

Formação do biofilme em ferida cutânea e seu comportamento diante das intervenções: revisão integrativa

Biofilm formation in cutaneous wounds and its behavior in the face of interventions: an integrative review

Como citar este artigo:

Borges EL, Spira JAO, Amorim GL, Coelho ACSM. Biofilm formation in cutaneous wounds and its behavior in the face of interventions: an integrative review. Rev Rene. 2022;23:e78112. DOI: <https://doi.org/10.15253/2175-6783.20222378112>

 Eline Lima Borges¹
 Josimare Aparecida Otoni Spira¹
 Gilmara Lopes Amorim¹
 Ana Carolina Silva Martins Coelho¹

¹Universidade Federal de Minas Gerais.
Belo Horizonte, MG, Brasil.

Autor correspondente:

Eline Lima Borges
Universidade Federal de Minas Gerais.
Av. Professor Alfredo Balena, 190.
Santa Efigênia, CEP: 30130-100.
Belo Horizonte, MG, Brasil.
E-mail: elineufmg@gmail.com

Conflito de interesse: os autores declararam que não há conflito de interesse.

EDITOR CHEFE: Ana Fatima Carvalho Fernandes

EDITOR ASSOCIADO: Francisca Diana da Silva Negreiros

RESUMO

Objetivo: identificar na literatura a formação do biofilme e o seu comportamento diante das intervenções em feridas cutâneas. **Métodos:** revisão integrativa, realizada nas bases de dados *Cumulative Index to Nursing and Allied Health Literature*, *Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde*, *EMBASE*, *Scopus*, *The Cochrane Library Collaboration*, *MEDLINE/PubMed* e *Science Direct*, sem delimitação temporal. Foram selecionados 19 estudos. Avaliação das informações ocorreu de forma descritiva, confrontando com os achados pertinentes. **Resultados:** os estudos da amostra foram publicados no idioma inglês e contemplaram três tipos de pesquisa de biofilme: dois clínicos, seis *in vitro* e 11 *in vivo* (animal). Incluíram-se três temas: criação de modelo biofilme (n=4), avaliação do biofilme (n=3), comportamento do biofilme diante de intervenções para o seu manejo (n=12). **Conclusão:** efeitos prejudiciais do biofilme na cicatrização de feridas foram confirmados. Diversas intervenções foram capazes de reduzir e eliminar o biofilme nos modelos *in vitro* e *in vivo*. **Contribuições para a prática:** constatou-se que avaliação clínica da lesão não permite identificar o biofilme, inclusive quando presente encontra-se abaixo da superfície da lesão. Este achado suscita reflexão por parte dos enfermeiros a respeito das intervenções adotadas para a remoção do biofilme.

Descritores: Biofilmes; Ferimentos e Lesões; Enfermagem; Estomatoterapia.

ABSTRACT

Objective: to identify in the literature the biofilm formation and its behavior when faced with interventions in cutaneous wounds. **Methods:** an integrative review, carried out in the *Cumulative Index to Nursing and Allied Health Literature*, *Latin American and Caribbean Health Sciences Literature*, *EMBASE*, *Scopus*, *The Cochrane Library Collaboration*, *MEDLINE/PubMed* and *Science Direct* databases, without temporal delimitation. Nineteen studies were selected. The information was evaluated descriptively, comparing it with the pertinent findings. **Results:** the sample studies were published in English and included three types of biofilm research: two clinical, six *in vitro* and 11 *in vivo* (animal). Three themes were included: biofilm model creation (n=4), biofilm assessment (n=3), biofilm behavior before interventions for its management (n=12). **Conclusion:** the detrimental effects of biofilm on wound healing have been confirmed. Several interventions were able to reduce and eliminate biofilm in *in vitro* and *in vivo* models. **Contributions to practice:** it was found that clinical evaluation of the lesion does not allow the identification of biofilm, even when present; it is below the surface of the lesion. This finding raises reflection on the part of nurses regarding the interventions adopted for the removal of biofilm.

Descriptors: Biofilms; Wounds and Injuries; Nursing; Enterostomal Therapy.

Introdução

A discussão a respeito da influência do biofilme no atraso da cicatrização das feridas tornou-se frequente no século XXI. Feridas crônicas de diversas etiologias que não evoluem para a cura, apesar da avaliação integral do paciente e adoção de intervenções específicas para sanar ou mitigar os problemas, são suspeitas de apresentarem biofilme⁽¹⁾.

Os biofilmes são definidos por microrganismos ligados uns aos outros ou a uma superfície, reclusos em uma matriz de substância polimérica extracelular, formando um mecanismo de resistência e sobrevivência⁽²⁾. Estão presentes em feridas crônicas, sendo encontrados na superfície lesada, suspensos no exsudato, aderidos ao tecido necrótico ou na estrutura das coberturas, habitualmente denominadas de “curativos”⁽³⁾.

O processo de reparo tecidual de feridas é por mecanismos não totalmente compreendidos. Os biofilmes bacterianos podem ser responsáveis por interromper esse evento na fase inflamatória, o que causa cronicidade da ferida e mantém a cicatrização em estado inflamatório exacerbado⁽⁴⁾.

O manejo das feridas crônicas com suspeita de biofilme é complexo porque, no decorrer do tempo, a microbiologia do biofilme torna-se diversificada e resulta na formação de uma estrutura altamente resistente à ação de antimicrobianos⁽³⁾. O impacto no retardo da cicatrização tem atraído cada vez mais atenção dos pesquisadores e profissionais da área da saúde, incluindo os enfermeiros. Sua importância levou ao estabelecimento de cuidados de feridas baseados em biofilme, em que feridas crônicas são tratadas usando estratégias multifacetadas na tentativa de remover biofilmes sobre o leito delas para facilitar a recuperação da integridade epitelial⁽⁵⁾.

Os biofilmes microbianos são reconhecidos, por toda comunidade científica, como causa da cronicidade de feridas⁽⁶⁾ e retardo no processo de reparo tecidual⁽⁴⁾. Entretanto, tem sido frequente a discussão sobre a forma da avaliação e identificação clínica do

biofilme. Há dúvidas sobre seu manejo utilizando estratégia de limpeza de feridas; inclusive sobre o emprego de diversos tipos de tratamentos tópicos para a sua ruptura, erradicação e inibição de sua recomposição nas feridas⁽³⁾. Nesse contexto, propõem-se a hipótese de que o biofilme se forma frequentemente na ferida cutânea e interfere na sua cura.

