





Análise da “1ª Recomendação Brasileira para o Gerenciamento do Biofilme em Feridas Crônicas e Complexas”

Analysis of “1st Brazilian Recommendation for Biofilm Management in Chronic and Complex Wounds”

Análisis de la “1ª Recomendación Brasileña para el Manejo de Biopelículas en Heridas Crónicas y Complejas”

Carol Viviana Serna González^{1,*}, Magali Thum², Aline de Oliveira Ramalho¹, Olívia Beloto Silva³, Mônica Franco Coelho⁴, Wilka Medeiros da Silva Queiroz⁵, Diba Maria Sebba Tosta de Souza⁶, Paula Cristina Nogueira⁷, Vera Lúcia Conceição Gouveia Santos⁷

ORCID IDs

González CVS  <https://orcid.org/0000-0002-9850-3030>
Thum M  <https://orcid.org/0000-0001-9282-272X>
Ramalho AO  <https://orcid.org/0000-0001-6065-5488>
Silva OB  <https://orcid.org/0000-0003-1151-1300>
Coelho MF  <https://orcid.org/0000-0003-3202-2987>
Queiroz WMS  <https://orcid.org/0000-0001-8167-8670>
de Souza DMST  <https://orcid.org/0000-0002-4743-2455>
Nogueira PC  <https://orcid.org/0000-0001-5200-1281>
Santos VLCG  <https://orcid.org/0000-0002-1288-5761>

COMO CITAR

González CVS; Thum M; Ramalho AO; Silva OB; Coelho MF; Queiroz WMS; de Souza DMST; Nogueira PC; Santos VLCG (2019) Análise da “1ª Recomendação brasileira para o gerenciamento de biofilme em feridas crônicas e complexas”. ESTIMA, Braz. J. Enterostomal Ther., 17: e1819. https://doi.org/10.30886/estima.v17.783_PT

RESUMO

Objetivos: Analisar criticamente a “1ª Recomendação brasileira para o gerenciamento de biofilme em feridas crônicas e complexas”.
Método: Realizou-se revisão da literatura atual às informações nele contidas. **Resultados:** Observou-se que a publicação carece de metodologia compatível com o título, existem lacunas nas recomendações quanto à classificação das evidências e com ausência de fundamentação a partir de importantes consensos internacionais para o tratamento das feridas complexas com suspeita de biofilme, publicados nos últimos três anos. **Conclusão:** Conclui-se que o manuscrito não deve ser usado como guia de recomendações clínicas, mas como revisão bibliográfica sobre o tema.

DESCRITORES: Comentário. Guia de prática clínica. Enfermagem. Biofilme. Infecção dos ferimentos. Estomatoterapia.

1. Universidade de São Paulo – Escola de Enfermagem – Programa de Pós-Graduação em Enfermagem na Saúde do Adulto – São Paulo/SP, Brasil.
2. Universidade de Taubaté – Programa de Pós-Graduação em Enfermagem em Estomatoterapia – Taubaté/SP, Brasil.
3. Centro Universitário de São Roque – Faculdade de Enfermagem – São Roque/SP, Brasil.
4. Instituto do Câncer de São Paulo, São Paulo/SP, Brasil.
5. Laboratório B Braun – Departamento de Educação Clínica – São Paulo/SP, Brasil.
6. Universidade do Vale do Sapucaí – Pouso Alegre/MG, Brasil.
7. Universidade de São Paulo – Escola de Enfermagem – Departamento de Enfermagem Médico-Cirúrgica – São Paulo/SP, Brasil.

*Autora correspondente: cvsernag@usp.br

Recebido: Jul. 11, 2019 | Aceito: Ago. 16, 2019



ABSTRACT

Objectives: Analyze critically the “1st Brazilian Recommendation for Biofilm Management in Chronic and Complex Wounds” (from Portuguese, “1^a Recomendação Brasileira para o Gerenciamento de Biofilme em Feridas Crônicas e Complexas”). **Method:** Reviewing information contained in said document according to current literature. **Results:** The publication was showed to lack methodology compatible with its title; gaps in the recommendations were perceived regarding evidence classification, as well as an absence of grounding from important international consensus, published in the last three years, about treatment of complex wounds with suspected biofilm. **Conclusion:** The document was concluded to be inadequate for use as a clinical guideline, being considered only a bibliographic review about the theme.

DESCRIPTORS: Commentary; Guidelines for clinical practice; Nursing; Biofilm; Wound infection; Stomatherapy.

RESUMEN

Objetivo: Analizar críticamente la “1^a Recomendación brasileña para el manejo de biopelículas en heridas crónicas y complejas”. **Método:** Para el análisis del documento, se realizó revisión de la literatura actual a la luz de las informaciones en él referidas. **Resultados:** Fue observado que la publicación carece de metodología compatible con el título, existen lacunas en las recomendaciones en cuanto a la clasificación de las evidencias, con ausencia de fundamentación a partir de importantes consensos internacionales para el tratamiento de las heridas complejas con sospecha de biopelícula, publicados en los últimos tres años. **Conclusión:** El manuscrito no debe ser usado como guía de recomendaciones clínicas, pero como revisión bibliográfica sobre el tema.

DESCRIPTORES: Comentario. Guía de práctica clínica. Enfermería. Infección de heridas. Enfermería en terapia enterostomal.

INTRODUÇÃO

Em novembro de 2018, houve a publicação do documento intitulado “1^a Recomendação brasileira para o gerenciamento de biofilme em feridas crônicas e complexas”¹ no marco do VII Congresso Brasileiro de Prevenção e Tratamento de Feridas.

Trata-se de uma iniciativa importante, pois no Brasil, até aquela data, não havia qualquer consenso nacional publicado a respeito do tema. Importante ressaltar que um guia de recomendações auxilia os profissionais da área da saúde na tomada de decisão para gerenciamento do tratamento de feridas complexas de modo assertivo e baseado em evidência.

No entanto, após a leitura do documento e discussão pelo Grupo de Pesquisa em Estomaterapia: estomias, feridas agudas e crônicas e incontinências urinária e anal (GPET), da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo, observou-se que o título da publicação não corresponde ao seu conteúdo, já que não se identificou qualquer lista de intervenções ou algoritmo para manejo de feridas infectadas ou com suspeita de biofilme, apesar de anunciar uma série de recomendações. Além disso, a Recomendação carece de percurso metodológico, não podendo ser enquadrado em revisão sistemática ou integrativa da literatura atual, com citações não atualizadas de trabalhos clássicos e omissão de importantes consensos internacionais

publicados nos últimos três anos²⁻⁶. Adicionalmente, os autores não usaram qualquer método de avaliação das evidências nem de validação por especialistas. Finalmente, não foram identificadas especificações do contexto brasileiro com respeito à epidemiologia e à disponibilidade de diversos produtos antimicrobianos.

Considerando esses aspectos, o GPET, registrado no CNPq desde 2004, e composto de enfermeiros com formação e experiência em diversas áreas, dentre as quais Estomaterapia e Ciências Básicas, desenvolveu este manuscrito, usando a abordagem de análise crítica, visando a contribuir para os profissionais de saúde e pesquisadores, envolvidos no cuidado de pessoas com feridas complexas e investigação sobre esse tema no país.

MÉTODOS

Tendo em vista a publicação do documento, realizou-se levantamento bibliográfico para fundamentação científica de sua análise crítica. Utilizaram-se a base de dados PubMed e o motor de busca Google Scholar, sem restrição quanto ao ano das publicações pesquisadas e com idiomas limitados ao inglês e português. Empregaram-se as seguintes palavras-chave em inglês: *biofilms*, *chronic wounds*, *wound care*, *consensus*, *wound infection*, *biofilm microbiology*, *prevention*, junto aos

operadores booleanos “and” e “or”, e seus equivalentes em português. A análise crítica focou na comparação das informações publicadas no documento analisado e a literatura encontrada, seguindo-se a divisão original por temas: A. Microbiologia dos biofilmes; B. Principais características das feridas crônicas e complexas; C. Manejo preventivo com foco em controle de infecção; e D. Agentes antimicrobianos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Optou-se por apresentação discursiva de cada tópico com o respectivo material bibliográfico encontrado, justificando a junção das Seções Resultados e Discussão.

Aspecto relevante comum a todos os tópicos a serem apresentados abaixo é a escassez de trabalhos de alta qualidade que possibilitem uma prática baseada em evidência³⁻⁶. Faltam evidências relacionadas ao reconhecimento, diagnóstico e tratamento do biofilme⁶. Embora vários algoritmos de tratamento tenham sido elaborados, faz-se necessário ainda dados clínicos sobre esses instrumentos, a fim de avaliar os resultados após sua implementação no contexto brasileiro. Além da discrepância relacionada ao conhecimento dos profissionais sobre o biofilme e sua importância no manejo de feridas crônicas que não cicatrizam⁴.

