



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Cátia Sofia Miranda da Cunha

RELATÓRIOS DE ESTÁGIO E MONOGRAFIA INTITULADA
“FERIDAS CRÓNICAS E O PAPEL DOS BIOFILMES”

Referentes à unidade curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Maria João Duarte,
Dra. Raquel Silva e Professora Doutora Olga Cardoso, apresentados à Faculdade de Farmácia
da Universidade de Coimbra para apreciação na prestação de provas públicas
do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2019



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Cátia Sofia Miranda da Cunha

**RELATÓRIOS DE ESTÁGIO E MONOGRAFIA INTITULADA
“FERIDAS CRÓNICAS E O PAPEL DOS BIOFILMES”**

Referentes à unidade curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Maria João Duarte,
Dra. Raquel Silva e Professora Doutora Olga Cardoso, apresentados à Faculdade de Farmácia
da Universidade de Coimbra para apreciação na prestação de provas públicas
do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2019

Declaração de Autoria

Eu, Cátia Sofia Miranda da Cunha, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2014192073, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Feridas Crónicas e o Papel dos Biofilmes” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 06 de setembro de 2019

(Cátia Sofia Miranda da Cunha)

Agradecimentos

Como num livro, a conclusão de um capítulo exige uma retrospectiva do mesmo. Chega o momento de refletir sobre a importância que todos os momentos e pessoas tiveram para o desfecho deste capítulo e a influência que se antevê virem a ter no meu futuro.

Dessa retrospectiva nasce a necessidade de agradecer porque sem vocês o resultado seria necessariamente diferente. Assim, o meu mais sincero obrigado a todos aqueles que entraram neste último capítulo e, em particular, àqueles em que nele se envolveram:

- Aos meus pais e à minha irmã, que me ajudaram a crescer, apoiaram incondicionalmente as minhas (in)decisões e nunca me ensinaram o que era desistir;
- Aos amigos: aos de sempre, aos que me ensinaram a viver Coimbra e aos que a partilharam comigo;
- À professora Olga Cardoso, pela disponibilidade e atenção aos detalhes;
- A toda a equipa da Farmácia Estácio Rossio, por me fazerem apaixonar por farmácia comunitária;
- A toda a equipa da CEIC, pela paciência e ensinamentos;
- Ao Wilson, pelas correções literárias, críticas estruturadas e, principalmente, por toda a motivação;

A Coimbra, onde cheguei semente;
e a Lisboa, que me viu florir;
Obrigada!

Capítulo I:
Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Índice

Índice	4
Lista de abreviaturas	5
Introdução	6
Análise SWOT.....	7
Pontos Fortes	8
1. Organização e Equipa Técnica.....	8
2. Localização da Farmácia.....	8
3. Autonomia no atendimento ao público	9
4. Serviços prestados pela farmácia.....	9
Pontos Fracos.....	10
1. Aconselhamento.....	10
2. Encomendas e compras	11
Oportunidades	11
1. Quadro temporal do estágio.....	11
2. Turismo	12
3. Remodelação da farmácia.....	12
Ameaças.....	13
1. Confiança do utente.....	13
2. Disponibilidade de informação.....	13
Casos Clínicos	14
Caso Clínico 1	14
Caso Clínico 2.....	14
Caso Clínico 3.....	15
Conclusão.....	16
Bibliografia	17

Lista de abreviaturas

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

MSRM – Medicamento Sujeito a Receita Médica

OTC – *over-the-counter*

SNS – Sistema Nacional de Saúde

Introdução

O estágio em Farmácia Comunitária como parte integrante do plano curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) tem um papel fundamental no desenvolvimento científico e pessoal dos estudantes. Além de sedimentar conhecimentos teóricos adquiridos durante as restantes Unidades Curriculares do curso e desenvolver espírito crítico aquando da sua aplicação prática, fornece-nos uma visão real e em tempo adequado à principal área onde a atuação do farmacêutico é manifestada em Portugal. O farmacêutico comunitário tem uma responsabilidade acrescida na gestão da saúde uma vez que tem um papel ativo quer na resolução de problemas *minor*, que levam o utente a procurar ajuda primária junto da sua farmácia, quer em patologias graves, após consulta médica, onde ativamente desmistifica medos e crenças associadas a medicação prescrita e incentiva a adesão à terapêutica. (PITA, João Rui et al, 2016)

A Farmácia Estácio Rossio foi a farmácia que seleccionei para a realização do estágio curricular durante os quatro primeiros meses do ano corrente, sob a orientação da Dra. Maria João Duarte, diretora técnica da farmácia, e das farmacêuticas adjuntas Dra. Cláudia Mendes e Dra. Susana Neves. A farmácia localiza-se na Praça D. Pedro IV, na cidade de Lisboa, um local bastante movimentado e onde o turismo é abundante, o que justifica um horário de 7 dias por semana. Durante os dias úteis, a farmácia encontra-se aberta desde as 8:30 às 20h e, aos fins de semana, das 10 às 19h. A escolha da farmácia recaiu sobre o facto de ser uma farmácia grande, central e de referência.

A equipa da Farmácia Estácio é composta por cinco farmacêuticos e três auxiliares de farmácia, uma técnica de dermocosmética e um técnico de encomendas. Dentro da equipa, cada um tem funções para as quais está melhor adaptado e sobre as quais tem um domínio superior aos demais, pelo que, a entreatajuda na equipa é constante o que me possibilitou uma aprendizagem mais dinâmica e integração mais rápida. Além disso, a farmácia trabalha sob o modelo de organização *kaizen*, pelo que se tornou fácil perceber a dinâmica e adaptar-me facilmente às regras da mesma.

O meu estágio teve um período inicial em que o dia era dividido entre atividades de *back office* e observação de atendimentos. Nas atividades de *back office* destaco: entrada de encomendas diárias e manuais, conferência física de encomendas, verificação de prazos de validade, organização de gavetas e lineares, reposição de gavetas, lineares e *robot*. Após três semanas, iniciei o atendimento autónomo, assim como a medição de parâmetros bioquímicos e apoio ao laboratório nos dias de maior afluência de manipulados.

Análise SWOT

Neste documento, apresentarei o meu estágio em farmácia comunitário sob a forma de uma análise SWOT. Esta análise tem como objetivo refletir sobre os aspetos positivos e negativos do estágio, tanto do ponto de vista interno como do ponto de vista externo. Assim, a análise interna à própria farmácia abordará os Pontos Fortes (S – Strengths) e Pontos Fracos (W – Weaknesses), enquanto a análise dos fatores externos recai sobre o estudo das Oportunidades (O – Opportunities) e Ameaças (T – Threats) do meio envolvente. Desta análise SWOT será possível deduzir uma estratégia futura com base em estabelecimento de objetivos e metas que diminuam o impacto das ameaças e pontos fracos e permitam usufruir das oportunidades e pontos fortes. (FERNANDES, Djair Roberto, 2012)

De seguida apresenta-se uma tabela que sintetiza a análise SWOT derivada da minha experiência enquanto estagiária da Farmácia Estácio Rossio.

