopsia concluyó que la biopsia es el método más

eficaz y sensible para identificar microorganismos en lesiones cutáneas.<sup>29</sup> Por lo tanto, el procedimiento de biopsia será realizado por un médico que colabore con el estudio, siguiendo el protocolo de procedimiento del Apéndice 3.

Para realizar el procedimiento, se anestesiará la periferia de la úlcera inyectando 2-2,5 mL de lidocaína al 2% en la dermis profunda utilizando una jeringa estéril desechable de 3mL y una aguja de 21g (0,8 x 25mm); aguja de 30G (0,3 x 13mm). Para retirar el material se utilizará un punzón desechable, compuesto por un mango y un filo circular de 3 mm de diámetro. El fragmento biopsiado se levantará con unas pinzas y su base se seccionará en la porción más profunda con un bisturí del número 15, seguido de una compresión mecánica con algodón estéril.

El fragmento se guardará en un frasco de recogida de plástico estéril, se etiquetará y se enviará rápidamente al laboratorio de microbiología del hospital para la identificación de los microorganismos presentes en el tejido y el antibiograma. El análisis se realizará según las normas de estandarización BrCAST en las consultas externas de ambos hospitales.

• **Evaluación clínica de la lesión**

Todas las úlceras se evaluarán minuciosamente para proporcionar un análisis clínico de las lesiones, incluida una descripción cualitativa de los datos relacionados con el tipo de tejido, el exudado, los bordes, el olor y el aspecto de la piel periherida. Para el análisis estadístico, se tendrán en cuenta las evaluaciones realizadas en la primera y la última sesión de tratamiento en ambos grupos.

• **Índice de curación de úlceras**

Se creará una base de datos de imágenes de pacientes de investigación. En cada sesión de tratamiento, se fotografian las zonas ulceradas con la cámara del smartphone iPhone 7, con un objetivo gran angular de 12MP y apertura f/1,8, con la ayuda de un anillo de luz (Mini Ring Light LED). Las imágenes se grabarán a una distancia normalizada de 10 cm de la zona de la lesión. Además, se utilizará la aplicación para smartphone Imito Measure para calcular las medidas de longitud, anchura y superficie de la herida en cada sesión de tratamiento. Para el análisis estadístico se tendrán en cuenta las mediciones realizadas en la primera y la última sesión de tratamiento. Posteriormente, se calculará el índice de curación de úlceras (UHC)<sup>10</sup> como se muestra en la Figura 2.

**Sistema de clasificación de las úlceras del pie diabético (SINBAD)**

Se utilizará el Sistema de Clasificación y Puntuación en la Comparación de Resultados del Tratamiento de las Úlceras del Pie (SINBAD) para clasificar el pie diabético en el momento final y en el último día de tratamiento (semana 7). El sistema SINBAD evalúa seis categorías: localización, isquemia, neuropatía, infección bacteriana, superficie y profundidad de la úlcera. La puntuación varía entre cero y uno en cada categoría. Por tanto, cuanto más se acerque a seis la puntuación total, peor será la curación y menor la probabilidad de curación.<sup>30</sup>

La Figura 3 presenta un diagrama de flujo que resume los procedimientos e intervenciones que se llevarán a cabo en el estudio.

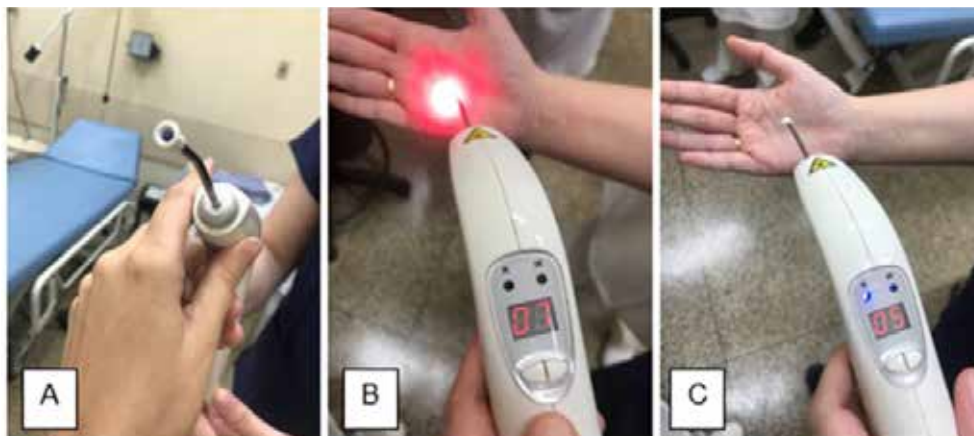


Figura 1. Ilustración de la técnica de bloqueo de la luz, manteniendo los sonidos del dispositivo LASER. A: Punta LASER con goma de silicona, que bloquea la salida de luz y también la acción terapéutica. B: El dispositivo LASER está encendido y la punta del dispositivo no presenta obstrucciones y emite luz con normalidad. C: El dispositivo LASER está encendido, pero la punta del dispositivo tiene una goma de silicona para bloquear la luz.

