

BIOFILMES EM FERIDAS CRÔNICAS: UMA REVISÃO DE LITERATURA

BIOFILMS IN CHRONIC WOUNDS: A LITERATURE REVIEW

Thaís Nogueira Leite¹
 Lucas Gabriel Nunes Andrade²
 Cesario Rui Callou Filho³
 Ticiania Maria Lima Azevedo⁴
 Joyce Ribeiro Fonteles⁵
 João Jaime Giffoni Leite⁶

RESUMO

Estudo de natureza de revisão narrativa, que teve como fonte de dados artigos científicos com foco em biofilmes em sua natureza geral e biofilmes nas feridas crônicas. O biofilme de acordo com a evidência científica vem a salientar a sua complexidade, pois não somente constitui um entrave à cicatrização, pelo componente infeccioso, mas também consequentemente, pelo estímulo inflamatório que promove a cronicidade da ferida. Assim, os biofilmes bacterianos são considerados o mais importante dos quatro pilares da patogenicidade das feridas crônicas, sendo a sua remoção um passo essencial para a cicatrização.

Palavras-chave: Biofilmes; Feridas; Crônicas; Infeccioso; Cicatrização.

ABSTRACT:

Study of a narrative review nature, which had as a source of data scientific articles focusing on biofilms in their general nature and biofilms on chronic wounds. Biofilm according to scientific evidence emphasizes its complexity, since it is not a constitution that is an obstacle to healing by the infectious component, but also, consequently, by the inflammatory stimulus that promotes chronicity of the wound. Thus, bacterial biofilms are considered to be the most important of the four pillars of the pathogenicity of chronic wounds, being their removal an essential step for healing.

Keywords: Biofilms; Wounds; Chronic; Infectious; Healing.

¹ Graduanda no curso de Enfermagem no Centro Universitário Uninassau. E-mail: thaiswleyte@gmail.com.

² Acadêmicos do curso de Odontologia. Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza (FAMETRO), Ceará, Brasil. E-mail: lucas-nunes@hotmail.com

³ Fisioterapeuta. Mestre em Saúde Pública. Universidade de Fortaleza. Ceará, Brasil. E-mail: ruifisio@gmail.com.

⁴ Enfermeira. Centro Universitário Uninassau. Fortaleza, Ceará, Brasil. E-mail: ticianamaria81@hotmail.com.

⁵ Bióloga. Doutora em Microbiologia Médica. Centro Universitário Uninassau. Fortaleza. Ceará. Brasil. E-mail: joycebio@gmail.com.

⁶ Autor correspondente. Químico. Doutor em Ciências Médicas. Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza. Fortaleza, Ceará, Brasil. E-mail: jjgiffoni@yahoo.com.br. Financiamento Próprio João Jaime Giffoni Leite. Endereço: Rua Aracati, 139 – Benfica, Fortaleza, Ceará, Brasil. Telefone: (85) 99904.5287

1. INTRODUÇÃO

Uma ferida é caracterizada como o rompimento da integridade cutânea, podendo ter causas intencionais, traumáticas ou por isquemia. Sendo assim, a ferida é considerada uma deformidade, que pode atingir desde a epiderme até estruturas mais profundas. Dessa forma, torna-se um desafio tratar feridas, principalmente feridas consideradas crônicas, já que estas, não progridem através de um processo ordenado e oportuno para promover a integridade anatômica e funcional, perduram por muitos meses ou mesmo anos, e possuem recidivas frequentes (WAIDMAN et al., 2011).

Entende-se que, as feridas são decorrentes da perda tecidual com rupturas estruturais ou fisiológicas no tegumento que estimulam respostas de reparação complexa e baseada na interação entre células inflamatórias e mediadores. Quando esta interação é desregulada em favor dos micro-organismos, temos a infecção e com ela vários transtornos, desde os fisiopatológicos até os psicossociais (FERREIRA et al., 2004). A infecção na ferida crônica é persistente e recalcitrante, resultando na formação de comunidades bacterianas complexas denominadas biofilmes. Estes são um agregado de micro-organismos da mesma espécie, ou espécies diferentes, que após a adesão aos tecidos biológicos ou estruturas inertes, pelas bactérias pioneiras, excretam uma matriz composta por açúcares, proteínas e glicoproteínas (PERCIVAL; CUTTING, 2010).