Tabela 1, I: Análise SWOT do estágio na Farmácia Estácio Rossio

Pontos Fortes	Pontos Fracos
Organização e equipa técnica Localização da farmácia Autonomia no atendimento ao público Serviços prestados na farmácia	Aconselhamento Encomendas e compras
Oportunidades	Ameaças
Quadro temporal do estágio Turismo Remodelação na farmácia	Confiança do utente Disponibilidade de informação

Pontos Fortes

1. Organização e equipa técnica

A Farmácia Estácio Rossio é uma farmácia de dimensão média/grande cuja zona de atendimento dispõe de cinco balcões, sendo três deles destinados à dispensa de medicação sujeita a receita médica, auxiliados por *robot*, e os restantes dois destinados a aconselhamento de produtos *over-the-counter* (OTC's) e produtos de dermocosmética, que se encontram no lado oposto da farmácia por forma a dispersar os utentes e as filas. Além disso dispõe de três gôndolas centrais reservadas à exposição de promoções/campanhas e produtos sazonais, uma zona de teste de produtos, onde as conselheiras das marcas que visitam a farmácia podem dar a conhecer os seus produtos, e lineares de parede, organizados por áreas, sendo exemplos a área de puericultura, a área de cuidados dos pés, a área de produtos biológicos e mesmo a área do turista. A zona de atendimento apresenta assim uma organização ideal em que tanto o utente como o profissional de saúde conseguem facilmente encontrar o que procuram.

Toda a organização da farmácia, assim como a presença do *robot*, permitiu-me fácil e rapidamente perceber onde encontrar os produtos que necessitava diminuindo o tempo na procura dos mesmos e podendo, dessa forma, focar o meu tempo no utente, prestando-lhe o melhor aconselhamento que me era possível. Além disso, sendo a equipa relativamente grande, disponha sempre de alguém disponível para responder às minhas dúvidas e preocupações em relação ao aconselhamento e me orientar nos casos a que oferecia mais resistência.

No que diz respeito à equipa, esta mostrou-se também muito empenhada na minha aprendizagem pelo que, perante alguns casos interessantes que lhes surgiam durante os atendimentos, ativamente me davam os dados dos mesmos para que eu pudesse estudar o enquadramento teórico, tirar conclusões e sugerir aconselhamento. Assim, o meu estágio teve também uma componente teórica forte e ativa.

2. Localização da Farmácia

Sendo uma farmácia inserida num ponto turístico de Lisboa, a grande maioria dos utentes são turistas que procuram alívio sintomático de patologias *minor*, muitas vezes questionando-nos sobre OTC's que não se comercializam em Portugal, ou alívio de sintomas que exigem consulta médica quando pretendem fazê-lo apenas no regresso ao seu país de origem. Assim, o aconselhamento farmacêutico foi uma constante no dia-a-dia

do meu estágio, e a busca de alternativas de medicamento não sujeitos a receita médica (MNSRM) disponíveis em Portugal que pudessem satisfazer igualmente o utente, sempre tendo em atenção o doente, a sua idade e potenciais patologias que apresentasse, tornou-se um desafio aliciante.

A localização da farmácia é ainda mais rica por se encontrar nas proximidades do Hospital de São José. Por esse motivo, recebe também diariamente muitas pessoas com receituário de urgência ou de consultas, ao qual é preciso dar resposta imediata, instruir sobre a adesão à terapêutica e muitas vezes explicar ao utente o diagnóstico médico para incentivar a mesma.

Deste modo, a localização da Farmácia Estácio enriqueceu substancialmente o meu estágio uma vez que me permitiu o contacto com o mais variado tipo de utentes, em termos de faixa etária, estatuto social e preocupações, permitindo-me adotar estratégias diferentes e adequadas a cada um e despertando o meu interesse em farmácia comunitária.

3. Autonomia no atendimento ao público

No que diz respeito ao atendimento propriamente dito, o meu estágio foi dividido em dois períodos. No primeiro período que durou cerca de três semanas foi-me sugerido fazer de sombra de qualquer um dos farmacêuticos. Este período foi essencial para perceber como adaptar a linguagem ao utente assim como para me familiarizar com o funcionamento do Sifarma 2000® e com a dinâmica do trabalho, como procurar no histórico do utente, como fazer reservas de produtos, entre outras.

Após esse período observacional, foi-me dado total autonomia nos atendimentos, sempre com alguém disponível no *back office* a quem poderia expor as dúvidas resultantes da conversa com o utente antes da tomada de decisões. Este método foi bastante enriquecedor uma vez que me permitiu aprender rapidamente a postura a tomar perante o utente assim como me obrigou a conseguir recolher toda a informação pertinente para gerir o seu problema antes de avançar na tomada de decisão.

4. Serviços prestados pela farmácia

Na Farmácia Estácio são efetuados alguns serviços em que destaco: medição de parâmetros fisiológicos (pressão arterial) e bioquímicos (colesterol total, perfil lipídico, glicémia e hemoglobina), administração de injetáveis, consultas de nutrição e podologia e

preparação de medicamentos manipulados. Além disso, por pertencer ao grupo “maisfarmácia”, a Farmácia Estácio acolheu um projeto piloto de detecção rápida de *Streptococcus* do grupo A, pelo que tive formação acerca do mesmo e pude realizá-lo algumas vezes durante o estágio de forma a aconselhar e educar um utente com queixas de dor de garganta sobre a necessidade de ida ao hospital ou apenas de suporte sintomático.

À semelhança do sucedido no atendimento, todas as medições de parâmetros fisiológicos e bioquímicos me foram explicadas e exemplificadas num primeiro momento, tendo, posteriormente, total autonomia na realização das medições e no aconselhamento farmacológico e não farmacológico daí decorrente.

No que diz respeito ao serviço de consultas de nutrição, este foi uma mais valia no meu estágio curricular porque pude ter formação com a nutricionista que visitava a Farmácia Estácio, na qual me foi explicado todo o decorrer da consulta assim como os produtos da linha EasySlim®, o que me proporcionou um maior conforto no aconselhamento e explicação dos mesmos aos utentes.

Tive também a oportunidade de acompanhar os farmacêuticos alguns dias no laboratório. Nos primeiros dias foi-me explicado todo o processo desde a chegada da receita à farmácia, impressão de fichas de produção e rótulos, até à sua manipulação, controlo de qualidade, faturação e entrega ao doente (via Alliance Healthcare, CTT ou presencial). Mais tarde pude participar na manipulação, nomeadamente de cápsulas de ivermectina (de diferentes dosagens), solução de minoxidil a 5%, soluto de lugol a 2% e solução alcoólica de ácido bórico à saturação.

Participar ativamente em todos os serviços prestados pela farmácia constituiu um dos pontos fortes do meu estágio uma vez que me permitiu ver de perto o grande potencial do farmacêutico comunitário e as suas valências dentro da farmácia comunitária.

Pontos Fracos

1. Aconselhamento

O aconselhamento farmacêutico é um ato de grande responsabilidade e que exige algum à vontade com o utente e com os produtos disponíveis. O facto de a farmácia ter grandes dimensões e uma variedade de produtos imensa, refletiu-se numa dificuldade inicial de conhecer bem todos os produtos disponíveis para aconselhamento,

principalmente na área da dermocosmética. Esse facto levou a que, por variadas vezes, tivesse de pedir a intervenção dos colegas para prestar o cuidado mais adequado ao utente.