$$UHC = \frac{[(Zona\ de\ salida) - (Zona\ de\ llegada)]}{(Zona\ de\ salida)}$$

UHC = 1--Significa reepitelización total  
 UHC = 0--Indica signos de reepitelización  
 UHC > 0--Significa reducción del área de la lesión  
 UHC < 0--Significa un aumento en el área de la lesión

Figura 2. Fórmula para calcular el índice de curación de úlceras.

## Organización y análisis de datos

Los datos se almacenarán en hojas de cálculo codificadas en Microsoft Excel, utilizando la técnica de la doble entrada para las respuestas y la posterior validación de los datos. Tras la validación, las hojas de cálculo se transferirán al programa estadístico SPSS.

Un estadístico realizará análisis descriptivos de frecuencias simples para variables categóricas y calculará medidas de tendencia central (media o mediana) y de dispersión (desviación típica o mínimo y máximo) para variables cuantitativas, en función de la distribución de las variables. Se realizará la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov para analizar la distribución de los datos.

Para el análisis de variables numéricas, se utilizará la prueba de la t de Student para muestras independientes si los datos tienen una distribución normal, o la prueba de Mann-Whitney si la distribución no es normal. Para el análisis de las variables categóricas se utilizará la prueba Chi-cuadrado. En los procedimientos analíticos se adoptará un nivel de significación del 5%.

## Protección de los participantes en la investigación

La investigación se adherirá a los principios de la Declaración de Helsinki y las directrices éticas para la investigación con seres humanos como se indica en la Resolución 466/2012 del Consejo Nacional de Salud, Brasil.

Este ensayo ha sido autorizado por el gerente del ambulatorio de endocrinología del Hospital y aprobado por la Junta de Ética de la Investigación (REB) tanto de la Escuela de Enfermería de Ribeirão Preto (5.802.182/2022) como del Hospital das Clínicas de la Facultad de Medicina de Ribeirão Preto (6.071.033/2023). Además, obtuvo el Número Universal de Ensayo (UTN) de la Organización Mundial de la Salud (U1111-1286-7818) y del

Registro Brasileño de Ensayos Clínicos (REBEC) con el número RBR-2dm7t97.

La participación de los pacientes será voluntaria y previo acuerdo con los términos expresados en el formulario de consentimiento informado, que les permite retirarse de la investigación en cualquier momento sin que ello afecte a su tratamiento ni sufra juicios o penalizaciones.

## Resultados esperados

Se prevé que el protocolo de PDT definido promoverá la mejora clínica de la DFU en los participantes del grupo de intervención en comparación con el grupo de control. Además, el estudio pretende concienciar sobre dos temas importantes:

- 1) Implantación de la biopsia en los servicios sanitarios: Hacer hincapié en la importancia de utilizar la biopsia para el seguimiento de los casos de DFU en función de los microorganismos presentes en el lecho de la herida, teniendo en cuenta su etiología polimicrobiana.
- 2) Inversión en formación y cualificación de enfermeras: Destacar la necesidad de invertir en la formación y cualificación de las enfermeras para desarrollar nuevos protocolos de cuidados y terapias centradas en tecnologías adyuvantes innovadoras y más rentables.

Además, el protocolo de PDT aquí presentado, construido teniendo en cuenta la evidencia científica, podría servir de pauta a investigadores y clínicos para replicarlo en diferentes ubicaciones geográficas y entornos de cuidado de heridas.

## DISCUSION

El presente protocolo incluye un estudio aleatorizado que analizará la eficacia de la PDT en el tratamiento de la DFU. Entre los puntos fuertes de esta investigación figuran:

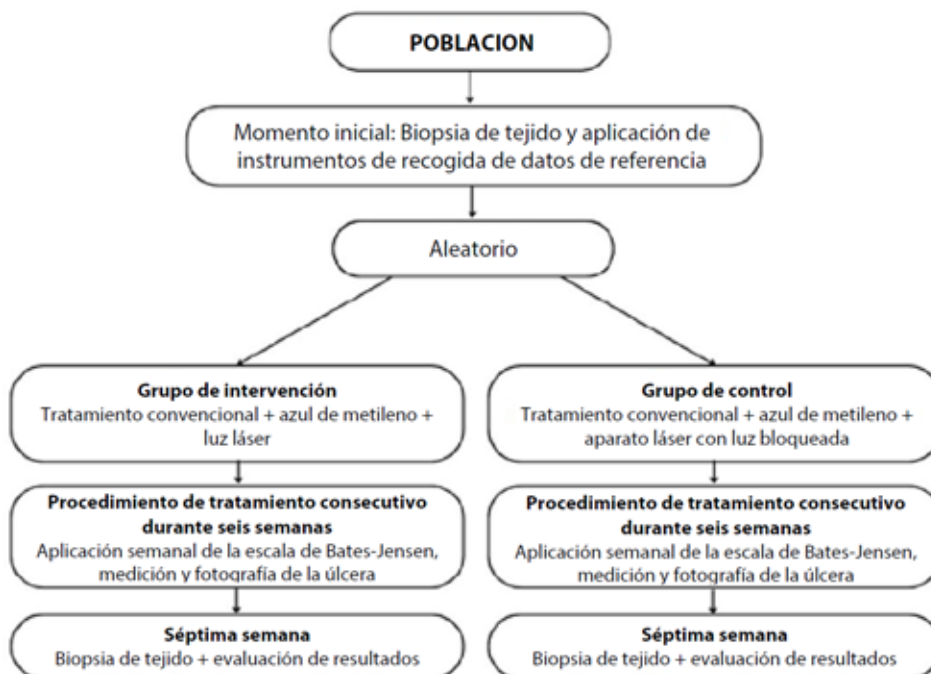


Figura 3. Diagrama de flujo que ilustra los pasos y procedimientos del estudio.

- Método de estudio con un equipo de médicos y enfermeras, utilizando el método doble ciego con aleatorización controlada,
- Técnica de biopsia tisular con manejo estéril antes y después de seis semanas de tratamiento, en total siete semanas, con seguimiento. Este enfoque permitirá una evaluación fiable de los tipos de bacterias presentes en la úlcera, y;
- Un protocolo de tratamiento con PDT desarrollado a partir de pruebas científicas, como una revisión sistemática con metaanálisis, para comprender los principales parámetros utilizados en la PDT.<sup>15</sup>

La elección de realizar un ensayo clínico se debe a la falta de estudios clínicos que comparen la PDT con un grupo de control, a pesar de la presencia de series de casos y estudios de revisión con resultados convergentes para la PDT.<sup>9,15,31</sup> Además, existe una variación considerable en los parámetros de luz ideales, como la dosis en julios y el tiempo de irradiación, que son cruciales para la eficacia de la terapia.<sup>32</sup>

En el presente estudio, el protocolo de tratamiento se elaboró a partir de una revisión sistemática y un metaanálisis publicados previamente, que pretendían establecer los mejores parámetros para llevar a cabo la PDT.<sup>15</sup> Posteriormente, realizamos una revisión de alcance (actualmente en fase de revisión post-proceso, aprobada en la revista *Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery*), que corroboró los parámetros seleccionados: 660 nm, 9 J, en modo puntual y de contacto.

Otro factor determinante en la elección de estos parámetros fue la recomendación del fabricante del equipo utilizado. El dispositivo Therapy EC, de DMC, dispone de automatización para la aplicación de luz roja, que funciona a 660 nm ( $\pm 10$  nm).<sup>33</sup> Al seleccionar la energía de 9 J, el dispositivo ajusta automáticamente el tiempo de aplicación a 90 segundos, emitiendo una señal acústica al final de cada ciclo para indicar la necesidad de cambiar el punto de la herida. Este protocolo está respaldado por el centro de investigación de la DMC, NUPEN, que recomienda el uso de azul de metileno como fotosensibilizador y la aplicación semanal de luz roja a la potencia y con los parámetros mencionados anteriormente.<sup>34</sup>

Cabe señalar que, en el contexto de la PDT, la energía en julios (J) es el producto de la potencia (W) por el tiempo de irradiación (s), según la fórmula:  $E(J)=P(W)\times t(s)$ . En el caso del protocolo utilizado, una dosis de 9 J distribuida en 90 segundos implica que el dispositivo funciona con una potencia media de 0,1 W (100 mW). La configuración de fábrica de la Terapia CE establece que la potencia útil del emisor es de 100 mW, correspondiente a la relación energía-tiempo ajustada automáticamente por el dispositivo.<sup>33</sup>