A. Microbiologia dos biofilmes

Em relação à microbiologia dos biofilmes, a revisão apresentada não parece suficientemente abrangente e atualizada. Fatos históricos foram mencionados sem elucidação do contexto, por exemplo: a apresentação de estudos da área da odontologia para fundamentar o manejo do biofilme em feridas crônicas, fazendo-se apropriado abordar a história e a evolução do conhecimento sobre as bactérias, suas formas e o surgimento das primeiras evidências de identificação em ambiente clínico, para melhor esclarecimento.

O fenótipo bacteriano em biofilme é discutido cientificamente por organismos como a Sociedade Americana de Microbiologia desde 1993⁷, destacando a extrema importância do tema. Para tanto, é fundamental tratar o biofilme como um arranjo social de células microbianas envolvidas por matriz de substâncias poliméricas extracelulares (*extracellular polymeric substances* – EPS) organizadas por meio do *quorum sensing*, formado pelo processo de adesão bacteriana^{8,9}. Sabe-se que os microrganismos raramente vivem em colônias de uma única espécie, ou seja, vivem em

comunidades¹⁰. As bactérias podem rapidamente colonizar superfícies sólidas que têm contato com a água, tanto em ambientes naturais quanto em artificiais e podem crescer de forma planctônica (livres) ou em agregados sésseis (aderidos), considerados importantes para a formação de biofilmes¹⁰⁻¹².

O biofilme, portanto, começa a se formar quando uma bactéria planctônica se fixa a uma superfície¹³, processo pouco explicado no documento discutido. Esse processo de fixação ocorre a partir do movimento *browniano* ou flagelar, superando as forças repulsivas eletrostáticas entre o substrato e a superfície bacteriana. O ancoramento entre as bactérias acontece por meio de estruturas de adesão celulares, conhecidas como *pili*. O tipo de biofilme a ser formado dependerá do meio ambiente ao qual a bactéria se aderir e formar microcolônias.

Nessa fase, as bactérias são envolvidas por uma matriz protetora e começam a expressar seu fenótipo de biofilme¹⁴⁻¹⁶. Nessa etapa, a hidrofobicidade bacteriana reduz a repulsão entre a matriz extracelular e a bactéria¹⁷. Diferentemente do inicial, o biofilme maduro é formado por microcolônias em EPS, composto de ácido desoxirribonucleico (DNA) extracelular, polissacarídeos, proteínas, fibra amiloide, permitindo a manutenção de nutrientes e orquestrando os gradientes de oxigênio e óxido nítrico da matriz^{9,11,18}.

Outro aspecto importante se refere à heterogeneidade bacteriana pouco discutida^{19,20}. A composição do biofilme pode variar de acordo com o tempo de formação da lesão, com o tipo de lesão, com os tipos de bactérias presentes no biofilme e público-alvo analisado, aspectos ausentes ou pouco discutidos no documento em análise. Além disso, as estratégias de detecção das bactérias do biofilme devem ser conduzidas de forma que os resultados sejam fidedignos. Em feridas crônicas, a maioria (78%) possui biofilme com importante heterogeneidade²¹. Em pacientes com lesões no pé decorrentes do diabetes mellitus, estudos demonstram a presença de colônia mista com bactérias anaeróbicas e aeróbicas²²⁻²⁵ indicando atividade social das bactérias (sociomicrobiologia)⁸.

O arranjo polimicrobiano garante a manutenção do biofilme. A bactéria aeróbica mais comumente envolvida na formação de biofilme em feridas crônicas é o *Staphylococcus aureus*, seguido por *Pseudomonas* spp. e *Escherichia coli*²²⁻²⁵, além das aeróbicas *Staphylococcus aureus*, resistente à metilicina (MRSA)²⁶; entre as bactérias anaeróbicas, podem ser citadas: *Bacteroides fragilis* e *Clostridium* spp²⁶⁻²⁸. Parece provável que a proliferação dessas bactérias anaeróbicas ocorre devido

ao consumo de oxigênio tissular pelas bactérias aeróbicas²⁹. Portanto, no caso de paciente com diabetes mellitus, a triagem da ferida com técnicas adequadas para o diagnóstico de biofilme e o antibiograma precisam ser realizados como um procedimento de rotina, com vistas ao planejamento de estratégias eficazes de tratamento³⁰.

B. Principais características das feridas crônicas e complexas

Segundo documento analisado¹, sabe-se que as feridas crônicas são um problema de saúde pública mundial, com impacto significativo na morbimortalidade e nos custos dos tratamentos. No entanto, o documento não prevê dados de prevalência e incidência globais dessas feridas e as estimativas são discordantes, uma vez que variam de acordo com o conceito utilizado e os pré-requisitos, que são considerados para cronicidade^{31,32}.

A definição de ferida crônica complexa é divergente. No Brasil, o conceito que vem sendo aplicado com maior frequência refere-se às feridas com duração maior que três meses em que há presença de infecção, tecidos inviáveis, cicatrização desordenada, além de associação a patologias sistêmicas, como o diabetes mellitus e as vasculites³³. No entanto, em consenso publicado em 2018, especialistas definiram como feridas crônicas as lesões que não evoluem com processo de cura normal, podendo ter sua cicatrização prejudicada decorrente da presença de doenças subjacentes³⁴.

Com relação às características das feridas crônicas, elas são marcadas pelo prolongamento do processo inflamatório, exibindo citocinas elevadas (IL-1 β , TNF- α), concentração elevada de metaloproteases (MMP2, MMP8, MMP9) e excesso de neutrófilos³⁵. Outros fatores estão envolvidos, como produção de toxinas bacterianas que contribuem para a degradação do colágeno, estado nutricional do paciente, idade, imunossupressão, medicamentos em uso e doenças concomitantes que podem influenciar na cronicidade da ferida³⁶.

A respeito da prevalência de feridas crônicas no Brasil e no mundo, é importante ressaltar a escassez de dados epidemiológicos comparáveis, existindo grande variação nas publicações acerca do tema³⁷. Em revisão sistemática recente³², os autores avaliaram a prevalência de úlceras de membros inferiores, lesões por pressão e úlceras em pacientes com diabetes mellitus, demonstrando prevalência estimada de 1,51 úlcera de perna por mil habitantes e de 2,21 por mil

habitantes para úlceras de várias etiologias. Em relação à idade, a maioria dos estudos descreve índices mais elevados nos pacientes com faixa etária entre 70–80 anos. No Brasil, dois estudos também recentes mostram prevalências de 5 e 10,3% para lesões por pressão, e de 8,5 e 3,2% para úlceras diabéticas, em pacientes hospitalizados³⁸ e em atenção primária³⁹, respectivamente.

Ainda quanto ao número limitado de estudos que analisam a prevalência de feridas crônicas no Brasil e no mundo, eles são geralmente realizados em grupos populacionais específicos, nem sempre incluindo feridas de etiologias comuns em países em desenvolvimento, como aquelas secundárias às doenças infecciosas como hanseníase.

Portanto, conhecer os dados epidemiológicos nacionais acerca das lesões e dos fatores que contribuem para retardo da cicatrização, sejam eles relacionados a microrganismos ou a comorbidades do paciente, é de extrema importância para realizar tanto uma abordagem diagnóstica correta quanto para instituir tratamento que permita debelar precocemente o biofilme, com vistas à atuação oportuna e eficaz.

C. Manejo preventivo com foco no controle de infecção

Nesse subitem do documento analisado, encontram-se algumas limitações importantes que comprometem a sua utilização como único material bibliográfico para referência, impondo-se divergências entre a literatura e o respectivo conteúdo do documento.

Para Snyder⁴⁰, associar a presença de biofilme ao retardo da cicatrização da ferida, mesmo quando o seu manejo é adequado, ainda é controverso e depende de resultados de pesquisas em andamento. O documento em análise, diferentemente do que afirma o autor citado⁴⁰, refere que o biofilme pode ser visualizado a olho nu, porém, esse fato não é 100% comprovado cientificamente; o diagnóstico é principalmente clínico e deve responder à presença de vários sinais clínicos^{4,5,41}.

Outro equívoco diz respeito a um estudo de Rhoads⁴², que atribui conteúdo sobre o tratamento de água nas instituições de saúde e limpeza dos materiais de curativo como estratégia de prevenção de infecção. Porém, o autor não trata desse tema e sim sobre uso de curativos com antimicrobianos, antissépticos e outros (lactoferrina, iodo, mel, xilitol, gálio, entre outros).