A insegurança na tomada de decisões associado a algum nervosismo, por vezes refletiu-se em reticência, por parte do utente, ao meu aconselhamento. Na maioria das vezes consegui colmatar essa reticência uma vez que expunha ao doente o que achava mais adequado, mas pedia-lhe que aguardasse enquanto confirmava com os colegas mais experientes a minha decisão. Dessa forma, e aliado a algumas formações internas e externas a que tive oportunidade de assistir, consegui com o decorrer dos meses sentir-me mais segura e confiante, pelo que as situações incomodas foram sendo cada vez menos frequentes.

2. Encomendas e compras

A gestão de encomendas e compras, receção e tratamento das mesmas foi pouco explorada durante o meu estágio curricular. Apesar de me terem sido explicadas e exemplificadas todo o tipo de encomendas (diretas, instantâneas e via verde) aos armazenistas, assim como encomendas diretas aos laboratórios, a transferência de produtos entre a Farmácia Estácio Rossio e a Farmácia Estácio Xabregas, e ainda a forma de processar devoluções de produtos em estado incompatível com a dispensa ou pedidos por engano, dediquei muito pouco tempo do meu estágio a executá-las e algumas delas não executei sozinha.

O foco do meu estágio foi sempre o atendimento, apesar de reconhecer as atividades de *back office* como sendo um ponto fulcral no bom funcionamento e gestão da farmácia comunitária, uma vez que têm impacto direto na gestão do atendimento quando bem executadas.

Oportunidades

1. Quadro temporal do estágio

O período no qual decorreu o meu estágio em farmácia comunitária, de janeiro a abril, permitiu-me ter contacto com as principais preocupações sazonais dos utentes. O início do estágio foi principalmente marcado por patologias respiratórias associadas a gripes, constipações e dores de garganta sendo que a partir de março o mais frequente

passou a ser a gestão de alergias, associadas ao início da primavera, e os cuidados de pele, nomeadamente a proteção solar.

Assim, tive oportunidade de explorar profundamente os produtos a ser aconselhados em cada situação tendo em atenção o utente, os seus problemas e preocupações. Além disso, a mudança sazonal refletiu-se numa mudança de estratégia nos lineares e na visita de vários delegados que me deram formação complementar sobre os produtos, contribuindo ainda mais para consolidar a teoria já aprendida e ter mais confiança ao utilizá-la.

2. Turismo

A grande afluência de turistas na Farmácia Estácio é um ponto de grande destaque no decorrer do meu estágio e da minha formação profissional. Sendo o farmacêutico um especialista do medicamento e um promotor da saúde pública, é de notar a importância que este pode ter na gestão de patologias de um viajante. A farmácia é o local de saúde de mais fácil acesso a turistas, onde estes procuram soluções rápidas e tão eficazes quanto possível para diversos problemas e depositam uma grande confiança e expectativa no farmacêutico. Neste sentido, foi extremamente enriquecedor ser confrontada com os mais diversos tipos de pedidos em que o objetivo principal era aliviar sintomas e/ou retardar/suprimir a doença. (PITA, João Rui et al, 2016)

3. Remodelação da farmácia

Durante o período em que estagiei, a Farmácia Estácio sofreu uma remodelação completa da zona de atendimento. Além da mudança de aspeto e disposição dos lineares e gôndolas, os balcões foram divididos por forma a que dois ficassem destinados à gestão de pedidos de OTC's, dermocosmética e outros produtos de saúde e os restantes três reservados para a dispensa de medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM), foram introduzidos dois caixeiros automáticos e foi implementado o Novo Módulo de Atendimento Sifarma®.

Esta mudança permitiu-me acompanhar de perto as preocupações e cuidados da farmácia na melhoria contínua dos serviços apresentados e prestados e participar ativamente na mudança e organização dos novos lineares. Além disso destaco que, face às mudanças de caixa e programa de atendimento, tive oportunidade de aprender a trabalhar com um maior número de ferramentas num curto período.

Ameaças

1. Confiança do utente

A confiança do utente é um dos fatores que considero mais importantes para o sucesso de um farmacêutico e enquanto estagiária senti que, muitas vezes, essa confiança era inexistente. Uma vez que um aconselhamento apenas é aceite e a adesão à terapêutica é conseguida quando o utente se sente seguro em relação aos conhecimentos de quem o recomenda, a falta de confiança tornou alguns atendimentos muito mais complexos.

Existiram algumas situações em que o utente pediu expressamente a intervenção de um farmacêutico experiente. Nesses momentos senti que estava a ser privada de ganhar experiência, no entanto, considero que poderá ter sido importante uma vez que os colegas me ajudavam com o utente, mas sempre com uma atitude orientadora e de entreaajuda, o que demonstrava ao utente a confiança que depositavam em mim e despertava-os a fazer o mesmo nas próximas visitas à farmácia.

2. Disponibilidade de informação

Nos dias de hoje, a facilidade de obter informação em saúde é elevada uma vez que esta se encontra bastante difundida, principalmente nos meios de comunicação social e na internet. O Sistema Nacional de Saúde (SNS) incentiva o utente a interessar-se e informar-se sobre a saúde, o que deposita no farmacêutico uma responsabilidade acrescida. No entanto, muitas vezes, o utente não está preparado para filtrar a informação adquirida, podendo resultar em interpretações erradas. Assim, este excesso de informação pode tornar-se pouco vantajoso e, por vezes, revelar-se perigosa, uma vez que utentes que criam preconceitos antes da ida à farmácia dificultam a intervenção farmacêutica ativa e põem em causa o papel imprescindível do farmacêutico na sua saúde.

Durante o período de atendimento na farmácia comunitária deparei-me algumas vezes com situações semelhantes em que tentei sempre educar o utente no sentido da importância da conversa e partilha com o farmacêutico para desmistificar ou confirmar a informação a que têm acesso para fomentar a “confiança informada” do utente. (ESPANHA, Rita, 2010)

Casos Clínicos

O farmacêutico tem o dever de participar ativamente na saúde dos utentes, sendo a preocupação e a conversa com o mesmo um fator preponderante para perceber o âmago dos problemas e, assim, poder contribuir eficazmente para a sua resolução.

Durante o estágio deparei-me com alguns casos clínicos interessantes e que tiveram um grande impacto na minha atuação como farmacêutica e que me revelaram a importância da profissão na saúde e bem-estar da população.

Caso Clínico 1

Senhor, com cerca de 60 anos, dirige-se à farmácia, solicita vaselina para colocar no nariz e refere que este está muito seco, com algumas feridas que sagram e coloca vaselina todos os dias sem sucesso.

Face ao caso apresentado e, uma vez que a vaselina não era suficiente para aliviar os sintomas, aconselhei Tonimer Gel Nasal®, um gel à base de ácido hialurónico e extratos de algas vermelhas e castanhas com propriedades hidratantes, protetoras e reparadoras da mucosa nasal. O utente aceitou prontamente o meu aconselhamento e, de seguida, pede também água do mar, referindo que já tem pouca em casa e utiliza todos os dias para lavar o nariz. Ao questionar qual a água do mar que usava percebi que utilizava água do mar hipertónica para lavagem diária pelo que a secura nasal poderia advir do efeito *rebound*. Assim, expliquei ao utente a diferença entre água do mar isotónica e hipertónica e a forma correta de usar cada uma delas, aconselhei a levar uma água do mar isotónica de jato suave e aplicar o Tonimer Gel Nasal® depois do seu uso de forma a resolver os ferimentos e a secura nasal.