Os biofilmes são comunidades que estão fixas a superfícies bióticas ou abióticas. Este se forma e fixa-se numa ferida seguindo três estágios principais: adesão reversível, adesão irreversível e maturação da substância polimérica extracelular (EPS) (PEDRO; SARAIVA, 2012). Tal como relata Phillips et al. (2010), no primeiro estágio, os micro-organismos encontram-se na forma planctônica, e pela sua natureza, tendem a fixar-se em uma superfície e, eventualmente, tornar-se-ão num biofilme; ainda assim, nesta fase a adesão ainda é reversível. Visto que, as bactérias ainda exibem movimentos e são facilmente removidas pela aplicação de forças mínimas (OLIVEIRA; BRUGNETRA; PICCOLI, 2010). No segundo estágio, a adesão passa a ser irreversível, pois, os micro-organismos multiplicam-se, diferenciam a sua expressão genética e aderem mais firmemente à superfície no intuito de sobreviverem. Segundo Steinberg e Siddiqui (2011), no último estágio, os micro-organismos sintetizam e excretam uma substância polimérica extracelular protetora que adere firmemente a uma superfície viva ou inanimada,

constituindo-se assim o biofilme. Depois de fixos e maduros, os biofilmes possuem a capacidade de dispersar para outras localizações e designar novos biofilmes, se despreendendo em células únicas ou fragmentos, visto que com o aumento da população microbiana, o ambiente se torna anaeróbico no interior do biofilme, provocando o aumento de concentração de ácidos e gases insolúveis, que enfraquecem a estrutura. (OLIVEIRA; BRUGNETRA e PICCOLI, 2010).

Os biofilmes bacterianos são altamente resistentes à eliminação efetuada pelos anticorpos do hospedeiro, pelas células inflamatórias, pelos antibióticos e pelos antissépticos (GIBSON et al., 2009). Alguns estudos indicam que a resistência do biofilme é explicada pela impenetrabilidade dos agentes antimicrobianos devido à presença de um polímero hidrofílico que reveste o biofilme e a estratégias de liberação dos agentes antimicrobianos (TIBA; NOGUEIRA; LEITE, 2009). As células presentes no interior do biofilme enfrentam muitas vezes condições de escassez de oxigênio e de nutrientes, o que as fazem entrar na fase estacionária de crescimento, gerando posteriormente o fenômeno denominado tolerância. Dessa forma, existem 2 subpopulações celulares distintas dentro do biofilme: uma metabolicamente ativa e a outra inativa. A 1ª está na área mais superficial em contato com o meio externo, se apresentando suscetível a ação dos antibióticos. A 2ª está embebida na matriz do interior do biofilme, apresentando uma divisão celular lenta. Além disso, há grande produção de enzimas que inativam antimicrobianos, o acúmulo dessas moléculas produz gradientes de concentração para fornecer proteção às células bacterianas (LACERDA, 2013). Conforme Cowan (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 câncer.

2. DESENVOLVIMENTO

Estudo de natureza de revisão narrativa, que teve como fonte de dados artigos científicos com foco em biofilmes nas feridas crônicas nos períodos de 2004 a 2016. Foram estabelecidos os seguintes critérios de inclusão: artigos em português; artigos em inglês; artigos que retratassem estudos referentes aos biofilmes em sua natureza geral e artigos referentes aos biofilmes em feridas crônicas.

O universo do estudo foi constituído por 36 artigos científicos, disponibilizados no banco de dados *LILACS* e diretório de revistas *Scientific Electronic Library Online*

(*SCIELO*). Após a primeira fase de seleção foram encontrados 34 artigos científicos envolvendo a temática. Ao final da pré análise, a parte da amostra analisada foram de 31 artigos.

As etapas operacionais do estudo foram: escolha da temática; seleção das fontes bibliográficas; critérios de inclusão e exclusão; seleção das publicações que abordavam a temática; extração de dados dos estudos selecionados a partir dos objetivos propostos; agrupamento dos itens selecionados por categorias e subcategorias e análise dos dados. Por fim, os estudos foram analisados criticamente por meio de leitura na íntegra dos artigos selecionados.