Tendo em vista as controvérsias existentes na prática clínica, o conhecimento da síntese de pesquisas já publicadas na literatura sobre a formação de biofilme em ferida pode oferecer subsídios para o enfermeiro e equipe de enfermagem no planejamento e implementação de medidas que possam auxiliar na identificação da presença do biofilme na ferida e adoção de estratégias para o seu manejo. Assim, o presente estudo teve por objetivo identificar na literatura a formação do biofilme e o seu comportamento diante das intervenções em feridas cutâneas.

Métodos

Revisão integrativa da literatura. A condução do estudo foi orientada pelo *checklist Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA), incluindo a organização das informações. Etapas da pesquisa: elaboração da questão de pesquisa; busca na literatura dos estudos primários; extração de dados; avaliação dos estudos primários; análise e síntese dos resultados; e apresentação da revisão⁽⁷⁾. Como ponto de partida, elaboraram-se as perguntas: “Como ocorre a formação do biofilme? Qual é o comportamento do biofilme diante das intervenções em feridas cutâneas?” Na elaboração destas, foi utilizada a técnica PVO⁽⁸⁾, em que “P” refere-se à população, contexto e/ou situação-problema da pesquisa (biofilme em ferida); “V”, às variáveis do estudo (formação do biofilme e intervenções); e “O”, aos resultados (*outcomes*) desejados/alcançados (comportamento do biofilme e resultados do seu manejo).

A busca dos estudos primários foi realizada nas bases de dados *Cumulative Index to Nursing and Allied Health Literature* (CINAHL), Literatura Latino-Ame-

ricana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), EMBASE, Scopus, *The Cochrane Library Collaboration* (COCHRANE), *Medical Literature Analysis and Retrieval System on-line* (MEDLINE) por meio da *National Library of Medicine National Institutes of Health* (PubMed) e *Science Direct*, que é uma página *web* operada pela editora anglo-holandesa Elsevier.

Para realizar a busca, os pesquisadores selecionaram os seguintes descritores controlados da terminologia *Medical Subject Headings* (MeSH) e Descritores em Ciências da Saúde (DeCS): *biofilms, wounds and injuries, leg ulcer, diabetic foot, varicose ulcer, surgical wound, in vitro techniques, models animal, clinical protocols*. Os descritores não controlados (palavras-chave) foram considerados pelos pesquisadores para ampliar a identificação dos estudos publicados e foram estabelecidos de acordo com leituras prévias sobre o tópico de interesse: *bacterial biofilm, pressure injury, excisional wound*. Para assegurar busca ampla, os descritores controlados e não controlados foram utilizados de diferentes formas, isoladamente e combinados entre si, com os operadores booleanos AND e OR.

A busca eletrônica nas bases de dados incluiu artigos com foco de investigação na formação de ferida, ou no seu comportamento diante das intervenções; publicados até o ano de 2021, nos idiomas português, inglês e espanhol (Figura 1).

Os critérios de exclusão consistiram nos estudos sobre biofilme dental, em instrumental cirúrgico, em prótese ou órtese, em superfície. Também foram excluídos artigos identificados como de reflexão/teórico, editorial ou carta-resposta, comentários, teses e dissertações. Não foram aplicados filtros para o período de publicação dos artigos para assegurar quantitativo adequado de estudos primários. Artigos presentes em mais de uma base foram excluídos da amostra.

A busca dos estudos primários nas bases de dados selecionadas ocorreu no mês de julho de 2021 e foi realizada por um dos autores do presente estudo em conjunto com um bibliotecário. A seleção dos artigos foi realizada por dois autores da revisão de forma independente. Foi agendado encontro entre ambos para discussão das divergências. Os mesmos pesquisadores realizaram a extração de dados, ainda de forma independente, com o auxílio de instrumento validado e utilizado por outros pesquisadores⁽⁹⁾. O instrumento foi escolhido pela simplicidade e por atender às peculiaridades das questões norteadoras do estudo. Contempla as informações: identificação da publicação (título do artigo, idioma, autores, data da publicação), periódico de publicação, características metodológicas (tipo de publicação, tipo de pesquisa [*in vitro*; *in vivo* no modelo animal, *in vivo* em humanos], amostra/participante, formação do biofilme, intervenção, resultados [comportamento do biofilme]).

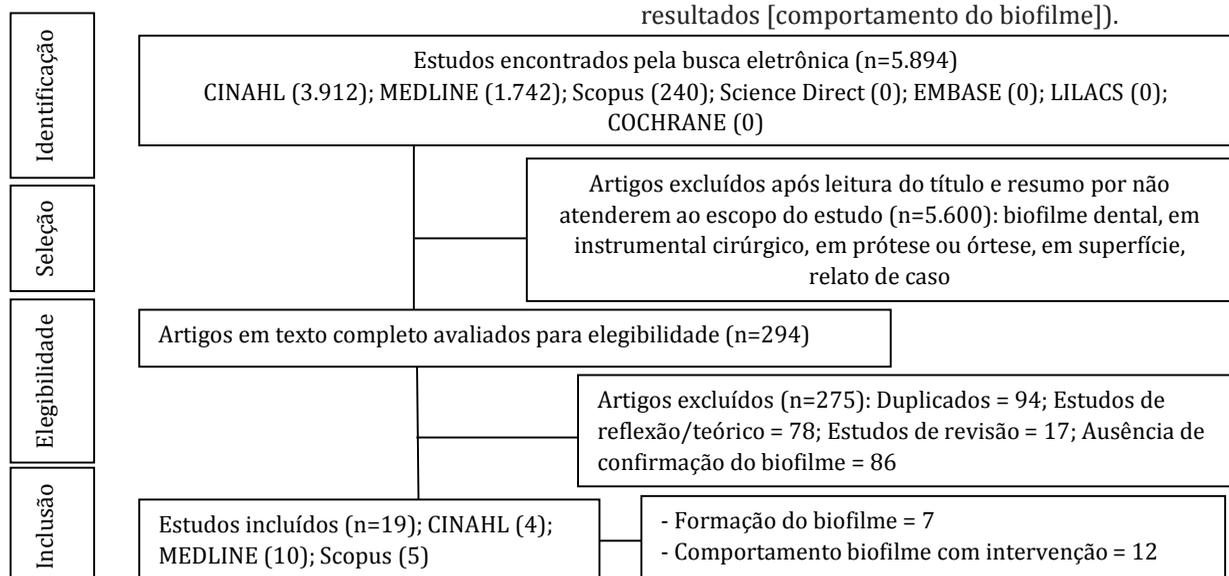


Figura 1 – Fluxograma de seleção dos artigos para a revisão. Belo Horizonte, MG, Brasil, 2021