Caso Clínico 2

Senhora, cerca de 40 anos de idade, chega ao balcão e pede uma caixa de Strepsils®. Questionada sobre os seus sintomas, a senhora refere que suspeita estar com uma amigdalite, mas que apenas precisa de umas pastilhas para aliviar a garganta pois tem ainda antibiótico em casa desde última vez que teve os mesmos sintomas.

Percebi, diante desta situação, desconhecimento sobre o uso racional de antibióticos pelo que cumpri o meu papel enquanto farmacêutica e promovi a informação em saúde. Perante a explicação de que, quando prescrito, um antibiótico deve ser tomado até ao fim da embalagem ou conforme indicação médica e que a resistência a antibióticos advém do incumprimento da terapêutica e da automedicação, a utente referiu

desconhecer totalmente o que lhe explicava. Além disso, tive oportunidade de promover o teste de deteção de *Streptococcus* do grupo A que a senhora aceitou prontamente. O resultado do teste foi negativo, pelo que aconselhei apenas alívio sintomático.

Caso Clínico 3

Turista pergunta se existe ibuprofeno. Quando questionada sobre a dosagem que costumava fazer (200 ou 400mg), a senhora refere que não sabe e que quer a dosagem mais adequada para uma dor de estômago. Fiz algumas perguntas de modo a tentar perceber qual a origem da dor, ao que a senhora me revela ser proveniente de excessos alimentares pois não está habituada à comida portuguesa. Aconselhei a tomar Advancis Digest Plus®, um suplemento alimentar à base de colina, cardo mariano, alcachofra, hortelã pimenta, fumária, alfazema e taráxico, que auxiliam no metabolismo das gorduras e nas digestões difíceis. A senhora aceitou o conselho, mas pediu para levar também o ibuprofeno para retirar a dor mais rapidamente. Aconselhei que tomasse paracetamol em vez de ibuprofeno pois o ibuprofeno pode ter uma ação agressiva sobre o estômago e poderia vir a piorar a dor.

Conclusão

O estágio em farmácia comunitária constituiu um dos pontos mais relevantes na minha formação acadêmica, não obstante a importância de todas as unidades curriculares previstas no programa do MICF que me proporcionaram as bases necessárias para retirar o máximo partido deste estágio. Desta forma, considero este período como um período de constante e crescente integração, articulação e consolidação dos conhecimentos prévios.

Integrar a equipa da Farmácia Estácio nesta fase do curso permitiu-me ter uma preparação mais sólida para a entrada no mercado de trabalho e tomar consciência dos desafios e das dificuldades com que as farmácias se deparam no dia a dia da sua atividade, uma vez que também os senti com a mesma intensidade dos meus colegas.

Pelos motivos da acima mencionados e pela análise SWOT anterior, considero ter adquirido experiência e evolução pessoal e profissional significativa durante o meu estágio, pelo que reforço que o balanço da minha experiência enquanto estagiária de farmácia comunitária foi bastante positivo.

Bibliografia

ESPANHA, Rita - Adenda à Análise Especializada: Tecnologias de Informação e Comunicação Sistemas de Informação em Saúde e Saúde Online. 2010) 1–12.

FERNANDES, Djair Roberto - Uma Visão Sobre a Análise da Matriz SWOT como Ferramenta para Elaboração da Estratégia A Look into the SWOT Analysis as a tool of Strategic Planning. **UNOPAR Cient. Juric. Empres.** 13:2 (2012) 57–68.

PITA, João Rui; BELL, Victoria - A farmácia em Portugal nos últimos 30 anos: algumas reflexões sobre a farmácia de oficina ou comunitária. **Debater a Europa.** 15 (2016) 197–215. doi: 10.14195/1647-6336_15_11.

Capítulo II:
Relatório de Estágio no INFARMED – Autoridade Nacional do
Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.:
Comissão de Ética para a Investigação Clínica

Índice

Índice	19
Lista de abreviaturas	20
Introdução	21
Análise SWOT.....	22
Pontos Fortes	22
1. Requisitos para a Investigação Clínica	22
2. Contacto com os requerentes.....	23
3. Reuniões plenárias e executivas.....	24
Pontos Fracos.....	24
1. Falta de recursos humanos	24
2. Avaliação de seguros.....	25
Oportunidades	25
1. Saídas Profissionais.....	25
Ameaças.....	26
1. Pressão de promotores e requerentes.....	26
Conclusão.....	27
Bibliografia	28

Lista de abreviaturas

CEIC – Comissão de Ética para a Investigação Clínica

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

PA – Pedidos de Parecer para Alteração Substancial

PP – Pedido de Parecer para a realização de Ensaio Clínico

RNEC – Registo Nacional de Estudos Clínicos

Introdução

O farmacêutico, enquanto especialista do medicamento, tem relevância sempre que há interação entre um medicamento e um utente e, em particular, quanto mais incertos forem os resultados dessa interação. Neste contexto, é clara a necessidade da presença de profissionais, entre eles profissionais do medicamento, capazes de discernir entre ensaios clínicos necessários e benéficos para o utente daqueles que colocam em risco a saúde pelo avanço na ciência, nesta fase do ciclo de vida de um medicamento. (CEIC, 2013)

Verificou-se, em meados do século XX, após os ensaios da segunda Guerra Mundial, que seria essencial definir princípios éticos orientadores para a realização de um ensaio clínico. Atualmente, em Portugal os ensaios clínicos são regulamentados pela Lei da Investigação Clínica nº 21/2014. (LEI N° 21/2014)

A Comissão de Ética para a Investigação Clínica (CEIC) tem como principal missão “garantir a proteção dos direitos, da segurança e do bem-estar dos participantes nos estudos clínicos, através da emissão de um parecer ético sobre os protocolos de investigação que lhe são submetidos”, tendo para isso o apoio de profissionais qualificados que avaliam o benefício-risco do ensaio e se são cumpridos todos os requisitos legais e éticos para a realização do mesmo. (CEIC, 2013)

Análise SWOT

Neste documento, apresentarei o meu estágio na CEIC sob a forma de uma análise SWOT. Esta análise tem como objetivo refletir sobre os aspetos positivos e negativos do estágio, tanto do ponto de vista interno como do ponto de vista externo. Assim, a análise interna à própria CEIC abordará os Pontos Fortes (S – Strengths) e Pontos Fracos (W – Weaknesses), enquanto a análise dos fatores externos recai sobre a análise das Oportunidades (O – Opportunities) e Ameaças (T – Threats) do meio que contacta diretamente com esta Comissão. (FERNANDES, Djair Roberto, 2012)

Se seguida apresenta-se uma tabela que sintetiza a análise SWOT derivada da minha experiência enquanto estagiária da CEIC.

Tabela 1, II: Análise SWOT do estágio na Comissão de Ética para a Investigação Clínica.

Pontos Fortes	Pontos Fracos
Requisitos para a Investigação Clínica Contacto com os requerentes Reuniões plenárias e executivas	Falta de Recursos Humanos Avaliação de Seguros
Oportunidades	Ameaças
Saídas profissionais	Pressão de promotores e requerentes

Pontos Fortes

1. Requisitos para a Investigação Clínica

O meu estágio na CEIC foi sobretudo marcado pelos conhecimentos adquiridos no âmbito da submissão de ensaios clínicos e a legislação aplicada aos mesmos.