2.1 Biofilmes: Aspectos históricos e conceito

Inicialmente, as observações de biofilmes foram realizadas por Antonie Van Leeuwenhoek que, estudando amostras de dente no seu microscópio, notou mais fragmentos de células agregadas do que planctônicas. No entanto, a primeira publicação detalhada que descreve biofilmes foi descrita por Zobell em 1943, onde o autor iniciou estudos sobre a adesão de bactérias marinhas em cascos de navios e em diferentes tipos de superfície que incluíam vidro, metal e plástico que estavam submersas. Algumas das bactérias planctônicas estudadas têm a capacidade de aderir em várias superfícies. Sendo que estas células foram exaustivamente avaliadas, isoladas e identificadas (MENOITA et al., 2012).

De acordo com Menoita et al. (2012), o conceito de biofilme tem surgido gradualmente de estudos científicos durante longo período de tempo, porém, nas últimas duas décadas, essa concepção tem avançado consideravelmente. Então, biofilmes microbianos são constituídos de micro-organismos de estruturas simples, que estão presentes nos mais diversos, habitats, mas capazes de desenvolverem comportamentos bastante complexo.

2.2 Processo de formação dos biofilmes e sua estrutura

Os biofilmes podem ser definidos como formas de existência microbiana espacial e metabolicamente estruturadas em comunidades embebidas nas matrizes de substâncias poliméricas extracelulares e aderidas a superfícies bióticas ou abióticas. Esses micro-organismos podem existir como agregados, em camadas únicas ou arquiteturas tridimensionais. Quando compostos por várias camadas de células, apresentam canais que

permitem o fluxo de líquido e gases, a dispersão de nutrientes e o descarte de componente (OLIVEIRA et al., 2010).

Em superfícies abióticas, é fácil a visualização do biofilme a olho nu quando este tem um determinado tamanho e apresenta cor. Por outro lado, a identificação macroscópica de biofilmes em superfícies bióticas, nomeada em feridas crônicas, é teórico e baseado numa cor induzido pelos agregados sésséis ou micróbios (PERCIVAL et al., 2015).

No que diz respeito à composição, observa-se que água é a fração mais significativa, podendo chegar a 97% da matriz do biofilme. A matriz de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) de origem microbiana é responsável pela morfologia, estrutura, coesão e integridade funcional do biofilme. Embora haja a predominância de polissacarídeos em sua composição, esta também pode ser constituída por proteínas, como glicoproteínas, fosfolípidos e ácidos nucleicos (OLIVEIRA et al., 2010). As estruturas EPS dos biofilmes são utilizadas para a adesão do substrato, a estabilidade do biofilme, a incorporação de enzimas extracelulares e a retenção de água. No entanto, após o amadurecimento do biofilme, certos grupos de células podem se tornar móveis e se espalhar para iniciar novamente a formação do biofilme (ORELL et al., 2013).

2.3 Quorum Sensing: Uma conversa química entre os micro-organismos

Segundo Almeida (2014) em seus estudos, o *Quorum sensing* (QS) é um mecanismo de comunicação entre células microbianas que leva à expressão diferencial de genes em resposta a mudanças na densidade populacional. Mas para Rhoads et al. (2008), é um mecanismo intercelular de sinalização, que tanto pode ocorrer em células microbianas da mesma espécie como em interespecies.

As bactérias sintetizam compostos sinalizadores de baixo peso molecular, chamados de auto indutores (AIs), que são excretados no ambiente. Então, quando se atinge uma quantidade crítica desses compostos, as bactérias identificam a presença de um número suficiente ou quórum de bactérias e respondem por meio da ativação ou repressão de certos genes. Contudo, quando a densidade populacional de micro-organismos se eleva, o mesmo acontece com a concentração de AIs no meio, havendo, assim, influência sobre a regulação gênica (MENOITA, 2012). Dessa forma, as etapas do ciclo de um biofilme

requerem um sistema adequado de comunicação célula-célula (STEINBERG; SIDDIQUI, 2011).

Em vista disso, a sua fundamental importância consiste na distribuição, na ordenação e na sincronização, para a manutenção da relativa homeostase da comunidade microbiana, o que favorece o acesso a nutrientes ou a nichos ambientais mais favoráveis, permitindo que as bactérias organizem respostas defensivas, além de aperfeiçoar a capacidade das bactérias de se diferenciarem em formas mais bem adaptadas a sobreviverem em ambientes hostis (MENOITA, 2012).

