

## PAPEL DOS BIOFILMES NAS FERIDAS CRÓNICAS

### ROLE OF BIOFILMS IN CHRONIC WOUNDS

### PAPEL DE LOS BIOFILMS EN LAS HERIDAS CRÓNICAS

#### **Autores**

Elsa Menoita<sup>1</sup>, Vítor Santos<sup>2</sup>, Cláudia Gomes<sup>3</sup>, Ana Sofia Santos<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Enfermeira Especialista, MsC, Hospital Curry Cabral (HCC), <sup>2</sup> Enfermeiro Especialista, MsC, Centro Hospitalar Oeste Norte (CHON), <sup>3</sup> Enfermeira, HCC, <sup>4</sup> Enfermeira, CHON.

Corresponding Author: [elsacarvela@hotmail.com](mailto:elsacarvela@hotmail.com)

#### **Resumo**

Começa a amplamente aceite, que as feridas crónicas na sua maioria apresentam biofilme e que este representa um importante potencial infeccioso. O que importa considerar também é o importante papel que este desempenha ao perpetuar o estímulo inflamatório que caracteriza a ferida crónica. A sua complexidade confere-lhe essa capacidade para induzir a libertação de proteinases e outros factores inflamatórios, enfraquecendo o organismo, danificando o leito da ferida e no fundo comprometendo todo o processo de cicatrização. Caracteriza-se ainda por apresentar múltiplos mecanismos de resistência às abordagens terapêuticas tradicionais, o que acentua o seu caráter de cronicidade. A necessidade de estratégias terapêuticas específicas para esta entidade, é urgente.

**Palavras chave:** Biofilmes, Cicatrização, Ferida Crónica

#### **Abstract**

It is becoming widely accepted that biofilm is present in most of chronic wounds and that it represents an important potential for infection. It is also important to consider the important role it plays in perpetuating the inflammatory stimulus that characterizes the chronic wound. Its complexity gives it the ability to induce the release of proteinases and other inflammatory factors, weakening the organism, damaging the wound bed and compromising the entire healing process. It is still characterized by presenting multiple mechanisms of resistance to traditional therapeutic approaches, which enhances its factor of chronicity nature. The need for specific therapeutic strategies for this entity, is urgent.

**Key words:** Biofilms, Wound Healing, Chronic Wound

#### **1. Introdução**

Os biofilmes desempenham um papel importante na natureza e em processos tecnológicos. Do ponto de vista do interesse do Homem podem ser benéficos ou prejudiciais. Como exemplo de biofilmes benéficos existem aqueles que se acumulam em ambientes naturais nos depósitos dos rios, lagos ou ambientes marinhos, e que se desenvolvem em associação com as raízes de algumas plantas, fornecendo-lhes alguns nutrientes. São também biofilmes benéficos aqueles que são utilizados

em biotecnologia ambiental com grande sucesso no tratamento de efluentes, removendo poluentes orgânicos e inorgânicos de águas contaminadas. Na indústria alimentar, os biofilmes apresentam inúmeras vantagens, podendo ser utilizados na produção de alimentos fermentados, como por exemplo, na produção de vinagre. Contudo, na maioria das situações, a adesão de microrganismos a superfícies sólidas é indesejável, pois, de uma maneira geral, está associada à deterioração das superfícies e/ou ambiente circundante.

### 1.1. Biofilmes e a cronicidade

Aos biofilmes estão associados a um grande número de problemas de saúde, tais como infecções em tecidos, infecções do trato urinário, infecções desencadeadas por dispositivos médicos, como cateteres vasculares, infecção e consequente rejeição de próteses e implantes e infecções da placa dentária, entre outras (Costerton *et al.*, 1999). No entanto, a ecologia e a gestão dos biofilmes ainda não são bem conhecidos na medicina (Costerton, *et al.*, 1999 citados por Wolcott & Rhoads, 2008). Pelo menos a sua valorização na prática clínica, ainda não atinge a relevância devida e isso é comum a todas as áreas da prestação de cuidados de saúde.