Además, los parámetros elegidos también se basaron en la mejor interacción con el fotosensibilizador utilizado, el azul de metileno. Se trata de un fotosensibilizador fenotiazínico de segunda generación ampliamente utilizado en la PDT, debido a su alta eficacia en la generación de oxígeno atómico ( $^1O_2$ ). Un estudio realizado indica que el azul de metileno presenta el mejor rendimiento cuántico entre las longitudes de onda de 600-900 nm.<sup>35</sup> Sin embargo, las longitudes de onda por encima de 760 nm caen dentro del espectro infrarrojo, que alcanza tejidos más profundos, mientras que la aplicación en heridas

requiere luz en el rango rojo cerca de 600 nm para una mayor eficacia.<sup>36</sup>

Mediante estudios bibliográficos, también se identificó que el azul de metileno es el agente fotosensibilizante más utilizado debido a su buena disponibilidad en el mercado y al escaso registro de acontecimientos adversos notificados tras su aplicación en el lecho de la herida. Aunque se eligió una concentración más alta de azul de metileno (1%) en comparación con la bibliografía, estudios anteriores de pacientes con DFU en Brasil utilizaron una concentración del 2% y no registraron acontecimientos adversos.<sup>33</sup>

Por lo tanto, los parámetros adoptados no sólo siguen la evidencia científica, sino que también consideran las características técnicas del equipo y la interacción ideal con el agente fotosensible, garantizando una mayor seguridad y eficacia en la aplicación de la PDT en el tratamiento de las úlceras del pie en personas con DM.

Para que las aplicaciones clínicas de la PDT evolucionen, se necesitan estudios que comparen la PDT directamente con técnicas estándar y una PDT placebo/pseudointervención, junto con métodos de evaluación clínica más objetivos, a fin de proporcionar datos útiles para protocolos de PDT clínicamente relevantes.<sup>34</sup>

Un método más objetivo para la evaluación clínica de la terapia es la biopsia de la lesión para su análisis microbiológico. Un estudio reciente que comparó la técnica de aspiración con la biopsia concluyó que la biopsia es el método más eficaz y sensible para identificar los microorganismos causantes en las lesiones cutáneas.<sup>29</sup> Por lo tanto, en este estudio un médico realizará un procedimiento de biopsia para identificar los microorganismos antes y después del tratamiento con PDT.

Además del análisis microbiológico, es pertinente el seguimiento semanal de la evolución clínica de la lesión. Investigaciones recientes sobre casos de DFU en las que se utilizó la herramienta de evaluación de heridas de Bates-Jensen demostraron que la PDT promovía mejoras en el tamaño de la lesión.<sup>35</sup> Esto puede estar relacionado con el hecho de que la reducción de los microorganismos presentes en la lesión proporciona un equilibrio de humedad y un entorno menos friable y hemorrágico, favorable para el tejido de granulación y el progreso de la curación.

Además de estos beneficios clínicos, el mecanismo de acción de la PDT va más allá de la acción antimicrobiana. La interacción de la luz roja con el fotosensibilizador azul de metileno genera especies reactivas de oxígeno, como el oxígeno atómico, que contribuyen a la destrucción microbiana y a la modulación de la respuesta inflamatoria. Sin embargo, la luz roja a 660 nm puede influir además en los componentes celulares, como las mitocondrias, estimulando la producción de ATP y mejorando los procesos de reparación celular. Un estudio de revisión sistemática realizado por Nesi-Reis et al. (2018)<sup>40</sup> sugiere que la luz roja también puede tener un impacto en los leucocitos y macrófagos, que son cruciales para controlar la inflamación y promover la reparación de los tejidos. Estos efectos combinados -reducción microbiana y bioestimulación- crean un entorno favorable para la formación de tejido de granulación y la progresión de la curación.

Sin embargo, es importante tener en cuenta que la PDT no debe realizarse de forma aislada. Es esencial aplicar medidas básicas para progresar en la curación, como el uso de calzado adecuado para aliviar la presión plantar, el control glucémico, el cumplimiento de las medidas de higiene y estrategias para reforzar el autocuidado y la autogestión de la enfermedad subyacente.

La limitación del estudio es la falta de evaluación de la carga microbiana de la DFU. Por lo tanto, los estudios futuros deberían considerar la posibilidad de aplicar la PDT, con análisis de biopsias, en colaboración con un laboratorio de análisis microbiológico que pueda apoyar no sólo la identificación de microorganismos, sino también el recuento de la carga microbiana.