2.4 Matriz extracelular e sua importância na estabilidade do biofilme

Os biofilmes consistem em grupos bacterianos heterogêneos que se organizam em superfícies. As bactérias nos biofilmes secretam EPS e outros componentes da matriz de biofilme que cercam e protegem o grupo, mas desta forma é um processo de desperdício para um indivíduo isolado (SCHUSTER et al., 2013).

Para Orell et al. (2013), a substância polimérica extracelular tem como principais componentes os exopolissacarídeos, o eDNA, os lipídios e as proteínas, bem como as enzimas envolvidas na degradação de polímeros para apoiar a oferta de nutrição e na modificação da matriz EPS em biofilmes maduros, formando o glicocálix. Essa é uma camada excessiva de material polimérico extracelular produzido pelas células bacterianas, quando aderentes (COOPER, 2010). Segundo Rhoads et al. (2008), por sua vez defendem que, geralmente o biofilme é constituído por 80% de EPS e os micro-organismos cerca de 20%.

A matriz polimérica pode ser composta por proteínas, substância húmicas, ácidos nucleicos (DNA, RNA), glicoproteínas, fosfolipídios (PHILLIPS et al., 2010), etc. Os exopolissacarídeos da EPS são considerados componentes importantes que determinam a estrutura e a integridade funcional do biofilme microbiano. A EPS age como barreira defensiva, protegendo as células para que não sejam arrastadas pelo fluxo de substâncias, contribuindo a célula a resistir a condições de *stress* múltiplo, tais como a diminuição de nutrientes e água, a presença de biocidas e outros agentes antimicrobianos e condições ambientais (MENOITA, 2012). As moléculas de QS também podem atuar como pistas biológicas ou ser usadas para imposição ou manipulação química de outros indivíduos (SCHUSTER et al., 2013).

2.5 Fisiopatologia da ferida e processo inflamatório

As feridas são rupturas estruturais ou fisiológicas no tegumento que dão início a respostas de reparação complexa e baseada na interação entre células inflamatórias e mediadores (PEDRO; SARAIVA, 2012).

As feridas agudas seguem gradativamente e de forma atempada as fases de cicatrização: hemostase, inflamação, proliferação e regeneração ou maturação. Já as feridas crônicas, pela sua natureza complexa, permanecem inertes numa das fases, geralmente inflamatória. A cicatrização de feridas é, assim, um processo fisiológico, através da qual o organismo substitui e recupera o tecido danificado, reconstruindo a integridade da pele com a maior brevidade de tempo possível (PEDRO; SARAIVA, 2012).

Existe uma série de barreiras para a cicatrização e fatores que aumentam o risco de infecção em uma ferida, como por exemplo, a idade, doenças sistêmicas (diabetes mellitus), alterações hematológicas, doenças cardiovasculares, nutrição pobre, desidratação, baixa resposta imunitária, baixa perfusão tecidual de oxigênio, etc. Infelizmente, mesmo quando estas barreiras são bem geridas, os resultados nem sempre parecem ser consideravelmente melhorados (CUTTING, 2010; PERCIVAL; CUTTING, 2009; WOLCOTT; RHOADS, 2008).

Por certo, é inevitável que feridas crônicas sejam colonizadas por micro-organismos, mas o sistema imunitário quando inato, geralmente elimina a carga microbiana no decurso da cicatrização de feridas. No entanto, quando este está comprometido, a proliferação da carga microbiana sobrecarrega a resposta do sistema imunológico sendo capaz de uma colonização crítica e até à infecção (STEINBERG; SIDDIQUI, 2011).

As feridas crônicas possuem o ambiente ideal para a formação de biofilmes. O tecido necrótico e os detritos permitem a adesão bacteriana e as feridas são suscetíveis à infecção devido a resposta debilitada do sistema imunitário (ZHAO et al., 2013)

Os biofilmes têm sido associados a infecções crônicas em feridas, porque estes organismos geralmente resistem aos mecanismos de defesa do hospedeiro e às intervenções dos antimicrobianos, usufruindo das condições da ferida para ganhar vantagem e proliferar (PEDRO; SARAIVA, 2012). Eles são relatados como um fator importante que colaboram para múltiplas doenças inflamatórias crônicas, é provável que quase todas as feridas crônicas têm comunidades de biofilme em pelo menos parte do leito da ferida (PHILLIP et al., 2010).