Nos últimos anos, constatou-se que os biofilmes têm um papel preponderante na patogénese de numerosas infecções que não envolvem biomateriais. De facto, cerca de 65% das infecções humanas de etiologia bacteriana poderão envolver biofilmes (Costerton, *et al.* 1999; Potera, 1999). The National Institutes of Health (NIH) sugere, mesmo, que 80% das doenças infecciosas é causada por biofilmes podendo causar infecções crónicas (Association for the Advancement of Wound Care, 2008; Wolcott & Rhoads, 2008; Rhoads *et al.*, 2008; Widgerow, 2008). De acordo com Wolcott (2010), há mais de 14 milhões de infecções por biofilme nos EUA cada ano, resultando em mais de 350.000 mortes - uma taxa de mortalidade semelhante à do cancro. Os consórcios de biofilmes podem, mesmo, serem agentes causais de infecções graves em indivíduos imunocomprometidos (Costerton *et al.*, 1999). Assim, todos estes dados epidemiológicos, devem servir de alerta para um problema grave, que deve ser encarado como real, as estratégias para o seu

controlo devem ser mobilizadas e até mais desenvolvidas.

Rhoads *et al.* (2008) referem que, as bactérias isoladas em feridas crónicas são geralmente cultivadas e estudadas através de métodos tradicionais aplicáveis somente às bactérias em estado planctónico. No entanto, as bactérias planctónicas cultivadas em laboratório comportam-se de forma diferente das bactérias em biofilme localizadas no leito das feridas crónicas. É já sobejamente conhecido que mais de 99% das bactérias encontradas na natureza existem em estado sésil, formando biofilmes (Widgerow, 2008), e crê-se que o mesmo se aplica às feridas crónicas (Rhoads *et al.*, 2008). Os biofilmes são de um modo geral heterogéneos, contendo mais do que um microambiente distinto, por exemplo, no mesmo biofilme podem ser encontrados estratos aeróbios e estratos anaeróbios (Characklis & Marshall, 1989; Van Der Wende & Characklis, 1990), apesar de que, de acordo com Flemming (1993) cerca de 70 a 95% da matéria orgânica da massa seca do biofilme seja constituído por substância polimérica extracelular ("*Extracellular Polymeric Substances*" - EPS).

A presença de biofilme no leito da ferida crónica tem vindo a ser mencionado em estudos há vários anos (Mertz, 2003; Welsh, *et al.*, 2003, Serralta *et al.*, 2001, Bello *et al.*, 2001, citados por Wolcott & Rhoads, 2008), mas actualmente há evidências concretas da sua presença (James *et al.*, 2008).

Num estudo realizado num modelo suíno, por microscopia eletrónica e microscopia confocal a laser, verificaram, em queimaduras infectadas por *Pseudomonas aeruginosa*, que as bactérias se encontravam envolvidas numa matriz