Para análise do material, decidiu-se agrupar e categorizar as informações do biofilme de acordo com o tipo de pesquisa: *in vitro*; *in vivo* no modelo animal, *in vivo* em humanos. Essa diversidade juntamente com a proposta da pesquisa inviabilizaram a classificação dos estudos incluídos na amostra em níveis de evidência. A análise dos resultados foi efetuada na forma descritiva. Posteriormente, comparações enfatizando as diferenças e similaridades dos estudos foram realizadas.

Resultados

Os 19 artigos da amostra foram publicados no

período de setembro de 2010 a setembro de 2021, sendo que sete abordavam a formação do biofilme e 12 o comportamento do biofilme diante das intervenções. Foram identificados três tipos de estudos de biofilme: dois clínicos, seis *in vitro* (Figura 2) e 11 *in vivo* no modelo animal (Figura 3). Incluíram três temas: criação de modelo biofilme (n=4); avaliação do biofilme (n=3); e comportamento do biofilme diante de intervenções para o seu manejo (n=12). Esse último grupo incluiu terapia por pressão negativa (n=3); nanocompósitos Ag/Fe₃O₄ (n=1); própolis (n=1); enzimas (n=1); produto antimicrobiano (n=1); desbridamento ultrassônico (n=1); cobertura (n=2); óxido nítrico (n=1); aminoácido triptofano (n=1).

| Abordagem/Autoria | Formação e comportamento do biofilme |
|---|--|
| Clínico Mori, et al. ⁽⁵⁾ | No Estudo 1, a mediana da proporção de remoção de biofilme foi de 38,9% para lesões por pressão com tratamento-padrão e 65,2% nas tratadas com desbridamento ultrassônico (p=0,009). No Estudo 2, a proporção de cicatrização de feridas foi significativamente maior em feridas tratadas com o “sistema de tratamento de feridas com base em biofilme” do que naquelas tratadas com o cuidado-padrão. |
| Clínico Han, et al. ⁽¹⁰⁾ | Amostras de tecido foram obtidas de 15 pacientes com feridas crônicas. As culturas bacteriológicas padrão demonstraram média de três espécies bacterianas comuns por ferida. O pirosequenciamento revelou média de 17 em cada ferida e presença de biofilmes confluentes espessos altamente organizados. |
| <i>In vitro</i> Guedes, et al. ⁽¹¹⁾ | Biofilmes cultivados <i>ex situ</i> apresentam maior quantidade de células bacterianas e matriz polimérica do que <i>in vitro</i> , atingindo a maturidade com 72 horas de crescimento. A produção de fatores de virulência difere entre biofilmes <i>ex situ</i> e <i>in vitro</i> . |
| <i>In vitro</i> Pirlar, et al. ⁽¹²⁾ | Concentrações mínimas de tripsina, de betaglucosidase e de enzimas DNase I para degradar biofilmes foram, respectivamente, 1µg/ml, 8 U/ml e 150 U/ml. A combinação de 0,15µg/ml de tripsina e 50 U/ml de DNase I resultou na dissolução de todos os biofilmes <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . |
| <i>In vitro</i> Kwiecińska-Piróg, et al. ⁽¹³⁾ | Extrato etanólico de própolis foi eficaz no biofilme <i>P. mirabilis</i> na concentração de 25-100 mg/mL para impedir sua formação e de 25-50 mg/mL quando maduro. |
| <i>In vitro</i> Tahir S, et al. ⁽¹⁴⁾ | Terapia por pressão negativa foi aplicada ao modelo de biofilme maduro de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> com alteração da sua arquitetura, reduzindo a espessura e a massa. A terapia com instilação de solução à base de poli-hexametileno biguanida foi altamente eficaz na redução de biofilmes de <i>S. aureus</i> e de <i>P. aeruginosa</i> . |
| <i>In vitro</i> Ghaseminezhad, et al. ⁽¹⁵⁾ | A combinação de nanopartículas de prata (Ag ⁺) com óxido de ferro (Fe ₃ O ₄), na produção de nanocompósitos Ag/Fe ₃ O ₄ , foi capaz de penetrar e erradicar biofilmes <i>S. aureus</i> na aplicação de um campo magnético. |
| <i>In vitro</i> Ngo, et al. ⁽¹⁶⁾ | Terapia por pressão negativa aplicada ao modelo de biofilme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> apresentou pequena redução (estatisticamente significante) das bactérias em duas semanas. A ação foi muito mais considerável e observada em 24 horas quando a terapia foi combinada com espuma impregnada de prata. Houve compressão da arquitetura do biofilme com redução da espessura e da distância de difusão. |