O Gabinete de Apoio à CEIC recebe Pedidos de Parecer para a realização de Ensaio Clínico (PP) ou Pedidos de Parecer para Alteração Substancial (PA), via Registo Nacional de Estudos Clínicos (RNEC), uma plataforma eletrónica para registo e divulgação de estudos clínicos desenvolvida pelo Infarmed, ou presencialmente. É verificado se são cumpridos todos os requisitos legais e regulamentares e, em caso afirmativo, o pedido é validado e entregue a uma gestora do processo e a um perito-médico para avaliar o

projeto do ensaio. Durante o processo de avaliação pelo perito, pode ser necessário levantar questões ao requerente sobre informação que não seja perceptível ou esteja omissa. Depois do perito ter toda a informação que achar necessária, dá o seu parecer que será ou não aprovado em reunião plenária.

Após a aprovação em reunião plenária, o requerente tem de submeter os contratos financeiros definitivos e, ao longo do ensaio, tem o dever de informar a CEIC sobre as datas de inícios dos centros de ensaio, inclusão do primeiro doente no ensaio, encerramento de centros e fim de ensaio.

Além das alterações substanciais, que podem incluir alterações ao protocolo, aos consentimentos informados, brochura do investigador, inclusão de novos centros ou mudança de investigadores, entre outras, existem também alterações não substanciais que devem ser notificadas à CEIC.

A compreensão de todo o processo necessário para a aprovação de um ensaio clínico foi uma mais valia do meu estágio uma vez que há pouco contacto com ensaios clínicos e as questões legais dos mesmos durante as restantes unidades curriculares do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF).

2. Contacto com os requerentes

O contacto com os requerentes é uma constante no dia-a-dia da CEIC. Por vezes, os requerentes contactam a CEIC por forma a terem as suas dúvidas esclarecidas antes da submissão, quer por e-mail quer por contacto telefónico. Durante o estágio, pude responder a algumas dúvidas enviadas via e-mail sobre a submissão de pedidos de parecer, o que foi vantajoso para mim pois me desafiava na procura das respostas e na adaptação da escrita por forma a não deixar dúvidas ao requerente e assim facilitar o trabalho de validação posterior.

Além disso, aquando da validação, muitas vezes são detetadas falhas que resultariam em invalidação ou falta de alguma informação relevante para gerir as notificações, como por exemplo notificar o encerramento de um centro antes de notificar a inclusão do primeiro doente num ensaio. A CEIC pode contactar os requerentes de forma a perceber se essas falhas são passíveis de correção em tempo útil que permita a não invalidação. Durante o meu trabalho na CEIC, tive também de contactar alguns requerentes por forma a evitar invalidações, sendo que em alguns casos, o requerente teve possibilidade de me enviar ainda no mesmo dia as correções que resultariam na

validação, porém outros casos existiram em que, mesmo após conversa com o requerente, a invalidação foi inevitável.

Este trabalho foi gratificante pois desenvolveu as minhas competências de resolução de problemas e de comunicação.

3. Reuniões plenárias e executivas

As reuniões executivas ocorrem todas as terças-feiras na CEIC, cuja comissão consiste no presidente da CEIC e alguns peritos propostos para tal, e consistem na discussão de protocolos de ensaio clínico, por forma a inferir sobre a necessidade de pedidos de esclarecimento ou a prosseguir para reunião plenária.

As reuniões plenárias ocorrem, por norma, uma vez por mês, são compostas pelo presidente, vice-presidente da CEIC e um conjunto de peritos de diversas áreas médicas e teológicas. Nestas reuniões são novamente apresentados os ensaios clínicos pelo perito que o avaliou com o seu parecer e, por votação dos restantes membros da comissão, são aprovados pareceres positivos, positivos condicionados (por exemplo, a uma mudança ao protocolo ou à adição de um consentimento informado) ou negativos.

A minha presença em reuniões executivas e plenárias permitiu-me ter acesso a mais informação científica sobre determinadas moléculas e doenças e despertou a minha atenção para as questões legais e morais dos ensaios clínicos em Portugal e na Europa.

Pontos Fracos

1. Falta de recursos humanos

O trabalho na CEIC nem sempre é constante uma vez que depende fortemente do trabalho de empresas externas e, por isso, a equipa da CEIC é demasiado pequena em períodos de grande afluência de pedidos de parecer e não consegue dar resposta atempada aos mesmos.

O período do meu estágio, de maio a julho de 2019, coincidiu com um período de grande intensidade de trabalho e, além disso, de férias dos colaboradores da CEIC, pelo que se evidenciou a falta de recursos humanos exigida pela afluência de trabalho.

Este facto constitui um ponto fraco no meu estágio uma vez que diminuí o tempo dispensado nas explicações para realizar as minhas tarefas e impossibilitou-me mesmo de realizar algumas delas. Um dos casos foi a aprovação de contratos que apenas tive oportunidade de ver um exemplo uma vez que as duas gestoras de processos da CEIC têm

horário reduzido e tiveram o seu período de férias durante estes meses, sendo o tempo gasto em trabalho árduo para aprovar o máximo de contratos possível por forma a não encurtar o tempo de ensaio e permitir o recrutamento de doentes em tempo útil.

2. Avaliação de seguros

Para todo e qualquer ensaio clínico é necessário um certificado de seguro de responsabilidade civil atualizado que assegure o doente de qualquer dano que ocorra durante o ensaio ou que resulte do mesmo.

A análise de certificados de seguro pode ser visto como um ponto fraco uma vez que não existem regras bem definidas para a emissão de um certificado de seguro, pelo que é preciso atenção e interpretação reforçados aquando da análise desses certificados, o que se refletiu num maior gasto de tempo na análise dos mesmo e muitas vezes não conseguir ser autónoma nesta tarefa.

Apesar de não fazer parte dos conhecimentos adquiridos no MICF, o certificado de seguro é de extrema importância para um ensaio clínico e é necessário fazer bem a sua avaliação, pelo que posso também considerar este ponto como uma Oportunidade de alargar conhecimentos numa área mais distante das ciências da saúde.

Oportunidades

1. Saídas Profissionais

Durante os três meses em que integrei a equipa da CEIC, pude partilhar ideias, medos e dúvidas com toda a equipa e, principalmente com duas estagiárias que integravam também equipa à data do meu começo. Dado o desconhecimento do que será o meu futuro profissional, primei por obter o máximo de informação sobre o mundo do trabalho dentro da indústria.

Uma vez que as minhas colegas iniciaram o estágio antes de mim, participaram ativamente na minha formação dentro da CEIC e, além disso, tinham uma formação base em ensaios clínicos, pelo que contribuíram também para a minha formação pessoal. A maioria dos ensaios clínicos são projetados por indústrias, e contactei com pedidos de parecer de uma grande panóplia delas, pelo que pude aprender ativamente sobre a forma de trabalhar destas indústrias e em que área da saúde dão mais enfoque. Apesar de já conhecer o departamento de ensaios clínicos da indústria, não conhecia com exatidão o trabalho desempenhado pela equipa desse departamento.

Considero que tenha sido uma oportunidade do meu estágio porque, além de ter alargado os meus horizontes sobre as saídas profissionais do MICEF, permitiu-me conhecer o trabalho desenvolvido pelas diferentes indústrias e perceber aquelas com que mais me identifico.