Observação Clínica	Forma Planctónica	Forma Biofilme
<b>In vitro</b>	Contém proteínas e estruturas (flagelos e fimbria) que permitem a sua mobilidade e fixação.	Complexa colónia de bactérias constituída por diferentes proteínas (diferentes fenótipos) com diferentes papéis na sobrevivência. Fixam-se a um substrato, protegendo-se de múltiplas formas.
<b>In vivo</b>	Sensíveis aos antibióticos, biocidas e sistema imunitário.	Resistentes aos antibióticos, biocidas e sistema imunitário.
<b>Feridas agudas cicatrizam em 2-4 semanas e as feridas complexas na mesma área cicatrizam em 4-6 meses</b>	Nas feridas agudas, as formas planctónicas são eliminadas, impedindo a formação de biofilme.	Algumas bactérias podem invadir o sistema imunitário do hospedeiro e forma-se o biofilme; Interferem na cicatrização.
<b>Eficácia dos Antibióticos nas feridas agudas vs ineficácia nas feridas complexas</b>	Rápido crescimento bacteriano	Crescimento lento dos biofilmes é um factor facilitador à resistência
<b>Autoenxerto e Aloenxerto inviáveis em feridas</b>	As células planctónicas facilmente são eliminadas pelos neutrófilos, anticorpos e preparação do leito da ferida.	A sua aplicação sobre o biofilme vai traduzir-se numa fonte de alimento, resultando na inviabilidade do enxerto e promoção de exsudado, inflamação e odor.
<b>Culturas negativas em feridas</b>	A maioria é fácil de cultivar	Culturas negativas podem ocorrer (viáveis mas não cultiváveis)
<b>Feridas estagnadas numa fase inflamatória prolongada</b>	São facilmente eliminadas pela resposta inflamatória	Resistentes à resposta inflamatória. Alimentam-se do exsudado produzido. Promovem a inflamação prolongada.

Quadro 1: Forma planctónica versus biofilme: explicação para as observações clínicas

Adaptado: Wolcott (2008) – A study of biofilm-based wound management in subjects with critical limb ischaemia.

polimérica (Serralta *et al.*, 2001, citados por Cooper, 2010).

Noutra ocasião foi efectuado um estudo de referência por James *et al.* (2008), citados por Phillips *et al.*, (2010) e Wolcott e Rhoads (2008), através de microscopia de imagem electrónica a 50 feridas crónicas e 16 agudas. Os autores verificaram que, 60% das feridas crónicas possuíam biofilme e apenas 6% das feridas agudas apresentavam biofilme

(Steinberg, 2011; James *et al.*, 2008; Widgerow, 2008). Estes resultados sugerem para os autores que, não só as feridas crónicas apresentavam biofilme, como, também, a sua presença pode prejudicar a cicatrização, contribuindo para a cronicidade das feridas. Wolcott e Rhoads (2008) corroboram esse facto, sublinhando que, os biofilmes podem ser uma das causas da cronicidade das feridas. Phillips *et al.*, (2010) consideram, mesmo, que é provável que quase todas as feridas crónicas tenham biofilme, em pelo menos uma parte do leito da ferida.

Curiosamente, a libertação "deliberada" de bactérias planctónicas do biofilme tem sido proposto para manter uma resposta inflamatória em feridas (Wolcott *et al.*, 2008 citados por Cooper, 2010).

De um microrganismo plantónico a uma comunidade complexa com impressionantes defesas, incluindo um aumento da resistência aos antibióticos, biocidas, e imunidade humana, pode levar somente 10 horas (Fux, *et al.*, 2005, citados por Wolcott & Rhoads, 2008; Widgerow, 2008).

Já de acordo com Costerton (1984) e Bester *et al.* (2010) citados por Phillips *et al.* (2010), estudos experimentais têm mostrado que as bactérias planctónicas (como por exemplo, *estafilococos*, *estreptococos*, *Pseudomonas* e *Escherichia coli*), geralmente:

- Fixam-se em poucos minutos;
- As microcolónias formam-se dentro de 2-4 horas;
- A EPS forma-se em 6- 12 horas, tornando o biofilme cada vez mais resistente a biocidas e a antibióticos;

- O biofilme maduro pode começar a desprender bactérias planctónicas dentro 2-4 dias.

-Um biofilme maduro depois de libertar células bacterianas pode recuperar num espaço temporal de 24 horas.

Stoodley *et al.* (2001), citados por Association for the Advancement of Wound Care (2008), também, referem que **o biofilme leva cerca de 24 horas para restabelecer a sua biomassa**. Estes achados experimentais são fundamentais para a gestão dos biofilmes, pois significa que depois de desencadear a ruptura de células bacterianas planctónicas com desbridamento e tratamento tópico, como por exemplo com surfactantes, há uma **janela de oportunidade** de 24 horas, utilizando antimicrobianos, de forma a não se recuperarem.