De acordo com 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 incessante, com aumento de liberação de neutrófilos e leucócitos para o leito da ferida. Estes liberam espécies reativas de oxigênio (EROs) e enzimas (PHILIPPS et al., 2010).

Desta forma há necessidade de desenvolver estratégias dirigidas ao biofilme, sempre que haja probabilidade da sua presença, pois estas entidades associadas às feridas podem causar consequências desastrosas para o prognóstico da ferida. Assim, os biofilmes bacterianos são considerados o mais importante dos quatro pilares da patogenicidade das feridas crônicas, sendo a sua remoção um passo essencial para a cicatrização (PEDRO; SARAIVA, 2012). Para garantir essa cicatrização é necessário controlar fatores como a infecção a relevância dos biofilmes e o papel destes na cicatrização (PINTO, 2016).

2.6 Tratamento de feridas crônicas acometidas por biofilmes

O diagnóstico da existência de biofilmes torna-se dificultoso pela presença de células bacterianas de crescimento lento que residem no estado do biofilme. Além do mais, a presença de pequenas variantes de colônias e células persistentes dentro do biofilme impossibilitam a capacidade de diagnosticar uma infecção pelo biofilme. Porém, para a obtenção do diagnóstico, os sintomas clínicos incluem rubor, dor, umidade excessiva, infecção persistente, falha no tratamento antimicrobiano, resultados negativos em cultura, apesar da colonização bacteriana e ferida recalcitrante (PERCIVAL et al., 2015; FONSECA, 2011).

Pedro et al. (2012) afirmam que a elevada prevalência das feridas crônicas no contexto atual e o seu impacto tanto a nível individual quanto econômico, dado os elevados custos associados ao seu tratamento, tornam este aspecto da saúde um assunto significativo em saúde pública e consequentemente remete para a reflexão crítica sobre a qualidade dos cuidados de saúde. Nessa lógica, o tratamento de feridas crônicas representa um grande desafio para os profissionais de saúde.

Steinberg e Siddiqui (2011) relatam que o cadexomero de iodo é um antisséptico eficaz para feridas cronicamente exsudativas que atua contra a produção de glicocálix ou material polimérico, destruindo diretamente a estrutura do biofilme. Este pode

ser usado na supressão de biofilmes sem causar dano significativo nas células do hospedeiro (PERCIVAL; CUTTING, 2009).

Diversos estudos *in vitro* têm indicado que aplicação tópica de prata e iodopovidona, por si só, têm pouco efeito sobre os biofilmes (LENSELINK; ANDRIESSEN, 2011). Conforme Phillips et al. (2010), os princípios implicados na prevenção da reconstituição do biofilme incluem a utilização de agentes antimicrobianos de largo espectro como: prata, iodo, mel e polihexanida (PHMB) que existem em diversas formulações.

Dentre os antissépticos mais utilizados, a PHMB surgiu recentemente como uma alternativa aceitável aos tratamentos baseados em prata e iodo na prevenção e combate de infecção das feridas, proporcionando condições favoráveis ao processo de cicatrização, verificando-se redução do tempo de cicatrização e redução significativa dos sinais inflamatórios e/ou de infecção/colonização (PEDRO; SARAIVA, 2012).

A PHMB, designação dada à hidrócloro polihexametileno-biguanida, é uma solução eficiente e segura na limpeza de feridas crônicas, principalmente quando há suspeita de presença de biofilme (CUTTING, 2010; HORROCKS, 2006). Tem atividade biocida de amplo espectro e não há relatos de bactérias resistentes. Provoca lise celular, impulsionando na membrana um *stress* osmótico (CUTTING, 2010). Este antisséptico combina um largo espectro antimicrobiano com baixa toxicidade, alta compatibilidade com tecido, sem absorção sistêmica e boa aplicabilidade (HÜBNER; KRAMER, 2010).