Além desses aspectos considerados críticos ao comprometerem a fidedignidade do documento em análise, os autores discutiram diversos tópicos que não fazem parte do conteúdo proposto pelo subitem, tais como técnicas de diagnóstico e caracterização do biofilme, adequados para o tratamento da ferida já infectada com suspeita de biofilme e não para a prevenção, embora a proposta fosse tratar dos aspectos de prevenção com foco no controle de infecções. Algumas ações, como o desbridamento foram citadas isoladamente, não representando a abordagem sistemática necessária para o tratamento adequado da ferida como apresentado em 2016 no documento de posicionamento da *World Union of Wound Healing Societies (WUWHS)*⁵ e no consenso da *International Wound Infection Institute (IWII)*².

No que se refere às estratégias para evitar a formação do biofilme, a literatura disponível destaca a necessidade

de impedir a fixação de microrganismos na ferida e, conseqüentemente, a formação de biofilme maduro, que se dá por meio de limpeza adequada do leito da ferida, remoção de tecidos inviáveis por meio da técnica de desbridamento e a abordagem sistemática da ferida com a estratégia TIME ou similares (Tecido inviável, Infecção ou inflamação, Manutenção da umidade e Epitelização das margens)^{5,6,40}. Devem-se adotar cuidados centrados no paciente, a fim de melhorar a habilidade de resistência à infecção, o controle da umidade, o controle da pressão arterial sistêmica e o edema local, contribuindo para a cicatrização da ferida bem como a redução da disponibilidade de nutrientes para formação do biofilme². No Tabela 1, é apresentada uma síntese das recomendações clínicas para identificação e tratamento do biofilme publicadas até a data, incluindo maiores detalhes sobre prevenção.

Tabela 1. Síntese das recomendações clínicas para tratamento de feridas com suspeita de biofilme

Recomendações clínicas	Fonte
1. Abordar as feridas crônicas com sistemática multimodal de diagnóstico precoce e tratamento, que inclua o uso simultâneo de várias terapias contra o biofilme, com otimização dos fatores contribuidores para o atraso na cicatrização (edema, doenças de base, nutrição, infecção de tecidos moles e osso, pressão) ⁴³ . Só interromper gradativamente as intervenções quando a ferida apresentar ritmo estável de cicatrização ^{4,40} .	Schultz, 2017 ⁴ Snyder, 2017 ⁴⁰ HSE-Nolan, 2018 ⁴³
2. Usar algoritmo de diagnóstico da presença de biofilme ⁵ que inclui os seguintes indicadores clínicos: falha terapêutica (tópica e sistêmica), atraso na cicatrização, presença de tecido de granulação de baixa qualidade (friável, hipergranulação), sinais de infecção > 30 dias, inflamação, material gelatinoso na superfície da ferida que se forma rapidamente apesar da limpeza/desbridamento, exsudato em grandes volumes. Na ausência de sinais clássicos de infecção, considerar o eritema de baixo grau como indicador ^{4,41} .	WUWHS-Bjarnsholt, 2016 ⁵ Schultz, 2017 ⁴ Keast, 2014 ⁴¹
3. Não usar o teste de cultura microbiológica para diagnóstico de presença de biofilme, pois é apenas indicador de bactérias planctônicas presentes no exsudato/superfície da lesão ^{5,40} . Realizar biópsia do tecido é considerado padrão ouro para identificação do biofilme ⁴ , pois técnicas mais específicas são necessárias para sua identificação (métodos moleculares baseados no reconhecimento de material genético e técnicas de ruptura da matriz polimérica). Na ausência da tecnologia, usar algoritmo de sinais clínicos de suspeita para diagnóstico ⁴ .	WUWHS-Bjarnsholt, 2016 ⁵ Snyder, 2017 ⁴⁰ Schultz, 2017 ⁴
4. Seguir modelo de preparo do leito, priorizando a limpeza constante, a remoção de tecido desvitalizado e o controle do exsudato, pois favorecem a adesão e proliferação do biofilme na superfície da ferida. Dar preferência a coberturas que favoreçam o constante desbridamento autolítico, gerenciando o exsudato.	WUWHS-Bjarnsholt, 2016 ⁵ Schultz, 2017 ⁴ Bianchi, 2016 ⁶
5. Remover o biofilme aplicando alguma técnica seriada de desbridamento. Essa é uma das estratégias mais importantes do manejo do biofilme, porém não deve ser realizada isoladamente, pois pode não remover 100% do biofilme e não previne nova formação ^{5,6,40} . Seguir o algoritmo ⁴⁴ que considera o uso das técnicas na seguinte ordem de importância: desbridamento mecânico, instrumental, biológico-larval, autolítico ou enzimático, hidrocirurgia ou ultrassom e cirúrgico. Os desbridamentos cirúrgico e instrumental têm fortes evidências de remoção do biofilme; os desbridamentos autolítico, mecânico e enzimático dependem da técnica ou produto; e o desbridamento biológico tem boas evidências <i>in vitro</i> ² . A escolha da técnica deve ser guiada pela avaliação do paciente e consideração das vantagens e desvantagens. Há controvérsias a respeito das evidências científicas disponíveis na comparação das técnicas ⁴³ . O uso simultâneo de mais de uma técnica pode melhorar o resultado.	WUWHS-Bjarnsholt, 2016 ⁵ Bianchi, 2016 ⁶ Snyder, 2017 ⁴⁰ EWMA-Strohal, 2013 ⁴⁴ Schultz, 2017 ⁴ IWII-Swanson, 2016 ² HSE-Nolan, 2018 ⁴³

....continua

Tabela 1. Continuação...

Recomendações clínicas	Fonte
6. Usar soluções antissépticas e coberturas antimicrobianas para a diminuição da carga microbiana (planctônica, principalmente) e prevenir nova formação do biofilme, após o desbridamento ^{2,4-6} . As soluções antissépticas devem ser utilizadas para preparar o leito da ferida antes do desbridamento e, assim, minimizar o risco de translocação microbiana a tecidos profundos.	WUWHS-Bjarnsholt, 2016 ⁴ Bianchi, 2016 ⁶ Schultz, 2017 ⁴ IWII-Swanson, 2016 ²
7. Usar instrumentos de avaliação de risco de infecção em feridas pode ser de grande relevância para tomada de decisão sobre o uso de soluções antissépticas e antimicrobianas ^{3,5} . Exemplo: W.A.R. (" <i>Wounds at Risk</i> " tool – ainda não traduzido e validado ao português do Brasil), que considera presença de comorbidades, uso de imunossupressores, etiologia, localização, extensão e duração da ferida, estado de contaminação, idade e higiene do paciente, como fatores de risco para colonização microbiana e justificativa para uso de antissépticos e antimicrobianos ⁴⁵ .	WUWHS-Bjarnsholt, 2016 ⁵ Kramer, 2017 ³ Dissemond, 2011 ⁴⁵
8. Usar antimicrobianos sistêmicos na presença de sinais clínicos de infecção profunda ou disseminada para diminuir a concentração de bactérias planctônicas nos tecidos profundos da ferida e prevenir infecções sistêmicas ⁵ . Não há evidências de que o tratamento sistêmico possa prevenir ou tratar o biofilme em feridas ^{4,40} . Iniciar tratamento empírico com o antibiótico mais específico possível para o caso, após identificação de sinais de infecção ⁴⁶ . A antibioticoterapia definitiva deve ser guiada por análise quantitativa microbiológica com teste de susceptibilidade, cujo diagnóstico de infecção é conferido à presença de ≥ 105 ufc/g de tecido profundo da ferida e não superficial (biópsia). A duração do antibiótico deve ser a menor necessária para controle de sintomas (uma a duas semanas para infecção de tecidos moles e seis semanas para osteomielite) ⁴⁶ . Se for realizada coleta de material por Swab, usar técnica de Levine ² . Evitar o uso de antibióticos tópicos por não serem adequados para tratar flora polimicrobiana, por ser difícil ajustar sua concentração e pelo risco de indução de resistência antibiótica ² .	WUWHS-Bjarnsholt, 2016 ⁵ Snyder, 2017 ⁴⁰ Schultz, 2017 ⁴ Lipsky, 2016 ⁴⁶ IWII-Swanson, 2016 ²
9. Utilizar produtos com tecnologia capaz de romper a matriz extracelular polimérica, que dá estrutura e protege os microrganismos presentes no biofilme, quebrar a ligação entre eles e a matriz e/ou interromper a comunicação entre os diversos microrganismos, expondo-os, para, assim, aplicar tratamento microbicida efetivo ^{40,47} . Exemplo: PHMB, gel de cloreto de benzetônio (surfactante de alta osmolaridade) ⁴⁰ , hipoclorito, cadexômero iodado, hidrofibra com prata, EDTA e cloreto de benzetônio ⁴⁸ .	Snyder, 2017 ⁴⁰ Wolcott, 2015 ⁴⁷ Parsons, 2016 ⁴⁸
10. Tratar tópica e sistematicamente a inflamação crônica da ferida.	WUWHS-Bjarnsholt, 2016 ⁵
11. Melhorar a competência imunológica do paciente.	WUWHS-Bjarnsholt, 2016 ⁵

D. Agentes antimicrobianos e antibiofilme

O documento afirma que existem estratégias de tratamento e prevenção, incluindo desbridamento e o uso de substâncias para a eliminação do biofilme, mas nenhuma é considerada totalmente eficaz, sendo que os principais cuidados devem ser focados na redução da carga microbiana e na prevenção da formação do biofilme. Como tal, embora adequada à recomendação, o conteúdo não é suficientemente abrangente ao não discutir em profundidade todos os produtos disponíveis no mercado brasileiro, carecendo também de melhor elucidação das informações.