Um biofilme pode se reconstituir numa ferida por (Phillips *et al.*, 2010):

- Crescimento a partir de bactérias planctónicas deixadas pelo desbridamento / limpeza;

-Crescimento por microorganismos recém introduzidos.

Segundo Gibson *et al.* (2009), parece provável que, em muitos casos, as feridas agudas sejam colonizadas por bactérias que em dias se transformam em bactérias de biofilme persistente, estabelecendo uma **fonte inflamatória a longo prazo**. Numa fase inflamatória prolongada existe um estímulo pró-inflamatório constante, com aumento de libertação de neutrófilos e leucócitos para o leito da ferida. Estes libertam espécies reactivas de oxigénio (ERO) e enzimas (Phillips *et al.*, 2010). As espécies reactivas de oxigénio são moléculas capazes de modificarem outras moléculas, como proteínas, hidratos de carbono, lipídios e o ácido desoxirribonucléico (DNA). Estas desenvolvem-se a partir do metabolismo

aeróbio do oxigénio, causando *stress* oxidativo. As ERO podem romper a membrana lipoproteica, destruir as funções enzimáticas celulares, alterar o DNA e conduzir à morte celular.

As enzimas produzidas pelas células inflamatórias são proteínas que facilitam reacções biológicas e que geralmente actuam sobre um número limitado de moléculas (conhecidas como substratos das enzimas), transformando-as fisicamente noutras substâncias. As proteinases (também conhecidas como proteases) são enzimas que actuam sobre as proteínas, geralmente fragmentando a molécula da proteína (Gibson *et al.*, 2009; Schultz *et al.*, 2009). Uma família específica de proteinases, as metaloproteinases da matriz - MMP's, são particularmente nocivas para o leito da ferida. Os substratos naturais para as diferentes MMPs variam substancialmente, mas incluem importantes proteínas da matriz extracelular (MEC), como o colagénio, a gelatina e os proteoglicanos. As MMPs degradam estas proteínas fragmentando-as em pequenas partes.

Segundo Gibson *et al.* (2009), a designação "matriz metaloproteinase" (ou "matriz metaloprotease") indica as propriedades-chave partilhadas pelas MMPs. Todas elas, preferencialmente, degradam as proteínas que compõem a matriz extracelular dos tecidos e requerem um ião metálico (zinco) no centro activo da enzima. Rhoads *et al.* (2008) defendem que, provavelmente, o biofilme pode desencadear uma resposta imunitária com aumento de MMP, como a MMP -2, MMP-8, MMP -9 e a elastase, para além de desencadear senescência com incapacidade funcional dos

fibroblastos, queratinócitos, e das células endoteliais para iniciar a angiogénese.

Quando sintetizadas inicialmente, as MMPs permanecem em forma latente (inactivas ou pro-MMP). Elas são activadas por outras proteases que recortam uma pequena parte da molécula, abrindo o centro activo da molécula MMP, permitindo ligar-se ao(s) substrato(s) da sua proteína. Outras moléculas designadas como inibidores de tecido de metaloproteinases (TIMPs) podem inibir as MMPs activadas e bloquear a activação de pro-MMPs (Gibson *et al.*, 2009).

Enquanto a maioria das MMPs é segregada para a MEC (matriz extracelular) circundante, algumas MMPs mantêm-se associadas a membranas celulares, sendo conhecidas como MMPs “tipo membrana” (MMP-TPs). Pensa-se que este grupo de MMPs desempenha um papel importante na activação de pro-MMPs, bem como na activação de pro-TNF (factor de necrose tumoral - um mediador importante envolvido na inflamação e morte celular) (Gibson *et al.*, 2009).