Ameaças

1. Pressão de promotores e requerentes

Como já referido, a quantidade de trabalho na CEIC, depende quase exclusivamente da investigação clínica das indústrias farmacêuticas, sendo que existem períodos em que o trabalho abunda e, apesar de um ritmo de trabalho acelerado tentando dar resposta a todos os requerentes no menor tempo possível, por vezes, tal não é possível.

A dificuldade de resposta em tempo útil é agravada pelas próprias indústrias que, desconhecendo a legislação para a investigação clínica, ou não a tendo tão presente quanto o que seria desejado, acabam por cometer erros na submissão que levam mais tempo a resolver. Uma vez que a CEIC prima por manter a segurança e dar o melhor tratamento possível ao doente, no espaço de tempo mais curto, tenta evitar invalidações e adiantar os processos por contacto direto com os requerentes ou promotores através de e-mail ou telefone. Estas medidas levam tempo adicional e atrasam os demais processos.

Uma vez que também as indústrias têm timings apertados, muitas vezes, são os próprios requerentes a contactar a CEIC para verem os seus processos tratados mais rapidamente, sendo que tal nem sempre é possível porque já estão todos os esforços feitos para o conseguir.

Esta pressão externa gera algum desconforto durante a realização do trabalho e manifestou-se como uma ameaça ao dia-a-dia na CEIC uma vez que me obrigou a desempenhar o trabalho de forma rápida, mas muito atenta aos pormenores para salvaguardar o doente, o que é difícil durante o período de adaptação.

Conclusão

A oportunidade de efetuar o estágio curricular na CEIC é oferecida exclusivamente pela Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. Revelou-se ser uma mais valia no meu percurso profissional pois permitiu-me conhecer o mundo dos ensaios clínicos, a legislação aplicável, a forma de submissão dos mesmos e todo o percurso do estudo do medicamento experimental.

Da análise SWOT desta experiência são perceptíveis um conjunto de vantagens importantes em que destaco a aprendizagem constante e a progressiva autonomia no trabalho que contribuíram para o meu crescimento profissional.

Após o estágio, considero de extrema importância que o farmacêutico esteja presente em todo o circuito do medicamento, ajude a garantir todas as questões de segurança em relação ao mesmo e salvaguarde o bem-estar do doente, assim como o seu acesso à melhor terapêutica possível.

Bibliografia

COMISSÃO DE ÉTICA PARA A INVESTIGAÇÃO CLÍNICA – **Missão** [Consult. 26.08.2019]
Disponível em: <https://www.ceic.pt/missao>

FERNANDES, Djair Roberto - Uma Visão Sobre a Análise da Matriz SWOT como Ferramenta para Elaboração da Estratégia A Look into the SWOT Analysis as a tool of Strategic Planning. **UNOPAR Cient. Juric. Empres.** 13:2 (2012) 57–68.

LEI Nº 21/2014, DE 16 DE ABRIL. **Diário da República, 1.ª série - Nº. 75.** (16 de Abril de 2014) p. 2450–65.

CEIC - Circuito dos produtos medicinais investigacionais e auxiliares em ensaio clínico. Março 2013. [Acedido em 26 de Agosto de 2019]. Disponível em <https://www.ceic.pt/documentos-orientadores>

Capítulo III:
Feridas Crónias e o papel dos Biofilmes

Índice

Índice	30
Lista de abreviaturas	31
Resumo	32
Abstract	33
Introdução.....	34
Ferida crónica: fatores de risco.....	39
Idade	39
Isquemia e hipoxia	40
Colonização microbiana.....	40
Interação biofilme-hospedeiro.....	44
Métodos de diagnóstico	46
Ensaio morfológicos	46
Ensaio microbiológicos.....	47
Ensaio moleculares	47
Métodos emergentes.....	48
Tratamento de feridas crónicas.....	48
Estratégias antibiofilme.....	50
Agentes antissépticos vs agentes antibióticos	51
Antissépticos	52
Antibióticos.....	53
Controlo da humidade.....	54
Abordagem multifatorial	55
Conclusão.....	57
Bibliografia	58

Lista de abreviaturas

DNA: Ácido desoxirribonucleico

EPS: Substância polimérica extracelular

FGF: Fator de crescimento fibroblástico

FRACs: Amplificação ribossômica completa, clonagem e sequenciamento de Sanger

H₂O₂: Peróxido de hidrogênio

IL 1 α : Interleucina 1 α

IL 1 β : Interleucina 1 β

IL 6: Interleucina 6

IL 8: Interleucina 8

MEC: Matriz extracelular

MMPs: Metaloproteinases da matriz

NF-kB: Fator nuclear kappa B

NO: Óxido nítrico

PCR: Reação de Polimerização em cadeia

PDGF: Fator de crescimento derivado das plaquetas

PRADs: Amplificação parcial ribossômica, eletroforese em gel com gradiente desnaturante e sequenciamento de Sanger

PRAPs: Amplificação parcial do ribossoma e pirosequenciamento

QS: *Quorum sensing*

RNA: Ácido ribonucleico

ROS: Espécies reativas de oxigênio

TGF β : Fator de transformação do crescimento β

TNF α : Fator de necrose tumoral α

Resumo

O comprometimento da barreira cutânea origina um conjunto de etapas de cicatrização, nomeadamente: homeostase, fase inflamatória, fase proliferativa e fase de remodelação que, uma vez perturbadas, poderão levar à instalação de uma ferida crónica.

São vários os fatores que, por aumentarem o tempo e a intensidade da fase inflamatória, podem despontar a cronicidade de uma ferida. De entre os principais fatores que desencadeiam o processo de cronicidade, a presença de microrganismos é a mais importante. Os géneros que mais se encontram envolvidas na colonização de feridas são: *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Enterococcus* e *Finelgodia*. Contudo, esta colonização é, na maioria dos casos, provocada por mais do que um patógeno, sendo que estes, muitas vezes, interagem entre si através de biofilmes. Os biofilmes são mais difíceis de debelar do que as bactérias no estado planctónico por motivos relacionados com a aquisição de genes de resistência e aumento da tolerância às terapias antimicrobianas, quer por ação direta das bactérias no hospedeiro, quer por ação de estratégias que se revelam subterapêuticas, devido à dificuldade em chegar ao local de ação e em penetrar no biofilme.

No que diz respeito ao diagnóstico de feridas crónicas, apesar de não existirem ainda testes padrão, é recomendado o uso concomitante de vários ensaios de natureza diferente (morfológicos, microbiológicos e moleculares) para que se consiga uma aproximação do real o mais rigorosa possível. Além disso, dada a importância de um bom diagnóstico para instituir uma terapêutica adequada, estão em estudo métodos baseados em *wound blotting* e transcriptómica que parecem mostrar-se promissores a detetar com maior precisão e exatidão a composição de um biofilme.

Atualmente, a abordagem terapêutica a feridas crónicas deve ser multifatorial, baseada no melhor diagnóstico possível. De início deve fazer-se o desbridamento da ferida, o controlo da humidade e de patologias de base associadas e incluir antibióticos e antissépticos que sejam ativos contra o biofilme, assim como inibidores do QS.

Palavras-chave: Ferida crónica. Biofilme. Cicatrização. Agentes antibiofilme. Agentes antimicrobianos.