Os consensos e guias de prática clínica internacionais concluem que o tratamento do biofilme não é possível após uma única intervenção ou produto, mas sim através de um conjunto de intervenções incluindo avaliação periódica^{4,5,40}. Diversas substâncias e tratamentos, existentes ou não no Brasil fazem parte de uma longa lista de agentes antibiofilmes, que devem ser mais bem discutidos, estão estes descritos no Tabela 2.

CONSIDERAÇÕES ADICIONAIS

Compostos de mercúrio orgânicos sozinhos são considerados antissépticos obsoletos³. Não foram localizados

estudos que sustentem o uso de *cranberry* e N-acetilcisteína (NAC) para prevenção ou controle de biofilme em feridas. O peróxido de hidrogênio ou água oxigenada (H₂O₂) é considerado obsoleto para uso em feridas pois, em concentrações a partir de 8,5 mg/L, já inibe a proliferação de

fibroblastos, enquanto as bactérias permanecem viáveis^{3,56}. É importante salientar que o H₂O₂ é formado em concentrações não citotóxicas em mel medicinal pela reação de glicose oxidase, mas esse efeito não é comparável ao H₂O₂ externo, quando aplicado puro e sozinho³.

Tabela 2. Relação de evidências científicas da ação antibiofilme de produtos e tratamentos para feridas de difícil cicatrização.

Antimicrobiano	Fonte	Tipo de Estudo	Síntese de evidências contra o biofilme
Polihexanida (poli(hexametileno biguanida) (PHMB)³ Solução: 0,1% e 0,2% Gel 0,1% Coberturas 0,2%, 0,3% e 0,5% Disponível no Brasil	Kramer, 2018 ³ EWMA-Gottrup, 2013 ⁴⁹ HSE-Nolan, 2018 ⁴³	Consenso Revisão sistemática Consenso	Ação contra biofilmes causados por <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> ⁴⁹ . Com propriedades alcalinas, este produto liga-se aos fosfolípidios presentes na parede celular bacteriana favorecendo sua destruição ^{43,49} .
PHMB/betaína - polihexanida com betaína Gel e solução a 0,1% de polihexanida e 0,1% de betaína Disponível no Brasil	WUWHS-Bjarnsholt, 2016 ⁵ Kramer, 2018 ³ IWII-Swanson, 2016 ² Bellingeri, 2016 ⁵⁰	Consenso Consenso Consenso Ensaio Clínico Aleatorizado	A ação da betaína (surfactante) impede a fixação do biofilme ao leito da lesão ^{2,50} e diminui a tensão superficial do meio, auxiliando na limpeza ^{2,3,5} .
Ácido acético (C₂H₄O₂) - AA Solução e cobertura a 0,25 a 2% Não disponível no Brasil	Bjarnsholt, 2015 ⁵¹ Madhusudhan, 2016 ⁵²	<i>In vitro e in vivo</i> Ensaio Clínico Aleatorizado	<i>In vitro</i> : concentração a 0,5% eliminou biofilme de <i>P. aeruginosa</i> e diminuiu a carga bacteriana de <i>S. aureus</i> em biofilme; a 1% eliminou completamente biofilme de <i>S. Aureus</i> e <i>P. aeruginosa</i> . <i>In vivo</i> : concentração a 1% associada a terapia por pressão negativa com instilação (NPTWI) foi eficaz contra biofilmes ⁵¹ . Curativos impregnados com ácido acético a 1% eliminaram <i>P. aeruginosa</i> de feridas crônicas ⁵² . Ainda não é claro o seu efeito diferenciado contra o biofilme.
Ácido cítrico Solução e cobertura a 3% Não disponível no Brasil	Malu, 2014 ⁵³ Watts, 2016 ⁵⁴	<i>In vivo</i> Consenso	Ação em feridas infectadas por <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Proteus</i> e <i>Klebsiella</i> ⁵³ (evidência nível B) ⁵⁴ . No entanto, faltam estudos que reportem a sua ação contra biofilmes.
Hipoclorito de sódio (NaOCl) / ácido hipocloroso (HOCl) Solução, solução <i>spray</i> e gel HOCl (0,04%) + NaOCl (0,06%) ³ HOCl - 0,033% ⁵⁵ NaOCl (Solutio de Dakin) - 0,125%, 0,025%, 0,05% ⁵⁶ , < 0,06% ³ Disponível no Brasil	IWII-Swanson, 2016 ² Kramer, 2018 ³ Day, 2017 ⁵⁵ Ueno, 2018 ⁵⁶	Consenso Consenso <i>In vitro e in vivo</i> Revisão	Penetra no biofilme causando sua destruição ^{2,3} . Apresenta ação contra biofilmes de <i>S. aureus</i> resistente à metilina (<i>MRSA</i>) e <i>P. aeruginosa</i> ⁵⁵ . Exerce atividade bactericida por ser agente oxidante ^{3,56} em concentração a 0,05%. Atualmente, ainda usado para o tratamento de Feridas infectadas em concentração de 0,125%. A depender da concentração, pode ser citotóxico para fibroblastos ⁵⁶ .

....continua

Tabela 2. Continuação...

Antimicrobiano	Fonte	Tipo de Estudo	Síntese de evidências contra o biofilme
Dicloridrato de octenidina (OCT) Solução e gel a 0,05% Não disponível no Brasil	Wounds UK-Booth, 2013 ⁵⁷ IWII-Swanson, 2016 ² EWMA-Gottrup, 2013 ⁴⁹ Kramer, 2018 ³	Consenso Consenso Consenso Consenso	Atua no gerenciamento de biofilme em feridas ⁵⁷ , especificamente na inibição de bactérias planctônicas e também em biofilmes bacterianos por até 72 horas ² . É ativo contra <i>P. aeruginosa</i> e <i>S. aureus</i> ⁴⁹ . Demonstrou melhor eficácia contra <i>P. aeruginosa</i> do que em <i>S. aureus</i> comparado a outros agentes antibiofilmes, porém há ressalvas na forma e período de aplicação ³ .
Dicloridrato de octenidina/fenoxietanol (OCT/PE) Solução e gel a 0,1% de OCT e 2% FE Não disponível no Brasil	Kramer, 2018 ³ Junka, 2014 ⁵⁸	Consenso <i>In vitro</i>	Demonstrou auxiliar na remoção de biofilme quando usado em gel, especificamente em queimaduras, já a solução pode ser utilizada em conjunto com a NPWT ³ . Atua especificamente sobre os polissacarídeos presentes na parede celular bacteriana causando vazamento de componentes citoplasmáticos e comprometimento de funções celulares. Erradicou 100% biofilme de <i>S. aureus</i> e <i>P. aeruginosa</i> , em 30 minutos de contato ⁵⁸ .
Digliconato de clorexidina (CHD) Sabonete, solução e solução <i>spray</i> Concentrações: 0,12%, 0,2%, 0,5%, 1%, 2% e 4% Disponível no Brasil	Touzel, 2016 ⁵⁹	<i>In vitro</i>	A solução a 0,12% não foi capaz de penetrar no biofilme bacteriano. Embeber cobertura e gaze de CDH a 0,5% foi eficaz na redução de biofilmes de <i>S. Aureus in vitro</i> e não apresentou resultados eficazes contra <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumoniae</i> e <i>E. faecalis</i> . A evidência deste produto para o tratamento de feridas crônicas é fraca ⁵⁹ e seu uso é considerado obsoleto ³ .
Prata Pó, solução e coberturas com diversas concentrações, entre elas: 25 µg/cm ² , 1,2% Ag iônica, 60 ppm (partículas por milhão) etc. Disponível no Brasil (pó e solução não disponíveis)	Percival, 2015 ⁶⁰ IWII-Swanson, 2016 ² Parsons, 2016 ⁴⁸	Revisão não sistemática Consenso <i>In vitro e in vivo</i>	Apresenta eficácia contra bactérias planctônicas (livres), em estudos <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> ⁶⁰ . A prata iônica em altas concentrações e a prata nanocristalina demonstram alguma eficácia contra o biofilme em modelos <i>in vitro</i> ⁶⁰ . Baixas concentrações de prata iônica são efetivas para a prevenção da nova formação do biofilme ^{2,60} . Prata iônica em associação a surfactantes (EDTA e BEC), hidrogéis, materiais fibrosos e polifosfatos apresentam potencial antibiofilme ^{2,43,60} .
Cadexômero de iodo Cobertura, pasta e pó Pasta: 0,9% Disponível no Brasil	Wounds UK-Booth ⁵⁷ WUWHS-Bjarnsholt, 2016 ⁵ Kramer, 2018 ³	Consenso Consenso Consenso	É ativo contra MRSA e atua prevenindo a formação do biofilme ⁵⁷ . Coberturas contendo cadexômero de iodo têm apresentado ação contra bactérias planctônicas e biofilmes bacterianos ^{3,5} de <i>S. aureus</i> e <i>P. aeruginosa</i> ³ .