As MMPs, que essenciais para a cicatrização em feridas agudas, tornam-se prejudiciais nas crónicas, destruindo ou corrompendo continuamente as proteínas essenciais da MEC (Gibson *et al.*, 2009; Schultz *et al.*, 2009). Adicionalmente, as proteinases captam os factores de crescimento, tornando-os indisponíveis para o processo de cicatrização.

## 1.2. Mecanismos de resistência de bactérias

A capacidade de sobrevivência do biofilme é um resultado de estratégias de adaptação desenvolvidas ao longo de milhões de anos (Association for the Advancement of Wound Care, 2008).

Um dos grandes avanços da medicina tem sido o controlo de infecções através do uso de antibióticos, contudo estes têm uma eficácia limitada nos biofilmes, podendo estes **ser mil vezes mais resistentes** a antibióticos do que o mesmo organismo em forma plasmática, sendo ainda parcialmente protegidos da acção destruidora dos fagócitos (Davey & O’toole, 2000). Para Wolcott *et al.* (2009), os biofilmes podem **50 a 1500 vezes** mais ser resistentes aos antibióticos. Os biofilmes bacterianos são muito resistentes à eliminação efectuada pelos anticorpos do hospedeiro, pelas células inflamatórias, pelos antibióticos e pelos antissépticos (Gibson *et al.*, 2009; James *et al.*, 2008; Costerton J, Stewart, 2001). Wolcott e Rhoads (2008) corroboram, defendendo que o sistema imunitário e os antibióticos são mais bem-sucedidos em destruir bactérias individuais do que em biofilmes.

Para além das já mencionadas resistências, os biofilmes demonstram, também, resistência acrescida à radiação UV (Elasri & Miller, 1999) e à desidratação, pois a matriz de EPS é altamente hidratada. Flemming (1991) e Mittelman (1998) acrescentam, defendendo que os biofilmes têm processos de protecção contra factores ambientais agressivos, como por exemplo as flutuações de pH, concentração de sais, desidratação, substâncias químicas agressivas, agentes bactericidas (biocidas), predadores, antibióticos.

Existem algumas explicações que defendem as suas multi-resistências, tais como as que iremos explicar.

1. O desenvolvimento preferencial em superfícies inertes, tecidos mortos e instrumentos médicos (Costerton *et al.*, 1999, Yasuda *et al.*, 1994).

2. A capacidade para estabelecer e colonizar nichos ecológicos (Flemming, 1991; Mittelman, 1998).
3. A facilidade de desenvolvimento de microconsórcios que permitem o estabelecimento de relações de simbiose, bem como a utilização de substratos de difícil degradação (Flemming, 1991; Mittelman, 1998). Os biofilmes são ambientes ideais para o desenvolvimento de relações sintróficas, que é um tipo de simbiose onde dois tipos de organismos metabolicamente distintos dependem um do outro para utilizarem certos substratos, na produção de energia.
4. A matriz polimérica parece funcionar como uma barreira protectora contra factores agressivos externos - **efeito *Blocking*** (Phillips *et al.*, 2010). De acordo com alguns autores, esta matriz EPS tem o potencial de prevenir o acesso físico de certos agentes antimicrobianos (Allison, 2003; Elvers & Lappin-Scott, 2000;).
5. O *quorum sensing* regula actividades celulares, como a produção de metabolitos, como enzimas citotóxicas, conforme já referido. Loryman e Mansbridge (2007), citados por Steinberg (2011), observaram que o efeito do *quorum sensing* inibia a migração de queratinócitos.
6. O aumento da concentração de nutrientes nas interfaces líquido-biofilme uma vez que a matriz polimérica favorece a adsorção de moléculas de nutrientes (Flemming, 1991; Mittelman, 1998).
7. Os componentes da membrana externa das bactérias envolvidos na aderência, tais como pili, e a actividade flagelar por parte das células fixas inicialmente, designada por *twitching motility*, são necessárias para o desenvolvimento de biofilmes, como a de *P. aeruginosa* (O'Toole & Kolter, 1998).
8. O crescimento lento dos biofilmes é um factor facilitador à resistência (Costerton *et al.*, 1999; Yasuda *et al.*, 1994). Estas microcolónias têm ecologia diferente das formas planctónicas, pois elas proliferam mais devagar, prejudicando, portanto, a sua resposta a muitos antibióticos que agem essencialmente quando as células se encontram na fase mitótica. De acordo com Phillips *et al.* (2010), as bactérias em biofilme podem se encontrar, mesmo, em **estado de hibernação**, conforme já referido, em que as células estão metabolicamente quiescentes. As bactérias precisam de ser metabolicamente activas para poderem ser eliminadas pelos antibióticos.
9. A libertação de antígenos que levam à produção de anticorpos específicos e formação de imunocomplexos que podem provocar lesões nos tecidos adjacentes (Phillips *et al.*, 2010; Costerton *et al.*, 1999).
10. A possibilidade de troca de material genético devido aos longos tempos de retenção dos microrganismos (Flemming, 1991; Mittelman, 1998). Assim, esta comunidade bacteriana adquire novas informações genéticas. O designado processo de conjugação, ou seja, o mecanismo de **transferência de plasmídios** (porções de DNA), ocorre a uma taxa superior entre células em biofilmes do que entre células livres (Roberts *et al.* 1999; Steinberg, 2011), e estirpes de relevância médica contendo certos plasmídios demonstram maior tendência para a formação de biofilmes