Figura 2 – Distribuição dos estudos selecionados *in vitro* e clínico com a síntese da formação e do comportamento do biofilme. Belo Horizonte, MG, Brasil, 2021

| Abordagem/Autoria | Formação e comportamento do biofilme |
|--|--|
| Modelo animal Kim, et al. ⁽¹⁷⁾ | Altos níveis de estresse oxidativo na ferida alteraram significativamente o microbioma, o que diminuiu a diversidade de bactérias e promoveu a colonização por bactérias da microbiota da pele (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Corynebacterium frankenforstense</i> e <i>Acinetobacter</i> sp.) e formação do biofilme. Houve tendência de única bactéria com desenvolvimento agressivo de biofilme. |
| Modelo animal Stoffel, et al. ⁽⁶⁾ | Dos produtos comerciais contendo agentes antimicrobianos tópicos, o iodo e o cloreto de benzalcônio foram os mais eficazes <i>in vitro</i> e passaram por avaliação <i>in vivo</i> em um modelo murino imunocomprometido com ferida com biofilme, resultando na redução significativa do biofilme pelo cloreto de benzalcônio. |
| Modelo animal Davis, et al. ⁽¹⁸⁾ | A cobertura de fibra gelificante com prata em modelo de biofilme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em ferida em porco resultou no desprendimento de biofilme. |
| Modelo animal Brandenburg, et al. ⁽¹⁹⁾ | Criou-se modelo de biofilme <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em queimadura feita no rato. A infecção causou respostas imunes locais e sistêmicas. A <i>P. aeruginosa</i> estava enredada em uma matriz extracelular na superfície da queimadura, bem como penetrando 500-600 µm de profundidade na escara. |
| Modelo animal Hasan N, et al. ⁽²⁰⁾ | Nanopartículas de PLGA – poli (ácido lático-co-glicólico) como polímero formador de nanopartículas polietilenimina/diazêniodiolato (PEI/NONOate), com capacidade de se ligar à matriz de biofilme, foram desenvolvidas para facilitar a entrega de óxido nítrico ao biofilme <i>Staphylococcus aureus</i> de feridas em camundongos. As nanopartículas se ligam firmemente à matriz, resultando na redução da carga bacteriana e dispersão completa do biofilme. |
| Modelo animal Guoqi, et al. ⁽²¹⁾ | No modelo de biofilme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> de ferida em orelha de coelho, o grupo tratado com terapia por pressão negativa foi comparado ao grupo tratado com gaze. A terapia por pressão negativa resultou em redução significativa da expressão de todos os fatores de virulência testados, incluindo exotoxina A, ramnolipídeo e elastase e redução significativa dos componentes do biofilme. |
| Modelo animal Karna, et al. ⁽²²⁾ | O modelo de ferida excisional de orelha de coelho foi usado para avaliar as alterações transcriptômicas de feridas à medida que combatem a infecção por <i>P. aeruginosa</i> . Nas feridas com infecção (biofilme), vários tipos de RNA não codificantes (ncRNA) estavam suprimidos após o ferimento, com aumento após cinco e nove dias, o que sugere uma mudança sequencial e coordenada nos níveis de transcritos. |
| Modelo animal Brandenburg, et al. ⁽²³⁾ | Proposição de modelo para a formação de biofilme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em uma cobertura biológica disponível comercialmente (Biobrana®) e avaliação da inibição de <i>Pseudomonas</i> na formação de biofilme pelo aminoácido triptofano (D-/L-triptofano) em feridas de ratos (murinos). D-/L-triptofano inibiu a formação de biofilme aeruginosa na cobertura de maneira dose-dependente e não foi diretamente citotóxica para os queratinócitos humanos. O fechamento da ferida tratada com D-/L-triptofano aumentou comparado com feridas não tratadas. |
| Modelo animal Seth, et al. ⁽²⁴⁾ | Avaliação do impacto de cobertura antimicrobiana [AQUACEL Ag+ Hydrofiber Dressing] em feridas em orelha de coelho infectadas por biofilme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . Em relação às feridas com veículo inativo (controle), houve significância estatística na melhora da cicatrização e redução na contagem de bactérias. |
| Modelo animal Gurjala, et al. ⁽²⁵⁾ | Desenvolveu-se um modelo animal de feridas cutâneas em orelhas de coelho com <i>Staphylococcus aureus</i> . O biofilme maduro formou dentro de 24 horas. Os marcadores inflamatórios confirmaram que o fenótipo do biofilme cria uma resposta inflamatória característica, sustentada e de baixo grau e que, ao longo do tempo, o biofilme prejudica a migração epitelial e o crescimento do tecido de granulação. |
| Modelo animal Zhao, et al. ⁽²⁶⁾ | Criou-se um modelo reprodutível de ferida crônica em camundongos diabéticos pela aplicação de biofilme bacteriano. Nenhuma ferida com biofilme estava fechada em 28 dias após o ferimento. Houve extensa infiltração de células inflamatórias, necrose de tecido e hiperplasia epidérmica adjacente a feridas. A maioria das bactérias estavam na crosta acima do leito da ferida, e não no tecido desta. |

Figura 3 – Distribuição dos estudos selecionados *in vivo* no modelo animal com a síntese da formação e do comportamento do biofilme. Belo Horizonte, MG, Brasil, 2021

A análise descritiva permitiu identificar que o tempo para formação do biofilme e a sua estrutura têm variações conforme as bactérias envolvidas e o tipo de modelo *in vitro* e animal. Os estudos clínicos não abordaram o tempo demandado para a formação do biofilme.

Alguns produtos e soluções foram capazes de reduzir ou remover o biofilme. Esses achados foram obtidos nos estudos com modelo *in vitro* e animal. Os produtos que apresentaram essas atividades foram nanocompostos Ag/Fe₃O₄, própolis, triptofano e enzimas, coberturas com prata, terapia por pressão negativa com prata ou instilação de polihexametileno biguanida e desbridamento ultrassônico.

Discussão

Os estudos *in vitro*, *in vivo* (animal) e clínico abordaram biofilme em feridas diversas e trazem um crescente corpo de evidências, sugerindo que biofilmes bacterianos representam uma importante fonte de pesquisa para o entendimento da patogênese de feridas crônicas^(11,25). Tal fato foi confirmado pela maioria dos estudos da amostra desta pesquisa, que utilizou o modelo *in vitro* ou *in vivo* em animal, sendo poucas as pesquisas clínicas realizadas em humanos.

Os estudos utilizaram o modelo *in vitro* para avaliação da formação do biofilme⁽¹¹⁾, efeito de intervenções no manejo do biofilme formado por *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *P. mirabilis*. As intervenções avaliadas envolveram produtos e tecnologias como a terapia por pressão negativa^(14,16), própolis⁽¹³⁾, enzimas⁽¹²⁾, além do uso de nanopartículas para disponibilização da prata⁽¹⁵⁾.