...continua

Tabela 2. Continuação...

Antimicrobiano	Fonte	Tipo de Estudo	Síntese de evidências contra o biofilme
Polivinil pirrolidina iodo (PVPI) Solução aquosa de 1%, 7,5% e 10% Disponível no Brasil	Junka, 2014 ⁵⁸ Oliveira e Santos, 2008 ⁶¹	<i>In vitro</i> Revisão sistemática	Solução a 7,5% em contato por 15 minutos erradicou 33% de <i>P. aeruginosa</i> e 100% de <i>S. aureus</i> . Já pelo período de 30 minutos, erradicou 66% <i>P. aeruginosa</i> e 100% de <i>S. aureus</i> , ambos em biofilme ⁵⁸ . Revisão sistemática encontrou que três de cada cinco ensaios clínicos mostraram-se favoráveis ao seu uso para cicatrização e prevenção de infecção, porém sem comprovação por metanálise ⁶¹ .
Lactato de etacredina Solução aquosa 0,1% Não disponível no Brasil	Junka, 2014 ⁵⁸	<i>In vitro</i>	A solução não erradicou biofilme de <i>P. aeruginosa</i> em 30 minutos de contato, no entanto erradicou 100% do biofilme de <i>S. aureus</i> ⁵⁸ .
Enzimas proteolíticas Gel, creme e pó. Concentração a depender da manipulação farmacêutica: 2 - 10% Disponível no Brasil	EWMA-Gottrup, 2013 ⁴⁹ Watters, 2016 ⁶²	Consenso <i>In vitro</i>	Enzimas de origem animal, vegetal ou bacterianas (papaína, colagenase, estreptoquinase, bromelina e fibrinolizina) atuam no desbridamento de tecido não viável através da hidrólise das ligações peptídicas ⁴⁹ . A α -amilase, a bromelina, a lisostapina e a papaína mostraram-se eficazes para erradicação do biofilme de <i>S. aureus</i> , uma vez que diminuem a biomassa do biofilme, ocasionando dano celular bacteriano por alteração da sua morfologia ⁶² .
Cloreto de dialquil carbamoilo (DACC) Cobertura impregnada Disponível no Brasil	Totty, 2017 ⁶³ Wounds UK-Booth ⁵⁷ WUWHS-Bjarnsholt, 2016 ⁵	Revisão sistemática Consenso	Tem mostrado resultados promissores no tratamento de feridas infectadas ⁶³ . É considerado um antimicrobiano passivo com atividade antibiofilme, visto que atrai a carga microbiana do leito da lesão para o curativo ^{5,57} .
EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) Coberturas impregnadas Disponível no Brasil	Finnegan, 2015 ⁶⁴ WUWHS-Bjarnsholt, 2016 ⁵ IWII-Swanson, 2016 ²	Revisão Consenso Consenso	Rompe a matriz extrapolimérica do biofilme favorecendo a ação dos antimicrobianos tópicos ^{5,64} e, combinado a outros componentes antimicrobianos, como prata iônica, atua em sinergia no combate ao biofilme ² .
Mel medicinal Gel, pasta, coberturas Classificação de qualidade pela Único Fator Manuka: 5-26 pontos ⁶⁵ Não disponível no Brasil	IWII-Swanson, 2016 ² Wounds UK- Booth ⁵⁷ EWMA-Gottrup, 2013 ⁴⁹	Consenso Consenso Consenso	Desestabiliza e impede a formação do biofilme ^{2,57} e inibe o <i>quorum sensing</i> ² . Impede a divisão celular em <i>Staphylococcus</i> e destrói membranas celulares de pseudomonas. Possui atividade antibiofilme para <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> e MRSA ⁴⁹ . <i>Não pode ser confundido com o mel comum. O mel medicinal mais utilizado é o Manuka, por ser esterilizado por radiação gama e ter estrito controle de qualidade.</i>

....continua

Tabela 2. Continuação...

Antimicrobiano	Fonte	Tipo de Estudo	Síntese de evidências contra o biofilme
Azul de metileno (MB) e violeta de genciana (GV) Cobertura de MB + GV Não disponível no Brasil	Edwards, 2014 ⁶⁶ Woo, 2014 ⁶⁷	<i>In vitro</i> Revisão	Corantes orgânicos com potencial de interferir no metabolismo das bactérias, especificamente no ciclo de oxidação-redução (redox), levando à sua destruição. No entanto, sua ação em biofilmes ainda necessita ser comprovada ⁶⁶ . Possuem amplo espectro de ação incluindo MRSA ⁶⁷ .
Lactoferrina e xilitol Hidrogel Não disponível no Brasil	Ammons, 2011 ⁶⁸ WUWHS-Bjarnsholt, 2016 ⁵	<i>In vitro</i> Consenso	Hidrogel contendo lactoferrina e xilitol combinado com cobertura de prata nanocristalina demonstrou eficácia contra biofilmes de MRSA e <i>P. aeruginosa</i> ⁶⁸ . Tem ação antibiofilme, pois a lactoferrina adere à parede celular causando sua desestabilização e morte, o xilitol interfere no metabolismo das bactérias, levando à sua destruição ⁵ .
Gálio Quelante de ferro deferiprona (Def) e análogo de heme gálio-protoporfirina (GaPP) Não disponível no Brasil	Richter, 2017 ⁶⁹ WUWHS-Bjarnsholt, 2016 ⁵	<i>In vitro</i> Consenso	O Def atua como quelante de ferro na membrana bacteriana e o GaPP atua como análogo do ferro. Foram testados ⁶⁹ : 1) Gel contendo Def; 2) Gel contendo GaPP. Ambos demonstraram ação contra biofilmes de <i>Staphylococcus</i> ; 3) A combinação de Def-GaPP foi eficaz contra biofilmes de <i>P. aeruginosa</i> ; 4) A combinação de Def-GaPP e ciprofloxacino foi eficaz contra diferentes cepas de MDR. Gálio tem mostrado resultados positivos na prevenção de biofilme ⁵ .
Bacteriófagos/Fagos Fagoterapia Não disponível no Brasil	Flores, 2010 ⁷⁰ Rhoads, 2009 ⁷¹	Revisão não sistemática Estudo experimental <i>in vivo</i>	São vírus que infectam unicamente bactérias e atuam como predadores naturais. Têm poder de penetrar em biofilmes induzindo a produção de enzimas que degradam a matriz EPS ⁷⁰ . Estudo de fase 1 relatou segurança de um bacteriófago específico contra <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i> em pacientes com úlcera venosa de perna ⁷¹ .
Óleos essenciais (OE) Solução oleosa Disponível no Brasil	García-Salinas, 2018 ⁷² Sharifi, 2018 ⁷³	<i>In vitro</i> <i>In vitro</i>	Rompem a membrana de bactérias planctônicas. A combinação de compostos de OE em concentração acima de 0,5 mg/mL impediu a formação de biofilme e eliminou o biofilme pré-formado de <i>S. aureus</i> ⁷² . Resultado positivo na prevenção de biofilmes e também na eliminação de biofilmes de <i>S. aureus</i> ⁷³ .

...continua

Tabela 2. Continuação...