(Ghingo, 2001). Assim, com esse mecanismo, **uma mesma bactéria pode adquirir resistência simultânea contra diversos antibióticos** diferentes das bactérias vizinhas (Steinberg, 2011; Phillips *et al.*, 2010).

11. Apresentam processos de transferência diferentes (Stewart, 2003), ou seja, as implicações físicas do crescimento em sistemas geometricamente tão diferentes, como o caso dos biofilmes em comparação com as células livres. Em culturas de células livres ou planctônicas, o transporte de solutos do meio líquido (normalmente bem homogeneizado) para uma célula, ou vice-versa, é um processo relativamente rápido, não constituindo um passo limitante na totalidade dos bioprocessos que ocorrem na célula. Agregados microbianos, no entanto, são ambientes densamente empacotados onde o **fluxo de líquido é limitado**. Apesar do facto de se observar fluxo de líquido ocorrendo nos canais de água dos biofilmes (De Beer *et al.* 1994; Stoodley *et al.*, 1994), nos agregados em si, toda a transferência de massa se dá através de difusão (De Beer *et al.*, 1994), um processo muito mais lento. Este facto é ainda agravado por limitações difusionais acrescidas, causadas pela matriz do biofilme (Stewart, 2003). Em agregados microbianos suficientemente espessos, usuais em biofilmes, as distâncias difusionais são suficientemente grandes para que o transporte de solutos de e para as células bacterianas interiores se torne lento em comparação com as cinéticas de bioprocessos dos microrganismos. Nestas situações formam-se gradientes de solutos

no biofilme, e a transferência de massa torna-se num processo limitante para os bioprocessos (Characklis *et al.*, 1990). Limitações de transferência de massa que impedem penetração eficiente de antibióticos no biofilme são também, frequentemente, apontadas como possíveis causas para a resistência a antibióticos.

De acordo com Donlan e Costerton (2002) e Gilbert *et al.* (2003), as limitações difusionais à passagem do agente pela matriz extracelular, são muitas vezes acompanhados por alterações/**mutações fenotípicas** das células no biofilme e ainda com o desenvolvimento de mecanismos de resistência por alteração do genótipo das células.

Nestes ambientes em limitação de transporte de solutos, os gradientes de concentração formados constituem condições favoráveis para a criação de micro-nichos. Baixas concentrações de oxigénio podem originar micro-ambientes propícios à proliferação de organismos anaeróbios, apesar da presença de oxigénio em solução no meio líquido.