## AGRADECIMIENTOS

Yo, el primer autor, quisiera expresar mi gratitud a la Coordinación para el Perfeccionamiento del Personal de Enseñanza Superior (CAPES) por la financiación concedida a los programas de posgrado en Brasil, que son gratuitos y permiten el desarrollo de la investigación académica en el país. Agradezco al Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (CNPq) el apoyo a la beca de productividad (proceso nº 140675/2021-3).

## CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

## APROBACIÓN ÉTICA

Comité de Ética en Investigación de la Escuela de Enfermería de Ribeirão Preto y Hospital das Clínicas de la Escuela de Medicina de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.

## FINANCIACIÓN

Los autores no recibieron financiación por este estudio.

## REFERENCIAS

1. Voelker R. What are diabetic foot ulcers? *JAMA*. 2023;330(23):2314. doi:10.1001/jama.2023.17291
2. Silva AAS da, Castro AA, Bomfim LG de, et al. Amputações de membros inferiores por Diabetes Mellitus nos estados e nas regiões do Brasil. *Research, Soc and Devel*. 2021;10(4):e11910413837. doi: 10.33448/rsd-v10i4.13837
3. Walicka M, Raczynska M, Marcinkowska K, Lisicka I, Czaicki A, Wierzbza W, Franek E. Amputations of Lower Limb in Subjects with Diabetes Mellitus: Reasons and 30-Day Mortality. *J Diabetes Res*. 2021 Jul 24;2021:8866126. doi: 10.1155/2021/8866126. PMID: 34350296; PMCID: PMC8328738.
4. Andrade LL de, Carvalho G de CP, Valentim FAA de A, et al. Characteristics and treatment of diabetic foot ulcers in an ambulatory care. *R de Pesq: cuidado é fundamental*. 2019;11(1):124–8. doi: 10.9789/2175-5361.2019.v11i1.124-128
5. Ananian CE, Davis RD, Johnson EL, Regulski MJ, Reyzelman AM, Saunders MC, Danilkovitch A. Wound closure outcomes suggest clinical equivalency between lyopreserved and cryopreserved placental membranes containing viable cells. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2019 Nov 1;8(11):546-554. doi 10.1089/wound.2019.1028
6. Fuchs C, Stalnaker KJ, Pham L, et al. Unique Physiology And Intrinsically Delayed Wound Healing In Plantar Skin. *WHS Annual Meeting*. Wound Healing Society. 2022. Available from: <https://woundheal.org/Meeting/Program/2022/O2.01.cgi>
7. ShankarRao AG, Behera PK, Tripathy KP, et al. Clinico-microbiological profile and culture sensitivity pattern of micro-organisms isolated from diabetic foot ulcers: study from a tertiary care centre. *J Assoc Physicians India*. 2022;70(4):11–12.
8. Afonso AC, Oliveira D, Saavedra MJ, et al. Biofilms in diabetic foot ulcers: impact, risk factors and control strategies. *Int J Mol Sci*. 2021;22(15):8278. doi: 10.3390/ijms22158278
9. Li X, Kou H, Zhao C, et al. Efficacy and safety of ALA-PDT in treatment of diabetic foot ulcer with infection. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2022;38:102822. doi: 10.1016/j.pdpdt.2022.102822
10. Aureliano PMC. Efeitos biológicos produzidos pela terapia fotodinâmica na reparação de feridas diabéticas em humanos. 127 f. Tese (Doutorado) – Curso de Programa de Pósgraduação em Engenharia Biomédica, Universidade Brasil, São Paulo, 2017. Available from: [https://www.universidadebrasil.edu.br/portal/\\_biblioteca/uploads/20200316195511.pdf](https://www.universidadebrasil.edu.br/portal/_biblioteca/uploads/20200316195511.pdf)
11. Ning X, He G, Zeng W, et al. The photosensitizer-based therapies enhance the repairing of skin wounds. *Front Med (Lausanne)*. 2022;9:915548. doi: 10.3389/fmed.2022.915548
12. Warriar A, Mazumder N, Prabhu S, et al. Photodynamic therapy to control microbial biofilms. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2021;33:102090. doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.102090.
13. Brandão MGSA. Terapia fotodinâmica no tratamento de úlceras infectadas nos pés de pessoas com diabetes mellitus: revisão sistemática e metanálise. 77 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Instituto de Ciências da Saúde-ICS, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – Unilab, Redenção, 2020. Available from: <https://repositorio.unilab.edu.br/jspui/bitstream/123456789/1995/1/MARIA%20GIRLANE%20SOUZA%20ALBUQUERQUE%20BRAND%c3%83O%20Disserta%c3%a7%c3%a3o.pdf>
14. Lorenzoni V, Chiavetta A, Curci V, et al. New perspective to improve care of patients with infected diabetic foot ulcer: early economic impact of the use of photodynamic therapy with rlp068 (based) system. *Clinicoecon Outcomes Res*. 2021;13:135-144. doi: 10.2147/CEOR.S274897
15. Brandão MGSA, Ximenes MAM, Sousa DF, et al. Photodynamic therapy for infected foot ulcers in people with diabetes mellitus: a systematic review. *Sao Paulo Med J*. 2023;141(6):e2022476. doi: 10.1590/1516-3180.2022.0476.27022023
16. International Working Group on the Diabetic Foot (IWGDF). Guidelines on the prevention and management of diabetic foot disease. *IWGDF Guidelines*. 2019. Available from: <https://iwgdfguidelines.org/guidelines/guidelines/>
17. Lipsky BA, Senneville É, Abbas ZG, et al. International Working Group on the Diabetic Foot (IWGDF). Guidelines on the diagnosis and treatment of foot infection in persons with diabetes (IWGDF 2019 update). *Diabetes Metab Res Rev*. 2020;36(sup1):e3280. doi: 10.1002/dmrr.3280.
18. Hou C, Zhang L, Wang L, Zhao S, Nie J, Lv M, Zhang W, Su X, Tian S, Li Y. A meta-analysis and systematic review of photodynamic therapy for diabetic foot ulcers. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2024;48:104228. doi: 10.1016/j.pdpdt.2024.104228.
19. Chan AW, Tetzlaff JM, Altman DG, et al. SPIRIT 2013 statement: defining standard protocol items for clinical trials. *Ann Intern Med*. 2013;158(3):200–207. doi: 10.7326/0003-4819-158-3-201302050-00583
20. Tardivo JP, Adami F, Correa JA, Pinhal MA, Baptista MS. A clinical trial testing the efficacy of PDT in preventing amputation in diabetic patients. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2014;11(3):342–350. doi: 10.1016/j.pdpdt.2014.04.007
21. Tardivo JP, Baptista MS, Correa JA, et al. development of the Tardivo Algorithm to predict amputation risk of diabetic foot. *PLoS One*. 2015;10(8):e0135707. doi: 10.1371/journal.pone.0135707
22. Gil AC. Como elaborar projetos de pesquisa. 7th ed. Barueri, Altas, 2022.



23. Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, et al. Delineando a pesquisa clínica. Editora Grupo A. 2015.
24. Polit DF, Beck CT. Fundamentos de Pesquisa em Enfermagem. 9th ed. Porto Alegre, Artmed, 2019.
25. Alves DF dos S, Almeida AO de, Silva JLG, et al. Translation and adaptation of the Bates-Jensen Wound Assessment Tool for the Brazilian culture. *Text Context Nursing*. 2015;24(3):826–833. doi: 10.1590/0104-07072015001990014
26. McClary KN, Massey P. Ankle Brachial Index. [Updated 2023 Jan 16]. In: StatPearls, Treasure Island (FL), 2023. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544226/>
27. Eduardo CP, Bello-Silva MS, Ramalho KM, et al. Terapia fotodinâmica como benefício complementar na clínica odontológica. *Rev Assoc Paul Cir Dent*. 2015; 69(3): 226–235.
28. Moura JPG, Brandão LB, Barcessat ARP. Estudo da terapia fotodinâmica (PDT) no reparo de lesões teciduais: estudo de casos clínicos. *Est. Científica (Unifap)*, 2018; 8(1):103–110.
29. Tokarski J, Alves DC, Gioppo N, et al. Aspirado versus biópsia para o diagnóstico de feridas infectadas. *Rev Enferm Atual In Derme*. 2022; 96(38):e-021227.
30. Carvalho R, Paulino A, Alves A, et al. Tradução das recomendações do “International Working Group on the Diabetic Foot” (IWGDF) pelo Grupo de Estudos de Pé Diabético (GEPED) da Sociedade Portuguesa de Diabetologia. *Rev Port Diabetes*. 2020;15(2): 58–69.
31. Pantò F, Adamo L, Giordano C, Licciardello C. Efficacy and safety of photodynamic therapy with RLP068 for diabetic foot ulcers: a review of the literature and clinical experience. *Drugs Context*. 2020;9:2019-10–13. doi: 10.7573/dic.2019-10-3
32. Cardoso VS, de Souza Lima da Silveira PR, Dos Santos CM, da Rocha RB, Hazime FA. Dose-response and efficacy of low-level laser therapy on diabetic foot ulcers healing: Protocol of a randomized controlled trial. *Contemp Clin Trials*. 2021;110:106561. doi: 10.1016/j.cct.2021.106561
33. Tardivo JP, Correa JA, Pinhal MAS, et al. A cohort study to evaluate the predictions of the Tardivo Algorithm and the efficacy of antibacterial photodynamic therapy in the management of the diabetic foot. *Eur J Med Res Clin Trials*. 2022;4:1–11. doi: 10.17303/ejmrc.2022.4.102
34. Boltes Cecatto R, Siqueira de Magalhães L, Fernanda Setúbal Destro Rodrigues M, Pavani C, Lino-Dos-Santos-Franco A, Teixeira Gomes M, Fátima Teixeira Silva D. Methylene blue mediated antimicrobial photodynamic therapy in clinical human studies: The state of the art. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2020;31:101828. doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.101828
35. Ferreira, R.C. Terapia fotodinâmica como coadjuvante no processo de cicatrização do pé diabético: série de casos. 2022. 82 f. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde. Universidade Nove de Julho, São Paulo. Available from: <https://bibliotecatede.uninove.br/bitstream/tede/3057/2/Rita%20de%20C%3%A1ssia%20Ferreira.pdf>
36. Tsai SR, Hamblin MR. Biological effects and medical applications of infrared radiation. *J Photochem Photobiol B*. 2017;170:197-207. DOI:10.1016/j.jphotobiol.2017.04.014
37. Tardivo JP, Correa JA, Pinhal MAS, et al. A Cohort Study to Evaluate the Predictions of the Tardivo Algorithm and The Efficacy of Antibacterial Photodynamic Therapy in The Management of the Diabetic Foot. *Eur J Med Res Clin Trials* 4: 1-11. Available from: <https://repositorio.usp.br/directbitstream/99fc9a31-1d92-4411-80d1-873b2b640988/3112259.pdf>
38. Boltes Cecatto R, Siqueira de Magalhães L, Rodrigues MFSD, et al. Methylene blue mediated antimicrobial photodynamic therapy in clinical human studies: The state of the art. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2020 Sep;31:101828. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2020.101828
39. Ferreira, R.C. Terapia fotodinâmica como coadjuvante no processo de cicatrização do pé diabético: série de casos. 2022. 82 f. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde. Universidade Nove de Julho, São Paulo. Available from: <https://bibliotecatede.uninove.br/bitstream/tede/3057/2/Rita%20de%20C%3%A1ssia%20Ferreira.pdf>
40. Nesi-Reis V, Lera-Nonose DSSL, Oyama J, et al. Contribution of photodynamic therapy in wound healing: A systematic review. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2018;21:294-305. DOI:10.1016/j.pdpdt.2017.12.015