Antimicrobiano	Fonte	Tipo de Estudo	Síntese de evidências contra o biofilme
Aminoácidos (triptofano) Não disponível no Brasil	Courrol, 2019 ⁷⁴ Brandenburg, 2013 ⁷⁵	<i>In vitro</i> <i>In vitro</i>	Estudo <i>in vitro</i> testou nanopartícula de prata e triptofano (TrpAgNP). Esse composto infiltra-se na parede celular bacteriana em estado planctônico e na matriz EPS de biofilme ocasionando dano e morte celular. Mostrou-se eficaz contra <i>S. aureus</i> e <i>S. epidermidis</i> e contra biofilmes de <i>E. coli</i> ⁷⁴ . Aumentou a motilidade flagelar das bactérias, induzindo o seu desprendimento do biofilme e mostrou resultado eficaz contra biofilme de <i>P. aeruginosa</i> ⁷⁵ .
Campo magnético rotatório (RMF) Sistema Disponível no Brasil	Junka, 2018 ⁷⁶ Bandara, 2015 ⁷⁷	<i>In vitro</i> <i>In vitro</i>	O RMF (10-50 Hz) aliado ao uso de antimicrobianos reduziu em 50% a formação e a massa de biofilme de <i>S. aureus</i> e <i>P. aeruginosa</i> , demonstrando qualidades adjuvantes no tratamento de feridas ⁷⁶ . Apresenta resultados significativos para destruir e impedir a formação do biofilme de <i>P. aeruginosa</i> ⁷⁷ .
Terapia por pressão negativa Sistema Disponível no Brasil	Kramer, 2017 ³ Kim, 2013 ⁷⁸ Tahir et al., 2018 ⁷⁹ ESCMID Biofilm Guideline- Høiby et al., 2015 ⁸⁰	Consenso Consenso <i>In vitro</i> Consenso	Pode contribuir na remoção do biofilme quando usada na modalidade instilação com ou sem antisséptico, imerso no leito da ferida por um determinado período e, posteriormente, drenando o fluido ao ativar a pressão negativa ^{3,80} . Grau de recomendação CIII pela ESCMID ⁸⁰ . A atividade contra o biofilme depende do uso de soluções antissépticas ⁷⁸ . A instilação por si só altera a arquitetura do biofilme reduzindo sua espessura e massa, porém não afeta a viabilidade celular bacteriana contra <i>P. aeruginosa</i> e <i>S. aureus</i> ⁷⁹ .
Tratamento ultrassônico Sistema Disponível no Brasil	Seth, 2013 ⁸¹ Rastogi, 2019 ⁸² EWMA-Strohal, 2013 ⁴⁴ HSE-Nolan, 2018 ⁴³ Murphy et al., 2018 ⁸³	<i>In vivo</i> - modelo animal Ensaio Clínico Aleatorizado Guia de prática clínica Consenso Consenso Ensaio Clínico Aleatorizado	O mecanismo de ação sobre o biofilme não está completamente elucidado, no entanto observou-se a diminuição da carga bacteriana ^{81,82} e da matriz EPS de biofilme de <i>P. aeruginosa</i> ⁸¹ . Produz microbolhas na superfície da ferida, que desprendem o biofilme do leito da lesão ⁴⁴ . Método seguro e que pode ser utilizado como adjuvante no tratamento de feridas crônicas com grau A de evidência da recomendação HSE ⁴³ . Sugere-se que aumenta a susceptibilidade do biofilme à penetração dos antimicrobianos, estimulando o aumento do seu metabolismo ⁸³ .
Ozonioterapia Sistema Disponível no Brasil	Fitzpatrick, 2018 ⁸⁴	Revisão sistemática	Oxida lipoproteínas e fosfolipídios presentes nas membranas das paredes bacterianas causando danos irreversíveis. A ação da ozonioterapia em biofilmes ainda não está elucidada ⁸⁴ .

...continua

Tabela 2. Continuação...

Antimicrobiano	Fonte	Tipo de Estudo	Síntese de evidências contra o biofilme
Terapia Larval Larvas esterilizadas da espécie <i>Lucilia sericata</i> Disponível no Brasil	EWMA-Strohal, 2013 ⁴⁴	Consenso	Tem ação contra biofilme visto que desbrida o tecido desvitalizado do leito da lesão. Atua principalmente contra espécies de bactérias Gram-negativas, principalmente <i>E. coli</i> ⁴⁴ .
Hidrocirurgia Sistema Disponível no Brasil	EWMA-Strohal, 2013 ⁴⁴	Consenso	A irrigação intensa e rápida da ferida é capaz de remover tecidos inviáveis e biofilme. Ainda pode ser considerada potencializadora da ação de soluções antissépticas quando utilizadas em conjunto ⁴⁴ .

CONCLUSÕES

Conclui-se que a “1ª Recomendação brasileira para o gerenciamento de biofilme em feridas crônicas e complexas” é resultado de uma iniciativa que responde à necessidade atual no Brasil de adaptação de recomendações internacionais para o manejo de feridas infectadas com suspeita de biofilme. Porém, não se recomenda seu uso como guia de recomendações clínicas uma vez que necessita de profunda revisão, adequação metodológica e bibliográfica. Dessa forma, sugerem-se a tradução e a validação de um algoritmo para manejo do biofilme, seguindo os últimos

consensos internacionais, para auxiliar o profissional clínico na tomada de decisão.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Idealização, Santos VLCC; Avaliação crítica inicial, Beteloto-Silva O, Coelho MF, Queiroz WMS e González CVS; Metodologia, González CVS; Revisão da literatura – Primeira Redação, Beteloto-Silva O, de Souza DMST, Coelho MF, Queiroz WMS, Thum M e González CVS; Escrita – Revisão e Edição, González CVS, Thum M; Ramalho AO; Beteloto-Silva O e Coelho MF; Supervisão, Nogueira PC; de Souza DMST e Santos VLCC.

REFERÊNCIAS

- Rama D, Fonseca B, Blanck M. 1a Recomendação Brasileira para o gerenciamento de biofilme em feridas crônicas e complexas - 2018. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira em Feridas e Estética; 2018. p. 20.
- Swanson T, Angel D, Sussman G, Cooper R, Haesler E, Ousey K, et al. Wound infection in clinical practice: Principles of best practice. International Wound Infection Institute; 2016.
- Kramer A, Dissemond J, Kim S, Willy C, Mayer D, Papke R, et al. Consensus on Wound Antisepsis: Update 2018. Skin Pharmacology and Physiology. 2018;31(1):28-58. <https://doi.org/10.1159/000481545>
- Schultz G, Bjarnsholt T, James GA, Leaper DJ, McBain AJ, Malone M, et al. Consensus guidelines for the identification and treatment of biofilms in chronic nonhealing wounds. Wound Repair Regen. 2017;25(5):744-57. <https://doi.org/10.1111/wrr.12590>
- Bjarnsholt T, Cooper R, Fletcher J, Fromantin I, Kirketerp-Møller K, Malone M, et al. Position Document: Management of Biofilm. Wounds International. 2016.
- Bianchi T, Wolcott RD, Peghetti A, Leaper D, Cutting K, Polignano R, et al. Recommendations for the management of biofilm: a consensus document. J Wound Care. 2016;25(6):305-17. <https://doi.org/10.12968/jowc.2016.25.6.305>
- Conserton J, Lewandowski Z, Debeer D, Caldwell D, Korber D, James G. Biofilms, the customized microniche. Journal of Bacteriology. American Society for Microbiology. 1994;176(8):2137-142.
- Parsek MR, Greenberg E. Sociomicrobiology: The connections between quorum sensing and biofilms. Trends Microbiol. 2005;13(1):27-33. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.11.007>
- McDougald D, Rice S, Barraud N, Steinberg P, Kjelleberg S. Should we stay or should we go: Mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal. Nat Rev Microbiol. 2012;10(1):39-50. <https://doi.org/doi.org/10.1038/nrmicro2695>
- Costerton JW, Cheng K, Geesey G, Ladd T, Nickel J, Dasgupta M, et al. Bacterial Biofilms In Nature And Disease. Annu Rev Microbiol. 1987;41(1):435-64. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.41.100187.002251>