Os modelos de biofilme de sistemas abertos ou dinâmicos têm princípio semelhante ao de culturas contínuas, geralmente permitem o controle de parâmetros ambientais, como forças de cisalhamento, e por isso têm sido amplamente utilizados para estudar a resistência física e química de biofilmes. Os modelos microcosmos levam em consideração a complexidade e heterogeneidade dos ambientes naturais⁽²⁾. Portan-

to, são mais sofisticados em imitar as condições *in situ*, já que incluem várias espécies bacterianas⁽¹⁴⁾ e utilizam material do ambiente estudado para simular uma situação *in vivo*⁽¹¹⁾.

O efeito da terapia por pressão negativa com e sem instilação de soluções foi avaliado no modelo de biofilme *in vitro*^(14,16) e *in vivo* em modelo animal⁽²¹⁾. As avaliações realizadas demonstraram uma pequena redução, mas estatisticamente significativa, das bactérias do biofilme em duas semanas de tratamento. Quando a terapia por pressão negativa foi combinada com espuma impregnada com prata, a redução foi mais significativa e foi observada dentro de 24 horas⁽¹⁶⁾. A utilização da terapia por pressão negativa com instilação de solução potencializou a ação sobre o biofilme. O destaque foram as soluções antimicrobianas, especialmente aquelas à base de poli-hexametileno biguanida⁽¹⁴⁾.

Os dados obtidos podem não se traduzir na mesma eficácia ou resultados quando usados clinicamente *in vivo*. Apesar dessa possibilidade, os estudos apresentam evidências para o uso da terapia por pressão negativa na clínica, confirmando que a tecnologia é eficaz para reduzir os fatores de virulência e os componentes do biofilme. Assim, os resultados desses estudos podem explicar o aumento da cicatrização de feridas na prática clínica quando se utiliza essa terapia⁽²⁷⁾.

As coberturas com prata são difundidas na prática clínica para o controle da colonização crítica ou infecção da ferida. Estudos sobre nanopartículas de prata têm chamado a atenção como uma alternativa aos antibióticos para o tratamento de infecções de feridas, porém seu uso é desafiado pela penetração tecidual limitada e alta citotoxicidade. Todavia, para contornar esses problemas, pesquisadores combinaram nanopartículas de prata com óxido de ferro e produziram nanocompósitos de Ag/Fe₃O₄ que penetram e erradicam biofilmes na aplicação sobre um campo magnético⁽¹⁵⁾. Portanto, destaca-se que as nanopartículas de prata são consideradas uma via potencial no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas

para o tratamento de infecções de crônicas de feridas.

Outro modelo de biofilme *in vitro*, com *Proteus Mirabilis*, foi utilizado para avaliar a atividade do extrato etanólico de própolis. Foi identificado que concentrações de 25100mg/mL do extrato etanólico de própolis inibiram a formação de biofilme *Proteus mirabilis*; e concentrações de 25-50mg/mL agiram no biofilme maduro⁽¹³⁾. No entanto, esse estudo apresenta uma forte limitação, que é a ausência da descrição dos métodos utilizados para a avaliação do desfecho sob ação do produto.

Outra estratégia empregada nas pesquisas é a tentativa de debelar o biofilme por meio da destruição da substância polimérica extracelular autoproduzida que envolve as bactérias componentes do biofilme. Essa estrutura resulta em alta tolerância a antibióticos, predisposição à cronicidade da infecção e complicação da cicatrização de feridas⁽¹¹⁻¹²⁾.

É importante destacar que a maioria dos antibióticos não consegue remover biofilmes em infecções crônicas, por isso novas modalidades terapêuticas são necessárias para promover a quebra da substância polimérica extracelular. Portanto, a degradação dessa estrutura mediante a ação de enzimas pode ser utilizada para resultar na melhora da cicatrização de feridas crônicas⁽¹¹⁻¹²⁾.

Um estudo fez uso de três enzimas: a tripsina, a betaglucosidase e a desoxirribonuclease I (DNase), que têm como alvo os principais componentes do biofilme. A eficácia dessas enzimas foi comprovada na degradação de biofilmes de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* no meio semelhante a uma ferida, juntamente com a redução da concentração mínima dos antibióticos meropeném e amicacina para a erradicação do biofilme⁽¹²⁾. Esses achados sinalizam para o aprofundamento do conhecimento em busca de construção de propostas semelhantes e seguras para a prática clínica.

Diversos modelos de biofilme foram usados para avaliar produtos contendo agentes antimicrobianos tópicos, comumente usados no tratamento de ferida pelos profissionais da prática clínica^(6,12,15).

Os antimicrobianos tiveram desempenhos distintos conforme o modelo de biofilme⁽⁶⁾. A alteração das condições de crescimento microbiano ou combinação de organismos resultou em diferenças significativas de desempenho para alguns tratamentos, sem confirmação da eficácia das soluções utilizadas habitualmente na prática clínica.

Existem vários produtos tópicos, com ação antimicrobiana, disponíveis para o tratamento de feridas, cuja eficácia tem sido demonstrada rotineiramente com microrganismos planctônicos. No entanto, até o momento, não existe um valor de referência para amparar a eficácia antimicrobiana de produtos para tratamento de feridas em modelos de biofilme. Além disso, os dados para a eficácia antimicrobiana apresentam variados métodos de teste⁽⁶⁾. Apesar desse fato, algumas instituições de saúde têm adotado tais soluções com a intenção de manejar o biofilme das feridas crônicas.

Os estudos encontrados sobre biofilme *in vivo*, aqueles que incluem animais, abrangem desde a proposta de validação de modelo animal até a avaliação da eficácia de produtos na eliminação de biofilme. Envolveram camundongos^(17,20,26), ratos^(6,23), coelhos^(21,22,24-25) e porcos⁽¹⁸⁾, sob ação de diversos patógenos, especialmente *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, na indução da formação do biofilme.

A validação de modelo *in vivo* é essencial para entendimento do mecanismo de formação do biofilme e para avaliação de produtos utilizados em sua prevenção e manejo. Os modelos de biofilme *in vivo* de feridas traumáticas em animais incluem abrasões de pele, queimaduras, lacerações, feridas cirúrgicas e excisionais, desenvolvidos em coelhos, ratos e camundongos. Os microrganismos mais comumente estudados associados a infecções de feridas são *S. aureus* e *P. aeruginosa*⁽²⁾.