Dentre outras vantagens, pode-se citar: não provoca irritabilidade cutânea, desconhecendo-se desenvolvimento de alergias; não provoca desidratação do leito da ferida; indolor na aplicação e/ou remoção; elimina odores; não interfere com o processo de granulação, assegurando condições favoráveis ao processo de cicatrização; compatível com outros produtos ao nível do tratamento de feridas em ambiente úmido; eficaz na eliminação de biofilmes e possui uma validade de oito semanas depois de aberta (FARIA, 2009; GILLIVER, 2009; EBERLEIN; ASSADIAN, 2010; GRAY et al., 2010; KAEHN, 2010; HÜBNER; KRAMER, 2010).

De acordo com Fonseca (2011), o principal objetivo deve ser sempre a prevenção, para que seja possível reduzir a quantidade de agentes patogênicos assim como os fatores de virulência.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O biofilme, de acordo com a evidência científica, vem a salientar a sua complexidade, pois não somente constitui um entrave à cicatrização, pelo componente infeccioso, mas também conseqüentemente, pelo estímulo inflamatório que promove a cronicidade da ferida crônica.

Nesse contexto, há diversos aspectos que precisam ser revistos no modo de cuidar do paciente portador de ferida crônica, incluindo diversos aspectos tais como: físico, psicológicos, culturais e as condições dos serviços e a capacitação dos profissionais da saúde. O desbridamento e uso de antissépticos tópicos, também são estratégias para prevenção de biofilmes e seus agravos, visto que o processo de remoção destes não é definitivo, mas preventivo para que sua interferência na cicatrização das feridas seja de nível baixo.

O presente estudo evidenciou o histórico, a formação e a prevenção dos biofilmes nas feridas crônicas. Considerando que, a capacidade de adaptação destes micro-organismos e seus correspondentes mecanismos de sobrevivência são crescentes, é possível salientar a complexidade, a resistência e o tratamento do biofilme na cronicidade da ferida.

Pretendeu-se com esta revisão compreender de forma global sobre este agravo, visando posteriormente à cura ou cicatrização, além da prevenção para a melhora da condição clínica e social dos clientes.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, F., et al. 2014. Influência do quorum sensing na formação de biofilme e no perfil de expressão de proteínas de *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis, 2014. **Dissertação (Título de Magister Scientiae)**, Universidade Federal de Viçosa.
2. COOPER, R., et al. 2010. Biofilms and wounds: much ado about nothing. **Wounds UK**, v. 6, n. 4, p. 84-90, 2010.
3. COWAN, T., et al. 2010. Biofilms and their management: implications for the future of wound care. **Journal of Wound Care**, v. 19, n. 3, p. 117-120, 2010.
4. CUTTING, K.F., et al. 2010. Addressing the challenge of wound cleansing in the modern era. **British Journal of Nursing**, v. 19, n. 11 Suppl, p. S24-S29, 2010.

5. EBERLEIN, T.; ASSADIAN, O., et al. 2010. Clinical use of polihexanide on acute and chronic wounds for antisepsis and decontamination. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 23, n. Suppl. 1, p. 45-51, 2010.
6. FARIA, L., et al. 2009. Limpeza de feridas: reflexão para mudança de práticas. **Revista Sinais Vitais**, n. 86, p. 48-53, 2009.
7. FERREIRA, A.M.; SANTOS, I.; SAMPAIO, C.E.P., et al. 2004. O cuidado de enfermagem nos procedimentos de coleta para análise microbiológica de feridas: aplicabilidade de duas técnicas. **Arquivos de Ciência da Saúde**, v. 11, n. 3, p. 137-41, 2004.
8. FONSECA, A.P., et al. 2011. Biofilms in wounds: An unsolved problem? **EWMA Journal**, v. 11, n. 2, p. 10-23, 2011.
9. GIBSON, D.; CULLEN, B.; LEGERSTEE, R., et al. 2009. MMPs Made Easy. **Wounds International**, 2009.
10. GILLIVER, S., et al. 2009. PHMB: a well-tolerated antiseptic with no reported toxic effects. **Journal of Wound Care**, 2009.
11. GRAY, D.; BARRETT, S.; BATTACHARYYA, M., et al. 2010. PHMB and its potential contribution to wound management. **Wounds UK**, v. 6, n. 2, p. 40-46, 2010.
12. HORROCKS, A., et al. 2006. Prontosan wound irrigation and gel: management of chronic wounds. **British Journal of Nursing**, v. 15, n. 22, 2006.
13. HÜBNER, N.O., KRAMER, A., et al. 2010. Review on the efficacy, safety and clinical applications of polihexanide, a modern wound antiseptic. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 23, n. Suppl. 1, p. 17-27, 2010.
14. KAEHN, K., et al. 2010. Polihexanide: a safe and highly effective biocide. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 23, n. Suppl. 1, p. 7-16, 2010.
15. LACERDA, G.L., et al. 2013. Biofilmes microbianos e resistência a antibióticos. **Saúde com Ciência**, v. 1, n.1, p. 202-251, 2013.
16. LENSELINK, E.; ANDRIESSEN, A., et al. 2011. A cohort study on the efficacy of a polyhexanide-containing biocellulose dressing in the treatment of biofilms in wounds. **Journal of Wound Care**, v. 20, n. 11, p. 534-539, 2011.
17. MENOITA, E.; SANTOS, A.S.; SANTOS, V., et al. 2012. Biofilms: Knowing the entity. **Journal of Aging & Innovation**, v. 1, n. 2, p. 23-32, 2012.