11. Bjarnsholt T. The role of bacterial biofilms in chronic infections. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand*. 2013;121(136):1-51. <https://doi.org/10.1111/apm.12099>
12. Dang H, Lovell C. Bacterial primary colonization and early succession on surfaces in marine waters as determined by amplified rRNA gene restriction analysis and sequence analysis of 16S rRNA genes. *Appl Environ Microbiol*. 2000;66(2):467-75.
13. Tortora G, Funke B, Case C. *Microbiologia*. 10a ed. Porto Alegre: Artmed; 2012. p. 970.
14. Busscher H, Van Der Mei H. Physico-chemistry of initial microbial Adhesion. *Adv Dent Res*. 1997;11(1):24-32. <https://doi.org/10.1177/08959374970110011301>
15. Lejeune P. Contamination of abiotic surfaces: what a colonizing bacterium sees and how to blur it. *Trends Microbiol*. 2003;11(4):179-84. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(03\)00047-7](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(03)00047-7)
16. Friedman L, Kolter R. Genes involved in matrix formation in *Pseudomonas aeruginosa* PA14 biofilms. *Mol Microbiol*. 2004;51(3):675-90. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03877.x>
17. Das MP. Effect of cell surface hydrophobicity in microbial biofilm formation. *Eur J Exp. Biol*. 2014;4(2):254-6.
18. Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol*. 2010;8(9):623-33. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2415>
19. Thomason CH. Biofilms: do they affect wound healing? *Int Wound J*. 2011;8(1):63-7. <https://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2010.00749.x>
20. Malic S, Hill K, Playe R, Thomas D, Williams D. In vitro interaction of chronic wound bacteria in biofilms. *J Wound Care*. 2011;20(12):569-77. <https://doi.org/10.12968/jowc.2011.20.12.569>
21. Malone M, Bjarnsholt T, McBain A, James GA, Stoodley P, Leaper D, et al. The prevalence of biofilms in chronic wounds: a systematic review and meta-analysis of published data. *J Wound Care*. 2017;26(01):20-5. <https://doi.org/10.12968/jowc.2017.26.1.20>
22. Citron DM, Goldstein EJC, Merriam CV, Lipsky BA, Abramson MA. Bacteriology of moderate-to-severe diabetic foot infections and in vitro activity of antimicrobial agents. *J Clin Microbiol*. 2007;45(9):2819-28. <https://doi.org/10.1128/JCM.00551-07>
23. Kadir KAA, Satyavani M, Pande K. Bacteriological study of diabetic foot infections. *Brunei Int Med J*. 2012;8(1):19-26. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2004.06.001>
24. Shanmugam P, Jeya M, Susan L. The bacteriology of diabetic foot ulcers, with a special reference to multidrug resistant strains. *J Clin Diagnostic Res*. 2013;7(3):441-5. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/5091.2794>
25. Ramani A, Ramani R, Shivananda P, Kundaje G. Bacteriology of diabetic foot ulcers. *Indian J Pathol Microbiol*. 1991;34(2):81-7.
26. Rouhipour N, Hayatshahi A, Nikoo MK, Yasdi NM, Heshmat R, Qorbani M, et al. Clinical microbiology study of diabetic foot ulcer in Iran; pathogens and antibacterial susceptibility. *African J Microbiol Res*. 2012;6(27):5601-608.
27. Sun Y, Smith E, Wolcott R, Dowd S. Propagation of anaerobic bacteria within an aerobic multi-species chronic wound biofilm model. *J Wound Care*. 2009;18(10):426-31. <https://doi.org/10.12968/jowc.2009.18.10.44604>
28. Dapa T, Leuzzi R, Ng YK, Baban ST, Adamo R, A KS, et al. Multiple factors modulate biofilm formation by the anaerobic pathogen *Clostridium difficile*. *J Bacteriol*. 2013;195(3):545-55. <https://doi.org/10.1128/JB.01980-12>
29. James GA, Zhao AG, Usui M, Underwood RA, Nguyen H, Beyenal H, et al. Microsensor and transcriptomic signatures of oxygen depletion in biofilms associated with chronic wounds. *Wound Repair Regen*. 2016;24(2):373-83. <https://doi.org/10.1111/wrr.12401>
30. Banu A, Hassan MMN, Rajkumar J, Srinivasa S. Spectrum of bacteria associated with diabetic foot ulcer and biofilm formation: A prospective study. *Australas Med J*. 2015;8(9):280-85. <https://doi.org/10.4066/AMJ.2015.2422>
31. Powers JG, Higham C, Broussard K, Phillips TJ. Wound healing and treating wounds Chronic wound care and management. *J Am Acad Dermatol*. 2016;74(4):607-25. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2015.08.070>
32. Martinego L, Olsson M, Bajpai R, Soljak M, Upton Z, Schmidtchen A, et al. Prevalence of chronic wounds in the general population: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Ann Epidemiol*. 2019;29:8-15. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2018.10.005>
33. Werdin F, Tennenhaus M, Schaller HE, Rennekampff HO. Evidence-based management strategies for treatment of chronic wounds. *Eplasty*. 2009;9:169-79.
34. Russel D, Dowsett C, Fatoye F, Gardner S, Green J, Manu C, et al. Using a modified Delphi methodology to gain consensus on the use of dressings in chronic wounds management. *J Wound Care*. 2018;27(3):156-65. <https://doi.org/10.12968/jowc.2018.27.3.156>
35. Armstrong DG, Jude EB. The Role of Matrix Metalloproteinases in Wound Healing. *J Am Podiatr Med Assoc*. 2002;92(1):12-8. <https://doi.org/10.7547/87507315-92-1-12>
36. Rahim K, Seleha S, Zhu X, Huo L, Basit A, Franco OL. Bacterial contribution in chronicity of wounds. *Microb Ecol*. 2017;73(3):710-21. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0867-9>
37. Evangelista DG, Magalhães ERM, Moretão DIC, Stival MM, Lima LR. Impacto das feridas crônicas na qualidade de vida de usuários da estratégia de saúde da família. *R Enferm Cent O Min*. 2012;2(2):254-63.
38. Galvão NS, Neto DL, Oliveira APP. Aspectos epidemiológicos e clínicos de pacientes com úlcera por pressão internados em uma instituição hospitalar. *ESTIMA, Braz. J. Enterostomal Ther*. 2015;13(3).
39. Vieira CPB, Araújo TME. Prevalence and factors associated with chronic wounds in older adults in primary care. *Rev Esc Enferm USP*. 2018;52(e03415):1-8. <https://doi.org/10.1590/s1980-220x2017051303415>
40. Snyder RJ, Bohn G, Hanft J, Harkless L, Kim P, Lavery L, et al. Wound Biofilm: Current perspectives and strategies on biofilm disruption and treatments. *Wounds*. 2017;29(6 Suppl):S1-17.