Abstract

When cutaneous barrier is compromised, there are some steps to cicatrize the wound, namely: homeostasis, inflammatory phase, proliferative phase and remodeling phase. If these steps are disturbed, a chronic wound can appear.

Many factors can increase the time and intensity of the inflammatory phase, which helps a wound to become chronic. The presence of infection is the most important reason to increase chronicity. The genus that are most involved in wound colonization are *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Enterococcus* e *Finelgodia*. However, this colonization is, in most cases, caused by more than one pathogen and these interact with each other through biofilms. Biofilms are more difficult to treat than planktonic bacteria because of gain of resistance genes and increase tolerance to antimicrobial therapies, either by direct action of the bacteria in the host or by the action of strategies that are revealed as sub-therapeutic, by the difficulty to enter into the place of action and to penetrate the biofilm.

For diagnosis of chronic wounds, even without gold-standard tests, is recommended the concurrent use of many different assays (morphologic, microbiologic and molecular) to help get the diagnostic the closer as possible to the real. Besides that, given the importance of a good diagnostic to find right therapeutic, there are some methods under study based on wound blotting and transcriptomic. These methods seem promising to detect with greater precision and accuracy the biofilm composition.

Nowadays, chronic wound therapeutic must be multifactorial, based on the best as possible diagnosis. It should start with the wound debridement, moisture control and keep primary pathologies under control and include antibiotics or antiseptics specific chosen for biofilms, as well as QS inhibitors.

Key-words: Chronic wound. Biofilm. Healing. Antibiofilm agents. Antimicrobial agents.

Introdução

O termo “ferida crónica” é difícil de definir e tem vindo a ser usado na literatura com diferentes significados. Este facto pode ter um impacto negativo na investigação de feridas crónicas e no tratamento dos doentes que sofrem desta patologia, devido, por exemplo, à dificuldade em incluir todos os estudos referentes à patologia em revisões sistemáticas e, por este motivo, obter resultados que estatisticamente não correspondam à realidade. (Kyaw, Bhone Myint et al, 2018)

Há relatos de feridas que se tornaram crónicas desde há muitos séculos, contudo apenas num passado recente se começou a observá-las como uma epidemia silenciosa uma vez que se tem verificado afetarem uma parte cada vez mais significativa da população, sendo difíceis de gerir do ponto de vista clínico, provocando dor e incapacidade mais ou menos prolongada, pelo que diminuem de forma notável a qualidade de vida dos doentes enquanto acarretam custos consideráveis. (Bjarnsholt, T. et al, 2018; Silva Pereira, Jéssica Da et al, 2018)

Uma ferida cutânea resulta de uma lesão de um tecido, a pele, que pode ser causada de forma intencional, como acontece numa cirurgia, ou não intencional, por exemplo devido a quedas, mordidas de animais ou queimaduras. (Rahim, Kashif, et al, 2017) A pele é o maior órgão do corpo humano e tem um papel fundamental no que diz respeito à proteção dos restantes órgãos e tecidos, sendo uma das suas principais funções a constituição de uma barreira física à entrada de microrganismos e outros corpos estranhos. (Gosain, Ankush et al, 2004; Takeo, Makoto et al, 2015) Uma vez comprometida, a pele deixa de ter capacidade de proteção e o organismo ativa um novo mecanismo de defesa para reparar o dano causado e evitar a entrada e disseminação de agentes com potencial patogénico. Este mecanismo de defesa constitui a reparação normal de uma ferida e, em indivíduos saudáveis, consiste num conjunto de etapas sequenciais e sobrepostas que culminam na cicatrização e reposição da função barreira da pele: 1) Homeostase; 2) Fase inflamatória; 3) Fase proliferativa; 4) Fase de remodelação. (Rahim, Kashif, et al, 2017; Zhao, Ruilong et al, 2016)

1. **Homeostase:** é a fase em que a cascata da coagulação é ativada, quer pelo tecido lesado quer pelas plaquetas que sofreram, *a priori*, adesão e agregação pela ação dos componentes da matriz extracelular (MEC). As vias extrínseca e intrínseca da coagulação encontram-se coordenadas para estabilizar o coagulo de plaquetas e fibrina, cessar a hemorragia e permitir

o recrutamento de outras células imprescindíveis à resolução da ferida. (Zhao, Ruilong et al, 2016)

2. **Fase inflamatória:** é a etapa mais importante da resolução de uma ferida uma vez que a sua evolução e duração determina a cicatrização normal da mesma ou a instalação de uma ferida crónica. (Rahim, Kashif, et al, 2017; Zhao, Ruilong et al, 2016) Aquando de uma lesão, as plaquetas e leucócitos locais libertam uma série de citocinas inflamatórias (Interleucina 1 α (IL-1 α), interleucina 1 β (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), fator de necrose tumoral α (TNF α), fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de transformação do crescimento β (TGF β)) com funções quimiotáticas, recrutando neutrófilos e monócitos (precursores de macrófagos) adicionais. Os neutrófilos são as células mais importantes nos primeiros dias de inflamação uma vez que geram radicais livres e secretam enzimas proteolíticas responsáveis, respetivamente, por uma ação bactericida e pela digestão do tecido lesado não viável. Além disso, os neutrófilos são responsáveis ainda por fagocitarem as bactérias mortas e os restos de matriz, entrando de seguida em apoptose. Após alguns dias, os macrófagos iniciam uma função reguladora essencial uma vez que fagocitam os neutrófilos apoptóticos e secretam fatores de crescimento adicionais, quimiocinas e citocinas com a função de recrutar células endoteliais e fibroblastos indispensáveis para a fase proliferativa. (Zhao, Ruilong et al, 2016)
3. **Fase proliferativa:** é caracterizada, em simultâneo, por angiogénese, fibroplasia e re-epitelização. Através da proliferação de células endoteliais, do rearranjo da membrana basal e do recrutamento de células perivasculares, a angiogénese permite que a nova microvasculatura seja capaz de irrigar a lesão de modo a que o aporte de oxigénio, nutrientes e células imunocompetentes seja suficiente para suprir as necessidades inerentes ao aumento do nível de atividade celular na fase de fibroplasia e re-epitelização. Assim, inicia-se a formação do tecido de granulação pelos fibroblastos que têm aptidão e condições ótimas para sintetizar nova matriz, das bordas para o interior da ferida, rica em colagénio tipo III, fibronectina, glicosaminoglicanos, proteoglicanos e ácido hialurónico. Ao mesmo tempo, devido à ação de citocinas, dá-se a re-epitelização que

consiste na proliferação das células de revestimento epitelial, os queratinócitos, e na sua migração através da nova MEC depositada pelos fibroblastos. (Zhao, Ruilong et al, 2016; Gonzalez, Ana Cristina de Oliveira et al, 2016)

4. **Fase de remodelação:** é o último passo cujo objetivo é recuperar a estrutura normal da pele. Quando as células de revestimento epitelial chegam ao centro da lesão, inicia-se o processo de substituição do tecido de granulação, rico em vasos e células, por tecido de cicatrização, cujo componente principal são fibras de colagénio tipo I rearranjadas em feixes paralelos. Esta substituição ocorre graças à morte celular programada dos componentes do primeiro e à ação de fatores de crescimento, como o TGF- β 1 e fator de crescimento fibroblástico (FGF), sobre as fibras de colagénio, promovendo a destruição das fibras de colagénio tipo III e posterior substituição por fibras de colagénio tipo I. Esta fase começa cerca de 14 dias após a lesão e pode ser mais ou menos extensa, podendo durar mais de um ano. (Zhao, Ruilong et al, 2016; Gonzalez, Ana Cristina de Oliveira et al, 2016)