18. OLIVEIRA, M.M.M.; BRUGNETRA, D.F.; PICCOLI, R.H., et al. 2010. Biofilmes microbianos na indústria de alimentos: uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 69, n. 3, p. 277-284, 2010.
19. ORELL, A.; FRÖLS, S.; ALBERS, S., et al. 2013. Archaeal Biofilms: The Great Unexplored, **Revisão Anual de Microbiologia** v. 67, n. 1, p. 337-354, 2013.
20. PEDRO, I.; SARAIVA, S., et al. 2012. Nursing Intervention for Biofilm management en Complex Wounds **Journal of Aging & Inovation**, v.1, n. 6, p. 78-88, 2012.
21. PERCIVAL, S.; CUTTING, K., et al. 2009. Biofilms: Possible Strategies for Suppression in Chronic Wounds. **Nursing Standard**, v. 23, n. 32, p. 64, 2009.
22. PERCIVAL, S.; CUTTING, K., et al. 2010. Microbiology of wounds. **CrC press**, 2010.
23. PERCIVAL, S.L.; VUOTTO, C.; DONELLI, G., et al. 2015. Biofilms and Wounds: An Identification Algorithm and Potential Treatment Options. **Advances in Wound Care**, v. 4, n. 7, p. 389-397, 2015.
24. PHILLIPS, P.L.; WOLCOTT, R.D.; FLETCHER, J., et al. 2010. Biofilms made easy. **Wounds International**, v. 1, n. 3, p. 1-6, 2010.
25. PINTO, G.P.N.M., et al. 2016. Biofilmes e feridas crônicas, 2016. **Monografia (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)** Universidade Fernando Pessoa.
26. RHOADS, D.D.; WOLCOTT, R.D.; PERCIVAL, S.L., et al. 2008. Biofilms in wounds: Management Strategies. **Journal of Wound Care**, v. 17, n. 11, p. 502, 2008.
27. SCHUSTER, M.; SEXTON, D.J.; DIGGLE, S.P., et al. 2013. Acyl-Homoserine Lactone Quorum Sensing: From Evolution to Application, **Annual Review of Microbiology**, v. 67 p. 43-63, 2013.
28. STEINBERG, J.; SIDDIQUI, F., et al. 2011. The Chronic Wound and the role of biofilm. **Podiatry Management**, 2011.
29. TIBA, M.R.; NOGUEIRA, G.P.; LEITE, D.S., et al. 2009. Estudo dos fatores de virulência associados à formação de biofilme e agrupamento filogenético em *Escherichia coli* isoladas de pacientes com cistite. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 1, 2009.

30. WAIDMAN, M.A.P.; ROCHA, S.C.; CORREIA, J.L., et al. 2011. O Cotidiano do Indivíduo com Ferida Crônica e Sua Saúde Mental. **Texto e Contexto Enfermagem**, v. 20, n. 4, 2011.
31. ZHAO, G.; USUI, M.L.; LIPPMAN, S.I., et al. 2013. Biofilms and Inflammation in Chronic Wounds. **Advances in Wound Care**, v. 2, n. 7, p. 389-399, 2013.