Em suma, a resistência ocorre em função de inúmeros factores inter-relacionados, incluindo actividade metabólica diferencial, barreiras de difusão e ultra-estrutura da parede celular.

É fundamental, ainda, fazer a diferenciação dos 3 tipos de resistência: 1) resistência natural ou inerente ou intrínseca; 2) resistência adquirida devido à mutação e, 3) resistência por adaptação (Cloete, 2003; Heinzl, 1998).

Dos diferentes tipos de resistência bacteriana, a resistência intrínseca é considerado o mecanismo mais utilizado pelas bactérias para se adaptarem às condições físico-químicas

agressivas a que são submetidas (McDonnell & Russell, 1999).

Bactérias intrinsecamente resistentes são aquelas cujas propriedades naturais podem reduzir ou prevenir ações bacterianas. Um microrganismo, que apresente uma maior capacidade de produção de polímeros extracelulares, adere com maior facilidade a substratos sólidos por ligação entre as cadeias de polímeros situadas na parede do organismo e no substrato. Geralmente é verificado que as bactérias Gram – são menos susceptíveis a biocidas e antibióticos do que as bactérias Gram + (McDonnell & Russell, 1999).

No caso da resistência adquirida, os mecanismos de resistência surgem, geralmente, como resultado da aquisição de material genético ou de mutação. Também podem ocorrer trocas genéticas resultantes da conjugação, transformação ou mutações no genoma da célula (Cloete, 2003; Lambert *et al.*, 2001). Numa colônia de biofilme, onde as células microbianas estão mais próximas umas das outras, acredita-se que esta proximidade pode aumentar a troca de material genético.

A resistência adaptativa é um tipo de resistência que as bactérias rapidamente perdem assim que se alteram as condições fisiológicas (Heinzel, 1998).

### 1.3. Considerações Finais

O biofilme cada vez mais revela ser uma entidade de extrema relevância clínica, pois não somente constitui um entrave à cicatrização, pelo componente infeccioso, mas também consequentemente, pelo estímulo inflamatório que promove a cronicidade da ferida crônica.

Mais uma vez a evidência científica disponível vem a salientar a complexidade desta entidade,

que lhe confere ainda uma série de mecanismos de resistência face às modalidades terapêuticas tradicionais. Mais do que salientar o papel do biofilme na cronicidade da ferida, pretendeu-se com esta revisão, alertar para a necessidade de desenvolver estratégias cada vez mais diversificadas de abordagem deste problema, bem como para o abandono de algumas, ditas tradicionais, que podem trazer mais malefício que benefício, ao potenciar o desenvolvimento de microrganismos multi-resistentes, sendo que ficou bem patente a capacidade desta comunidade microbiológica, em desenvolver variados mecanismos de resistência.

A ideia central que fica, assenta na necessidade de desenvolver estratégias dirigidas ao biofilme, sempre que haja probabilidade da sua presença, para podermos ter um verdadeiro “biofilm based wound care”, pois se não encararmos esta entidade como associada à ferida, mas diferente desta, as consequências podem vir a ser desastrosas para o prognóstico da ferida.

É fundamental portanto saber reconhecer sinais e sintomas, que sugiram grande probabilidade de presença de biofilme e dispor de alternativas capazes para o seu tratamento, algumas já existentes, outras em desenvolvimento, mas que sejam verdadeiramente efectivas pois o biofilme já mostrou ser verdadeiramente complexo e eficaz, no que respeita à sua sobrevivência em relação a agressões exteriores.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Allison, D. G. (2003) The Biofilm Matrix. Biofouling. The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research. 19. p. 139-150