## APÉNDICE 1.

### Procedimiento operativo estándar

#### Tratamiento de las úlceras del pie en el grupo de intervención

Material para el procedimiento
Equipo de protección individual (EPI) - guantes de procedimiento desechables; guantes estériles; bata, mascarilla; gorro; gafas protectoras para luz LASER.
Procedimiento de limpieza y vendaje - paquete de apósitos estériles; gasas estériles; solución salina al 0,9%; bolsa de plástico para desechar el apósito; cuchillas para desbridamiento (número 15 ó 22), esparadrapo/microporo/venda; funda absorbente.
Evaluación de lesiones: regla de papel desechable y smartphone para registro fotográfico.
Procedimiento de terapia fotodinámica: dispositivo LASER, pipeta desechable de 3 ml, película transparente y azul de metileno (1%).
Procedimiento
1. Lavarse las manos con agua y jabón líquido y colocarse los EPI necesarios
2. Ponerse los guantes de procedimiento
3. Retirar el apósito sucio y desecharlo
5. Limpiar la herida con solución salina al 0,9%
6. Secar con gasas estériles si es necesario
7. Realizar desbridamiento instrumental conservador con cuchillas para desbridamiento (número 15 o 22), si es necesario
8. Medir, evaluar y fotografiar la lesión (todas las sesiones de tratamiento)
9. Efectuar el procedimiento de biopsia por punción (1ª sesión y una semana después de la 6ª sesión)

10. Gotear solución de azul de metileno al 1% sobre toda la extensión de la lesión y esperar cinco minutos
11. Eliminar el exceso de solución de azul de metileno con una gasa estéril si es necesario
12. Proteger la punta del LASER con una envoltura de plástico
13. Colocarse las gafas de protección contra la luz LASER
14. Irradiar la lesión con el LASER, según los siguientes parámetros 660nm; Modo de irradiación: puntual y por contacto; julios por punto: 9J/cm <sup>2</sup> ; tiempo por punto: 90 segundos
15. Cubrir con funda absorbente (alginato de calcio)
16. Añadir gasa estéril, acolchando la herida
17. Fijar el apósito con una venda de crepé y esparadrapo
18. Desechar el material
19. Quitarse los guantes y realizar la higiene de las manos
20. Entregar el apósito al participante y darle instrucciones para que se lo cambie en casa