As feridas crônicas, especialmente em pacientes diabéticos, são caracterizadas por altos níveis de estresse oxidativo decorrentes das bactérias formadoras do biofilme, o que impede a cicatrização em curto tempo. Esse dado embasou estudo realizado em mo-

delo de rato diabético, cujos resultados confirmaram tal fato⁽¹⁷⁾. O modelo reprodutível de ferida crônica em camundongos diabéticos teve formação de biofilme induzido por *Pseudomonas aeruginosa*, e a análise histológica mostrou extensa infiltração de células inflamatórias, tecido necrótico e hiperplasia epidérmica adjacente⁽²⁶⁾.

Outro estudo apresentou modelo de infecção de biofilme *in vivo* desenvolvido em queimadura por escaldadura em ratos. Nesse estudo, *Pseudomonas aeruginosa* foram espalhadas sobre a superfície da ferida, e a presença de biofilme foi observada em aproximadamente 10⁹ unidades formadoras de colônia de tecido queimado em sete dias. A infecção por *P. aeruginosa* causou respostas imunes local e sistêmica demonstradas por alterações na contagem de neutrófilos sistêmicos, histologia e atividade de mieloperoxidase. A microscopia eletrônica de varredura da amostra da queimadura em ratos confirmou a presença da *P. aeruginosa* em uma matriz extracelular a 500-600 µm de profundidade em relação à superfície da lesão⁽¹⁹⁾. Esse achado caracteriza que a formação do biofilme não ocorre sobre a superfície, e isso leva à reflexão sobre a efetividade das intervenções envolvendo o uso de aplicação de soluções para remoção dele.

O modelo de biofilme em coelho utilizou *Staphylococcus aureus*, e os resultados revelaram que, em 24 horas após inoculação, essa bactéria rapidamente tomou a forma de biofilme maduro em feridas. O biofilme cria uma inflamação característica que prejudica o crescimento de tecido de granulação e a migração epitelial ao longo do tempo⁽²⁵⁾.

Posteriormente, o modelo validado de biofilme em coelho foi utilizado para avaliar o impacto da cobertura de hidrofibra com prata impregnada com cloreto de benzetônio e ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA) em feridas com *P. aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. O estudo mostrou diminuição consistente da contagem de bactérias, além de melhoria na cicatrização de feridas, quando comparadas com os controles⁽²⁴⁾. Esse estudo representa a primeira evidência quantificável e consistente *in vivo* do impacto

de uma cobertura com antimicrobiano tópico contra o biofilme estabelecido na ferida. Porém, apesar de esse estudo apresentar evidência consistente, ainda requer estudos clínicos para avaliar a efetividade no tratamento de feridas em humanos.

A cobertura hidrofibra com prata também foi comparada à cobertura de fibra gelificante com prata em um modelo de biofilme de ferida porcino. Foi inoculada *Pseudomonas aeruginosa* nessas feridas, as quais, posteriormente, foram cobertas com filme de poliuretano. Esse estudo demonstrou que o tratamento com cobertura de fibra gelificante com prata reduziu significativamente o biofilme de *P. aeruginosa* quando comparado a todos os outros grupos de tratamento⁽¹⁸⁾.

A eficácia de cinco coberturas de fibra gelificante com prata foi avaliada em biofilmes, de única espécie e multiespécies, em modelos *in vitro*. Foram utilizados biofilmes de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*. Nos modelos de única espécie, todas as cinco coberturas foram eficazes na erradicação das bactérias do biofilme com *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Entretanto, apenas uma cobertura (tecnologia de hidrofibra com combinação de antibiofilme/tecnologia antimicrobiana) foi capaz de erradicar tanto biofilmes multiespécies de forma que nenhum organismo viável fosse recuperado quanto biofilme de espécie única de *Candida albicans*⁽²⁸⁾.

Considerando que essas coberturas são utilizadas pelos profissionais, inclusive brasileiros, para o tratamento de pacientes com feridas, essas evidências são importantes para embasar as indicações na prática. Assim, destaca-se que esses estudos sobre coberturas de hidrofibra geraram conhecimento para amparar a prática clínica, especialmente no manejo de feridas criticamente colonizadas por bactérias gram-negativas formadoras de biofilme.

Uma cobertura biológica disponível comercialmente no Brasil, classificada como substituto cutâneo biossintético, apoiou a formação de biofilme de *P. aeruginosa* para avaliação da ação do D-/L-triptofano.

Constatou-se que este não prejudicou a cicatrização de feridas, inclusive houve melhora⁽²³⁾. Esses resultados demonstram a capacidade do triptofano de inibir a formação de biofilme bacteriano. O fato indica o benefício desse componente no desenvolvimento de novos produtos ou para a sua inclusão em coberturas já existentes.

O processo de cicatrização das feridas crônicas, especialmente as úlceras venosas, lesões por pressão e úlceras de pé diabético, geralmente evolui para um estado de cronicidade. Essa situação pode ser explicada pela erradicação ineficiente de patógenos infecciosos e oportunistas⁽²⁷⁾. A descrição de forma abrangente das características microbianas de feridas crônicas requer técnicas investigativas apuradas, uma vez que tais feridas contêm comunidades polimicrobianas complexas de organismos sésseis. Os resultados dos exames realizados quando a ferida crônica apresenta sinais de infecção ou colonização crítica são subestimados devido às limitações da tecnologia de cultura-padrão⁽¹⁰⁾.

Uma proposta para a identificação do biofilme é a utilização do *wound blotting*, desenvolvido para visualizar o biofilme de forma rápida e não invasiva. Essa técnica pode direcionar o desbridamento ultrassônico, que é um método já disponível para a remoção do biofilme. Um estudo foi realizado com objetivo de investigar a eficácia do *biofilm-based wound care system* (sistema de tratamento de feridas com base em biofilme), confirmando que a proporção de cicatrização de feridas em 90 dias foi significativamente maior em feridas tratadas com o sistema em comparação àquelas que receberam cuidado-padrão⁽⁵⁾. Essas evidências indicam que o sistema proposto pode ser uma estratégia terapêutica promissora para visualizar biofilmes, entretanto requer aprofundamento do conhecimento para ser incorporado em outras realidades.