41. Keast D, Swanson T, Carville K, Fletcher J, Schultz G, Black J. Ten top tips... Understanding and managing wound biofilm. *Wounds Int.* 2014;5(5):20-4.
42. Rhoads DD, Wolcott RD, Percival SL. Biofilms in wounds: management strategies. *J Wound Care.* 2008;17(11):502-8. <https://doi.org/10.12968/jowc.2008.17.11.31479>
43. Nolan M. HSE National Wound Management Guidelines 2018. Dublin; 2018. p. 367.
44. Strohal R, Dissemond J, O'Brien JJ, Piaggese A, Rimdeika R, Young T, et al. EWMA Document: Debridement: An updated overview and clarification of the principle role of debridement. *J Wound Care.* 2013;22(1):S1-52. <https://doi.org/10.12968/jowc.2013.22.Sup1.S1>
45. Dissemond J, Assadian O, Gerber V, Kingsley A, Kramer A, Leaper D, et al. Classification of wounds at risk and their antimicrobial treatment with polihexanide: A practice-oriented expert recommendation. *Skin Pharmacol Physiol.* 2011;24:245-55. <https://doi.org/10.1159/000327210>
46. Lipsky BA, Dryden M, Gottrup F, Nathwani D, Seaton RA, Stryja J. Antimicrobial stewardship in wound care: A position paper from the british society for antimicrobial chemotherapy and European wound management association. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71:3026-035. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw287>
47. Wolcott R. Disrupting the biofilm matrix improves wound healing outcomes. *J Wound Care.* 2015;24(8):366-71. <https://doi.org/10.12968/jowc.2015.24.8.366>
48. Parsons D, Meredith K, Rowlands VJ, Short D, Metcalf DG, Bowler PG. Enhanced performance and mode of action of a novel antibiofilm Hydrofiber® wound dressing. *Biomed Res Int.* 2016;16:1-14. <https://doi.org/10.1155%2F2016%2F7616471>
49. Gottrup F, Apelqvist J, Bjarnsholt T, Cooper R, Moore Z, Peters EJG, et al. EWMA Document: Antimicrobials and Non-healing Wounds Evidence, controversies and suggestions. *J Wound Care.* 2013;22(5 Suppl.):S1-92. <https://doi.org/10.12968/jowc.2013.22.Sup5.S1>
50. Bellingeri A, Falciani F, Trapedini P, Moscatelli A, Russo A, Tino G, et al. Effect of a wound cleansing solution on wound bed preparation and inflammation in chronic wounds: a single-blind RCT. *J Wound Care.* 2016;25(3):160-8. <https://doi.org/10.12968/jowc.2016.25.3.160>
51. Bjarnsholt T, Alhede M, Jensen PO, Nielsen AK, Johansen HK, Homoe P, et al. Antibiofilm properties of acetic acid. *Adv wound care.* 2015;4(7):363-72. <https://doi.org/10.1089/wound.2014.0554>
52. Madhusudhan VL. Efficacy of 1% acetic acid in the treatment of chronic wounds infected with *Pseudomonas aeruginosa*: prospective randomised controlled clinical trial. *Int Wound J.* 2016;13:1129-136. <https://doi.org/10.1111/iwj.12428>
53. Malu RG, Nagoba BS, Jaju CR, Suryawanshi MM, Mali SA, Goyal VS, et al. Topical use of citric acid for wound bed preparation. *Int Wound J.* 2016;13(5):709-12. <https://doi.org/10.1111/iwj.12351>
54. Watts R, Frehner E. Evidence Summary: Wound management-low resource communities: citric acid as a topical antiseptic. *Wound Pract Res.* 2016;24(3):184-6.
55. Day A, Alkhalil A, Carney BC, Hoffman HN, Moffatt LT, Shupp JW. Disruption of biofilms and neutralization of bacteria using hypochlorous acid solution: An in vivo and in vitro evaluation. *Adv Ski Wound Care.* 2017;30(12):543-51. <https://doi.org/10.1097/01.ASW.0000526607.80113.66>
56. Ueno CM, Mullens CL, Luh JH, Wooden WA. Historical review of Dakin's solution applications. *J Plast Reconstr Anesth Surg.* 2018;71(9):e49-e55. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2018.05.023>
57. Booth S, Chadwick P, Cooper R, Kingsley A, Ousey K, Tickle J. Best practice statement: The use of topical antimicrobial agents in wound management [Internet]. London; 2013. Available from: www.wounds-uk.com
58. Junka A, Bartoszewicz M, Smutnicka D, Secewicz A, Szymczyk P. Efficacy of antiseptics containing povidone-iodine, octenidine dihydrochloride and ethacridine lactate against biofilm formed by *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* measured with the novel biofilm-oriented antiseptics test. *Int Wound J.* 2014;11(6):730-34. <https://doi.org/10.1111/iwj.12057>
59. Touzel RE, Sutton JM, Wand ME. Establishment of a multi-species biofilm model to evaluate chlorhexidine efficacy. *J Hosp Infect.* 2016;92:154-60. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2015.09.013>
60. Percival SL, McCarty SM. Silver and alginates: Role in wound healing and biofilm control. *Adv Wound Care.* 2015;4(4):407-14. <https://doi.org/10.1089/wound.2014.0541>
61. Oliveira A dos S, Santos VLC de G. Uso de iodóforo tópico em feridas agudas [Internet]. Vol. 42, *Rev Esc Enferm USP.* 2008 [cited 2019 Jul 10]. Available from: www.ee.usp.br/reeusp/193
62. Watters CM, Burton T, Millenbaugh NJ. Enzymatic degradation of in vitro *Staphylococcus aureus* biofilms supplemented with human plasma. *Infect Drug Resist.* 2016;9:71-8. <https://doi.org/10.2147/IDR.S103101>
63. Totty JP, Bua N, Smith GE, Harwood AE, Carradice D, Wallace T, et al. Dialkylcarbonyl chloride (DACC)-coated dressings in the management and prevention of wound infection: a systematic review. *J Wound Care.* 2017;26(3):107-14. <https://doi.org/10.12968/jowc.2017.26.3.107>
64. Finnegan S, Percival SL. EDTA: An antimicrobial and antibiofilm agent for use in wound care. *Adv Wound Care.* 2015;4(7):415-21. <https://doi.org/10.1089/wound.2014.0577>
65. Unique Manuka Factor Honey Association New Zeland. Grading System Explained UMF [Internet]. 2019 [cited 2019 Jul 10]. Available from: <https://umfhwadpress.azurewebsites.net/grading-system-explained/>
66. Edwards K. New twist on an old favorite: Gentian violet and methylene blue antibacterial foams. *Adv Wound Care.* 2014;5(1):11-8. <https://doi.org/10.1089/wound.2014.0593>
67. Woo KY, Alam T, Marin J. Topical antimicrobial toolkit for wound infection. *Surg Technol Int.* 2014;25:45-52.
68. Ammons MC, Ward LS, James GA. Anti-biofilm efficacy of a lactoferrin/xylitol wound hydrogel used in combination with silver wound dressings. *Int Wound J.* 2011;8(3):268-73. <https://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2011.00781.x>

69. Richter K, Thomas N, Claeys J, McGuane J, Prestidge CA, Coenye T, et al. A topical hydrogel with deferiprone and gallium-protoporphyrin targets bacterial iron metabolism and has antibiofilm activity. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(6):e00481-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.00481-17>
70. Flores J, Baylina P, Balcão V, Justiniano A, Gibbs P. Especial - Infecção Associada à Prática de Cuidados de Saúde. *Cadernos de Saúde.* 2010;3:107-8.
71. Rhoads DD, Wolcott RD, Kuskowski MA, Wolcott BM, Ward LS, Sulakvelidze A. Bacteriophage therapy of venous leg ulcers in humans: results of a phase I safety trial. *J Wound Care.* 2009;18(6):237-43. <https://doi.org/10.12968/jowc.2009.18.6.42801>
72. García-Salinas S, Elizondo-Castillo H, Arruebo M, Mendoza G, Irusta S. Evaluation of the antimicrobial activity and cytotoxicity of different components of natural origin present in essential oils. *Molecules.* 2018;23(6):E1339. <https://doi.org/10.3390/molecules23061399>
73. Sharifi A, Mohammadzadeh A, Salehi TZ, Mahmoodi P. Antibacterial, anti-biofilm and anti-quorum sensing effects of *Thymus daenensis* and *Satureja hortensis* essential oils against *Staphylococcus aureus* isolates. *J Appl Microbiol.* 2018;124(2):379-88. <https://doi.org/10.1111/jam.13639>
74. Courrol D dos S, Lopes CRB, Pereira CBP, Franzolin MR, Silva FR de O, Courrol LC. Tryptophan silver nanoparticles synthesized by photoreduction method: Characterization and determination of bactericidal and anti-biofilm activities on resistant and susceptible bacteria. *Int J Tryptophan Res.* 2019;12:1-8. <https://doi.org/10.1177/1178646919831677>
75. Brandenburg KS, J RK, McAnulty JF, Murphy CJ, Abbott NL, Schurr MJ, et al. Tryptophan inhibits biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(4):1921-925. <https://doi.org/10.1128/AAC.00007-13>
76. Junka AF, Rakoczy R, Szymczyk P, Bartoszewicz M, Sedghizadeh PP, Fijalkowski K. Application of rotating magnetic fields increase the activity of antimicrobials against wound biofilm pathogens. *Sci Rep.* 2018;8:167. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18557-7>
77. Bandara HMM, Nguyen D, Mugarala S, Osiński M, Smyth HD. Magnetic fields suppress *Pseudomonas aeruginosa* biofilms and enhance ciprofloxacin activity. *Biofouling J Bioadhesion Biofilm Res.* 2015;31(5):443-57. <https://doi.org/10.1080/08927014.2015.1055326>
78. Kim PJ, Attinger CE, Steinberg JS, Evans KK, Lehner B, Willy C, et al. Negative Pressure Wound Therapy with Instillation: International Consensus Guidelines. *Plast Reconstr Surg.* 2013;132(6):1569-79. <https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3182a80586>
79. Tahir S, Malone M, Hu H, Deva A, Vickery K. The effect of negative pressurewound therapy with and without instillation on mature biofilms in vitro. *Materials (Basel).* 2018;11(5):1-11. <https://doi.org/10.3390/ma11050811>
80. Høiby N, Bjarnsholt T, Moser C, Bassi GL, Coenye T, Donelli G, et al. ESCMID- guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(S1):S1-25. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2014.10.024>
81. Seth AK, Nguyen KT, Geringer MR, et al. Noncontact, low-frequency ultrasound as an effective therapy against *Pseudomonas aeruginosa*-infected biofilm wounds. *Wound Repair Regen.* 2013;21(2):266-74. <https://doi.org/10.1111/wrr.12000>
82. Rastogi A, Bhansali A, Ramachandran S. Efficacy and Safety of Low-Frequency, Noncontact Airborne Ultrasound Therapy (Glybetac) For Neuropathic Diabetic Foot Ulcers: A Randomized, Double-Blind, Sham-Control Study. *Int J Low Extrem Wounds.* 2019;18(1):81-8. <https://doi.org/10.1177/1534734619832738>
83. Murphy CA, Houghton P, Brandys T, Rose G, Bryant D. The effect of 22.5 kHz low-frequency contact ultrasound debridement (LFCUD) on lower extremity wound healing for a vascular surgery population: A randomised controlled trial. *Int Wound J [Internet].* 2018 Jun;15(3):460-72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29334176>
84. Fitzpatrick E, Holland OJ, Vanderlelie JJ. Ozone therapy for the treatment of chronic wounds: A systematic review. *Int Wound J.* 2018;15(4):633-44. <https://doi.org/10.1111/iwj.12907>