## APÉNDICE 2.

### Procedimiento operativo estándar

#### Tratamiento de las úlceras del pie en el grupo de control

<b>Material para el procedimiento</b>
Equipo de protección individual (EPI) - guantes de procedimiento desechables; guantes estériles; bata, mascarilla; gorro; gafas protectoras para luz LASER.
Procedimiento de limpieza y vendaje - paquete de apósitos estériles; gasas estériles; solución salina al 0,9%; bolsa de plástico para desechar el apósito; cuchillas para desbridamiento (número 15 ó 22), esparadrapo/microporo/venda; funda absorbente.
Evaluación de lesiones: regla de papel desechable y smartphone para registro fotográfico.
Tratamiento - Dispositivo LASER, ocluidor de silicona, pipeta desechable de 3 ml, película transparente y azul de metileno (1%).
<b>Procedimiento</b>
1. Lavarse las manos con agua y jabón líquido y colocarse los EPI necesarios
2. Ponerse los guantes de procedimiento
3. Retirar el apósito sucio y desecharlo
5. Limpiar la herida con solución salina al 0,9%
6. Secar con gasas estériles si es necesario
7. Realizar desbridamiento instrumental conservador con cuchillas para desbridamiento (número 15 o 22)
8. Medir, evaluar y fotografiar la lesión (todas las sesiones de tratamiento)
9. Efectuar el procedimiento de biopsia por punción (1ª sesión y una semana después de la 6ª sesión)
10. Gotear solución de azul de metileno al 1% con una pipeta sobre toda la longitud de la lesión y esperar cinco minutos
11. Eliminar el exceso de solución de azul de metileno con una gasa estéril si es necesario
12. Proteger la punta del LASER con una envoltura de plástico y coloque el ocluidor de silicona en la punta del dispositivo para evitar que se escape la luz
13. Colocarse las gafas de protección contra la luz LASER
14. Calibrar el LASER con los siguientes parámetros, de forma que el patrón sonoro del aparato sea el mismo en ambos grupos, a pesar de que la punta esté ocluida. Longitud de onda: 660 nm; modo de irradiación: puntual y por contacto; julios por punto: 9Jcm <sup>2</sup> ; tiempo por punto: 90 segundos
15. Cubrir con funda absorbente (alginato de calcio)
16. Añadir gasa estéril, acolchando la herida
17. Fijar el apósito con una venda de crepé y esparadrapo
18. Desechar el material
19. Quitarse los guantes y realizar la higiene de las manos
20. Entregar el apósito al participante y darle instrucciones para que se lo cambie en casa

## APÉNDICE 3.

### Protocolo operativo estándar

#### Recogida de material para biopsia

<b>Material para el procedimiento</b>
Procedimiento de biopsia - lidocaína al 2% con solución inyectable de adrenalina (epinefrina) 1:200 000; punción de 3 mm; jeringa de 3 ml; aguja de 21 g (0,8 x 25 mm); aguja de 30 g (0,3 x 13 mm); cuchilla n.º 15; guantes estériles; bata quirúrgica estéril; paquete de gasas y algodón estériles; recipiente de recogida estéril de 50 ml y 10 ml de solución salina al 0,9%.
<b>Procedimiento</b>
1. Lavarse de las manos con agua y jabón
2. Ponerse una bata estéril
3. Ponerse guantes estériles
4. Organizar y preparar el material dentro del campo estéril
5. Colocar el campo fenestrado sobre el pie, ayudando a aislar la zona a biopsiar
6. Anestesiarse la lesión con 2-2,5 ml de lidocaína al 2% con adrenalina (epinefrina)
7. Introducir el punzón mediante movimientos rotatorios, realizados en ambos sentidos
8. Sujetar y levantar suavemente el fragmento biopsiado con unas pinzas o una aguja y seccionar su base en la parte más profunda con una hoja de bisturí del número 15
9. Colocar el fragmento de tejido en un frasco colector de plástico con 10 ml de solución fisiológica (0,9%)
10. Realizar hemostasia con compresión mecánica del sitio biopsiado con algodón estéril
11. Retirar el campo fenestrado, deseche el material y lávese las manos
12. Solicitar y colocar la etiqueta de identificación estándar del hospital en el vial de muestra
13. Enviar la muestra al laboratorio de microbiología