Os estudos com modelos *in vitro* apresentam limitações, com destaque para a falha em reproduzir o ambiente do hospedeiro. Esse fato levou a um rápido desenvolvimento de múltiplos modelos *in vivo*, que também têm suas limitações devido ao uso de

animais, sendo as questões éticas a principal barreira. Isso explica parcialmente por que os modelos substitutos de não mamíferos, *in vitro* e *in vivo*, ainda são amplamente usados e continuam a revelar informações importantes sobre a fisiologia do biofilme e tratamentos promissores para o seu manejo.

Os dados sobre a atividade antimicrobiana de produtos em modelos de biofilme estão diversificados por muitos métodos de teste em uma variedade de estudos. Existem vários produtos antimicrobianos tópicos de tratamento de feridas disponíveis para uso, no entanto sua eficácia tem sido demonstrada rotineiramente com microrganismos planctônicos.

Os resultados obtidos com a revisão permitiram identificar as lacunas ainda existentes na formação de biofilmes de feridas em humanos, bem como as limitações financeiras e éticas para o desenvolvimento de estudos clínicos. Há necessidade de desenvolver estudos para avaliação de ferramentas de diagnóstico molecular que possam ser usadas na prática clínica a fim de identificar as composições das comunidades bacterianas presentes nos biofilmes patogênicos de feridas crônicas e nas infecções. É importante considerar que biofilmes microbianos têm se tornado cada vez mais reconhecidos como causa da cronicidade de feridas. No entanto, não existe um valor de referência alvo para a eficácia antimicrobiana de produtos para tratamento de feridas em modelos de biofilme.

Limitações do estudo

A diversidade e as fragilidades metodológicas dos estudos primários acarretaram limitações no estudo realizada, dificultando a translação automática do conhecimento para prática clínica. A revisão contou com amostra heterogênea, composta por estudos *in vivo* e *in vitro*. Em algumas pesquisas não há relato do número de amostras avaliadas e o passo a passo da preparação do material. Além disso, certos estudos não contaram com a microscopia eletrônica para a identificação do biofilme.

Contribuições para a prática

As limitações apresentadas não inviabilizaram a construção de conhecimento para a prática clínica. O saber apreendido com a análise dos estudos *in vitro* e no modelo animal pode contribuir para melhor compreensão dos mecanismos na formação do biofilme e sua identificação. Determinadas soluções tecnológicas são indicativas para o manejo do biofilme na ferida o que pode instrumentalizar o enfermeiro na tomada de decisão.

Conclusão

A formação e o comportamento do biofilme foram identificados por meio da análise da literatura. Os efeitos prejudiciais do biofilme na cicatrização de feridas foram confirmados. Diversas intervenções foram capazes de reduzir e eliminar o biofilme nos modelos *in vitro* e *in vivo* (animal), por isso os modelos rigorosos são cada vez mais necessários para investigar a eficácia dos produtos antimicrobianos, incluindo as coberturas.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais. “Edital 01/2015 - Demanda Universal” sob o processo de número CDS - APQ-00904-15.

Contribuição dos autores

Concepção e projeto e redação do artigo: Amorim GL. Análise e interpretação dos dados e revisão crítica relevante do conteúdo intelectual: Spira JAO, Coelho ACSM.

Concepção e projeto, análise e interpretação dos dados, redação do artigo e aprovação final da versão a ser publicada: Borges EL.

Concordância em ser responsável por todos os aspectos do manuscrito relacionados com a precisão ou integridade de qualquer parte do trabalho a serem investigadas e resolvidas adequadamente: Borges EL.

Referências

1. 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. doi: <https://dx.doi.org/10.1111/wrr.12590>
2. Guzmán-Soto I, McTiernan C, Gonzalez-Gomez M, Ross A, Gupta K, Suuronen EJ, et al. Mimicking biofilm formation and development: Recent progress in *in vitro* and *in vivo* biofilm models. *iScience.* 2021;24(5):102443. doi: <https://dx.doi.org/10.1016/j.isci.2021.102443>
3. Percival SL, Mayer D, Malone M, Swanson T, Gibson D, Schultz G. Surfactants and their role in wound cleansing and biofilm management. *J Wound Care.* 2017;26(11):680-90. doi: <https://dx.doi.org/10.12968/jowc.2017.26.11.680>
4. Trøstrup H, Laulund ASB, Moser C. Insights on host-pathogen interactions in biofilm-infected wounds reveal possibility for new treatment strategies. *Antibióticos.* 2020;9(7):396. doi: <https://doi.org/10.3390/antibiotics9070396>
5. Mori Y, Nakagami G, Kitamura A, Minematsu T, Kinoshita M, Suga H, et al. Effectiveness of biofilm-based wound care system on wound healing in chronic wounds. *Wound Repair Regen.* 2019;27(5):540-7. doi: <https://doi.org/10.1111/wrr.12738>
6. Stoffel JJ, Riedi PLK, Romdhane BH. A multimodel regime for evaluating effectiveness of antimicrobial wound care products in microbial biofilms. *Wound Repair Regen.* 2020;28(4):438-47. doi: <https://doi.org/10.1111/wrr.12806>
7. Mendes KDS, Silveira RCCP, Galvão CM. Use of the bibliographic reference manager in the selection of primary studies in integrative reviews. *Texto Contexto Enferm.* 2019;28:e20170204. doi: <https://doi.org/10.1590/1980-265X-TCE-2017-020>
8. Souza PBM, Ramos MS, Pontes FAR, Silva SSC. Coparenting: study of systematic literature review. *Estilos Clin.* 2016;21(3):700-20. doi: <http://dx.doi.org/10.11606/issn.1981-1624.v21i3p700-720>
9. Neta ISS, Medeiros MS, Gonçalves MJF. Vigilância da saúde orientada às condições de vida da população: uma revisão integrativa da literatura.