2. Association for the Advancement of Wound Care (AAWC). (2008) Advancing your practice: Understanding. In: Wound Infection and the Role of Biofilms. Malvern, PA.
3. Characklis, W. G., Marshall, K. C. (1990) Biofilm: A basis for an interdisciplinary approach. In: Characklis, W. G., Marshall, K. C (eds) Biofilms. John Wiley and Sons Inc. New York, 1990.
4. Characklis, W. G. et al (1990) Transport and interracial transfer phenomena. Biofilms. W. G. Characklis and K. C. Marshall. New York: Wiley Interscience, p. 316-340.
5. Cloete, T. E. (2003) Resistance mechanisms of bacteria to antimicrobial compounds. International Biodeterioration & Biodegradation. 51, p. 277-282
6. Cooper, R. (2010) Biofilms and wounds: much ado about nothing? Wounds uk, Vol 6, No 4. P. 84 – 90
7. Costerton JW. et al (1999) Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. In: Science. n: 284. p. 1318-322.
8. Cutting, K. F. (2010) Addressing the challenge of wound cleansing in the modern era. In: British Journal of Nursing (BJN). Vol.19, nº11 24-28.
9. Davey, E.; O'Toole, G. (2000) Microbial biofilms: from ecology to. Molecular genetics microbiol. In: Molec. Rev. 64(4):847 – 867.
10. DeBeer D., et al. (1994) Effects of biofilm structures on oxygen distribution and mass transport. Biotechnol. Bioeng. **43**, 1131–1138 .
11. Donlan, R. M.; Costerton, J. W. (2002) Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. Clinical Microbiology Reviews. 15, p. 167-193
12. Elasmri, M. O. and R. V. Miller (1999). "Study of the response of a biofilm bacterial community to UV radiation." Applied and Environmental Microbiology 65(5) (1999): 2025-2031
13. Elvers, K. E.; Lappin-Scott, H. M. (2000) Biofilms and biofouling. Encyclop of Microbiol. 1. p. 478-485
14. Gibson D, et al. (2009) MMPs Made Easy. Wounds International; 1(1). Available from [http:// www.woundsinternational.com](http://www.woundsinternational.com).
15. Ghingo, J. M. (2001) "Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development." Nature 412. 442-5.
16. James GA. et al (2008) Biofilms in chronic wounds. In: Wound Repair and Regeneration. nº16. p. 37-
17. Lambert, R. J. [et al] (2001) The relationships and susceptibilities of some industrial, laboratory and clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* to some antibiotics and biocides. Journal of Applied Bacteriology. 91, p. 972-984

18. McDonnell, G., Russell, A. D. (1999) Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance. *Clinic Microbiol. Rev.* 12, p. 147-179
19. O'Toole, G. A. and R. Kolter (1998). "Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development." *Mol Microbiol* 30: 1998. 295-304.
20. Phillips, P.L. et al (2010) Biofilms Made Easy. In: *Wounds International*. nº 1.
21. Potera, C. (1999). Forging a link between biofilms and disease. In: *Science*. nº 283, 1999. p.1837-1839.
22. Rhoads et al (2008) Biofilmes in Wounds: management strategies. In: *Journal of Wound Care* vol 17, no 11, november
23. Steinberg, J. (2011) The chronic wound and the role of biofilm. In: *podiatry*, 2011, p. 181-190. Disponível em: [www.podiatrym.com](http://www.podiatrym.com) management
24. Schultz, M. P. and Swain G. W. (2000). "The influence of biofilms on skin friction drag." *Biofouling* 15(1-3): 129-139.
25. Stewart, P. S. (2003) "Diffusion in biofilms." *Journal of Bacteriology* 185(5) 1485-1491.
26. Stoodley, P., et al (1994) Liquid flow in biofilm systems. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**, 2711-2716.
27. Widgerow, S (2008) Persistence of the chronic wound – implicating biofilm. In: *Wound Healing Southern Africa*;1(2):05-07
28. Wolcott, MD; Rhoads (2008) A study of biofilm-based wound management in subjects with critical limb ischaemia. in: *Journal of Wound Care* vol 17, no 4, 2008.