- Saúde Debate. 2018;42(116):307-17. doi: <https://doi.org/10.1590/0103-1104201811625>
10. Han A, Zenilman JM, Melendez JH, Shirtliff ME, Agostinho A, James G. The importance of a multifaceted approach to characterizing the microbial flora of chronic wounds. *Wound Repair Regen.* 2011;19(5):532-41. doi: <https://dx.doi.org/10.1111/j.1524-475X.2011.00720.x>
 11. Guedes GMM, Santos-Filho ASP, Regis WFM, Ocaque CJ, Amando BR, Sidrim JJC, et al. Ex situ model of biofilm-associated wounds: providing a host-like environment for the study of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *J Appl Microbiol.* 2021;131(3):1487-97. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/jam.15026>
 12. Pirlar RF, Emaneini M, Beigverdi R, Banar M, van Leeuwen WB, Jabalameli F. Combinatorial effects of antibiotics and enzymes against dual-species *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in the wound-like medium. *PLoS One.* 2020;15(6):e0235093. doi: <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0235093>
 13. Kwiecińska-Piróg J, Skowron K, Śniegowska A, Przekwas J, Balcerek M, Załuski D, et al. The impact of ethanol extract of propolis on biofilm forming by *Proteus Mirabilis* strains isolated from chronic wounds infections. *Nat Prod Res.* 2019;33(22):3293-97. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2018.1470513>
 14. Tahir S, Malone M, Hu H, Deva A, Vickery K. The effect of negative pressure wound therapy with and without instillation on mature biofilms in vitro. *Materials (Basel).* 2018;11(5):811. doi: <http://dx.doi.org/10.3390/ma11050811>
 15. Ghaseminezhad SM, Shojaosadati SA, Meyer RL. Ag/Fe₃O₄ nanocomposites penetrate and eradicate *S. aureus* biofilm in an in vitro chronic wound model. *Biointerfaces Colloids Surf B.* 2018;163:192-200. doi: <https://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.12.035>
 16. Ngo QD, Vickery K, Deva AK. The effect of topical negative pressure on wound biofilms using an in vitro wound model. *Wound Repair Regen.* 2012;20(1):83-90. doi: <https://dx.doi.org/10.1111/j.1524-475X.2011.00747.x>
 17. Kim JH, Ruegger PR, Lebig EG, VanSchalkwyk S, Jeske DR, Hsiao A, et al. High levels of oxidative stress create a microenvironment that significantly decreases the diversity of the microbiota in diabetic chronic wounds and promotes biofilm formation. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:259. doi: <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2020.00259>
 18. Davis SC, Li J, Gil J, Head C, Valdes J, Glinos GD, et al. Preclinical evaluation of a novel silver gelling fiber dressing on *Pseudomonas aeruginosa* in a porcine wound infection model. *Wound Repair Regen.* 2019;27(4):360-65. doi: <https://dx.doi.org/10.1111/wrr.12718>
 19. Brandenburg KS, Weaver AJ Jr, Qian L, You T, Chen P, Karna SLR, et al. Development of *Pseudomonas Aeruginosa* biofilms in partial-thickness burn wounds using a Sprague-Dawley rat model. *J Burn Care Res.* 2019;40(1):44-57. doi: <http://dx.doi.org/10.1093/jbcr/iry043>
 20. Hasan N, Cao J, Lee J, Naeem M, Hlaing SP, Kim J, et al. PEI/NONOates-doped PLGA nanoparticles for eradicating methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm in diabetic wounds via binding to the biofilm matrix. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2019;103:109741. doi: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109741>
 21. Guoqi W, Zhirui L, Song W, Tongtong L, Lihai Z, Licheng Z, et al. Negative pressure wound therapy reduces the motility of *Pseudomonas aeruginosa* and enhances wound healing in a rabbit ear biofilm infection model. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2018;111(9):1557-70. doi: <https://dx.doi.org/10.1007/s10482-018-1045-5>
 22. Karna SL, D'Arpa P, Chen T, Qian LW, Fourcaudot AB, Yamane K, et al. RNA-seq transcriptomic responses of full-thickness dermal excision wounds to *Pseudomonas aeruginosa* acute and biofilm infection. *PLoS One.* 2016;11(10):e0165312. doi: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0165312>
 23. Brandenburg KS, Calderon DF, Kierski PR, Brown AL, Shah NM, Abbott NL, et al. Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation on wound dressings. *Wound Repair Regen.* 2015;23(6):842-54. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/wrr.12365>
 24. Seth AK, Zhong A, Nguyen KT, Hong SJ, Leung KP, Galiano RD, et al. Impact of a novel, antimicrobial dressing on in vivo, *Pseudomonas aeruginosa* wound biofilm: quantitative comparative analysis using a rabbit ear model. *Wound Repair Regen.* 2014;22(6):712-9. doi: <https://dx.doi.org/10.1111/wrr.12232>

25. Gurjala AN, Geringer MR, Seth AK, Hong SJ, Smeltzer MS, Galiano RD, et al. Development of a novel, highly quantitative in vivo model for the study of biofilm-impaired cutaneous wound healing. *Wound Repair Regen.* 2011;19(3):400-10. doi: <https://dx.doi.org/10.1111/j.1524-475X.2011.00690.x>
26. Zhao G, Hochwalt PC, Usui ML, Underwood RA, Singh PK, James GA, et al. Delayed wound healing in diabetic (db/db) mice with *Pseudomonas aeruginosa* biofilm challenge: a model for the study of chronic wounds. *Wound Repair Regen.* 2010;18(5):467-77. doi: <https://dx.doi.org/10.1111/j.1524-475X.2010.00608.x>
27. Kim PJ, Attinger CE, Constantine T, Crist BD, Fausto E, Hirche CR, et al. Negative pressure wound therapy with instillation: International consensus guidelines update. *Int Wound J.* 2020;17(1):174-86. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/iwj.13254>
28. Suleman L, Purcell L, Thomas H, Westgate S. Use of internally validated *in vitro* biofilm models to assess antibiofilm performance of silver-containing gelling fibre dressings. *J Wound Care.* 2020;29(3):154-61. doi: <https://dx.doi.org/10.12968/jowc.2020.29.3.154>



Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob os termos da Licença Creative Commons