Por vezes, o mecanismo de defesa de uma pele lesada não consegue progredir nas fases de resolução de uma ferida com a eficiência necessária, ficando restringido à fase inflamatória por um período superior ao esperado. Quando tal acontece, ao invés de culminar numa reparação anatómica e funcional normal da pele e dar origem a uma cicatriz, instala-se uma ferida crónica. (Zhao, Ruilong et al, 2016)

Uma vez impedida a progressão para a fase proliferativa, por diversos fatores que serão discriminados mais tarde neste documento, o balanço normal entre citocinas pro-inflamatórias, quimiocinas, protéases e inibidores fica comprometido. Assim, a infiltração de neutrófilos e macrófagos torna-se descontrolada e perversa. O crescente número de neutrófilos no local parece ser o fator mais importante na evolução de uma ferida crónica. Isto porque leva, por um lado, a um aumento exagerado de espécies reativas de oxigénio (ROS), com conseqüente senescência celular prematura devido aos danos causados na MEC e nas membranas celulares. Por outro lado, estes leucócitos conduzem à produção de serina protéases, como a elastase, responsável por degradar fatores de crescimento (PDGF e TGF- β), e as metaloproteinases da matriz (MMPs), responsáveis pela degradação e conseqüente inativação dos componentes da matriz extracelular. Ao mesmo tempo, os macrófagos residentes expressam quantidades aumentadas de MMPs e quantidades

diminutas de inibidores dos MMPs. Desta forma, o caldo inflamatório fica enriquecido em elastase e MMPs enquanto os fatores de crescimento e os inibidores dos MMPs vêm a sua biodisponibilidade diminuída, resultando num aumento da degradação de MEC, com consequente promoção do estado inflamatório, e diminuição da migração celular e da proliferação de fibroblastos e síntese de colagénio, essenciais para a progressão da fase proliferativa. (Zhao, Ruilong et al, 2016; Rahim, Kashif et al, 2017; Fazli, Mustafa et al, 2009)

A evolução anormal de uma ferida é, portanto, um processo cíclico e autossustentável que resulta numa fase inflamatória mais longa e mais intensa. (Zhao, Ruilong et al, 2016)

Em muitos casos, uma ferida torna-se crónica devido a uma patologia primária que não permite a evolução normal da ferida mesmo que, em primeira instância, esta se apresentasse como uma escoriação de fácil resolução. As patologias que mais se relacionam com o desenvolvimento de cronicidade numa ferida são a insuficiência venosa e a diabetes *mellitus*. Assim, a abordagem ao tratamento de uma ferida crónica contempla, além do tratamento da ferida, o alívio ou tratamento da patologia primária que está envolvida na cronicidade. (Gupta, Subhas et al, 2017; Zhao, Ruilong et al, 2016)

A **doença venosa** está na génese de mais de metade das feridas crónicas dos membros inferiores, sendo a sua incidência maior em mulheres e idosos. A doença venosa pode resultar de trombose venosa ou de incapacidade das válvulas venosas, sendo que, qualquer uma das causas, resulta no aumento da permeabilidade dos vasos sanguíneos com consequente extravasamento de eritrócitos e outras macromoléculas que, por quimiotaxia, recrutam grande quantidade de leucócitos. Esta cascata resulta em edema e fibrose no local, que proporciona uma dificuldade acrescida de suprimento de oxigénio, nutrientes e fatores de crescimento no leito da ferida, que permitam a sua cicatrização. (Zhao, Ruilong et al, 2016)

Uma úlcera venosa típica caracteriza-se por ser uma ferida aberta, coberta por uma camada fibrosa e por tecido de granulação, que se localiza entre o joelho e o tornozelo, com maior frequência junto ao maléolo medial, maior e mais superficial, quando comparada a úlceras não associadas a doença venosa, e com margens irregulares. É também frequente que a temperatura seja elevada, o que é consistente com o que acontece na insuficiência venosa crónica sem ulceração, e que exista uma grande quantidade de exsudato, relacionado com uma elevada carga biológica. (Gupta, Subhas et al, 2017; Zhao, Ruilong et al, 2016)

A **diabetes mellitus** é uma doença metabólica que afeta cada vez mais a população devido, entre outros fatores, aos crescentes maus hábitos alimentares e desportivos. Apesar da doença ter origem na deficiente capacidade de utilização dos açúcares pelas células, em estados mais avançados, em que a doença não está controlada, leva a complicações em diversos órgãos e tecidos. Os estados de hiperglicemia, por si só, constituem um forte suporte ao desenvolvimento de microrganismos uma vez que oferecem, por um lado, excedentes nutricionais para bactérias e fungos, favorecendo o seu crescimento e, por outro lado, diminuem a produção de superóxido e mieloperoxidase, essenciais para a quimiotaxia de células fagocíticas enquanto promovem um estado de inflamação crónica e de baixo grau. (Kalan, Lindsay R. et al, 2018)

Em simultâneo, eventuais complicações decorrentes da diabetes *mellitus* não controlada podem comprometer a integridade dos tecidos, produzir isquemia local e dificultar a ação do sistema imunológico, aumentando a probabilidade de escoriações nos pés e dificuldade na sua cicatrização. Entre essas complicações, destacam-se: a **neuropatia periférica**, caracterizada pela disfunção de um ou mais nervos que pode resultar na diminuição da percepção de dor e/ou da capacidade motora, o que se traduz na exposição repetida a traumas físicos, com conseqüente aumento da probabilidade de ruptura tecidual, agravada pela neuropatia autonómica que conduz ao aparecimento microfissuras na pele e em que se estabelece isquemia nas camadas mais superiores da pele e um microambiente mais quente nas camadas subjacentes, originando uma porta de entrada para agentes patogénicos e um meio ótimo para a proliferação de anaeróbios; a **doença vascular periférica** com comprometimento do fluxo sanguíneo nos membros inferiores que acelera o dano tecidual e impede o normal fluxo das células do sistema imunitário do hospedeiro para o local da ferida, assim como de eventuais antimicrobianos orais; e **neuroartropatia** caracterizada por alterações biomecânicas nos pés que originam proeminências ósseas novas e anormais, sobre as quais a pressão é mal distribuída, comprometendo a integridade da pele que cobre essas proeminências. (Kalan, Lindsay R. et al, 2018; Zhao, Ruilong et al, 2016)

As úlceras do pé diabético ocorrem abaixo do tornozelo e com maior frequência na planta do pé de doentes diabéticos com complicações associadas, como sejam neuropatia e/ou doença arterial periférica. São caracterizadas por perda de sensação no local da ferida, a pele circundante é geralmente fina e brilhante, sendo o exsudato abundante e em excesso e cuja propensão para necrose e gangrena é elevada. (Gupta, Subhas et al, 2017)

Ferida crónica: fatores de risco

São vários os fatores que podem contribuir para que a infiltração de neutrófilos no local da ferida seja descontrolada, iniciando-se o ciclo de evolução anormal de uma ferida. Dessa forma, quando estão presentes fatores como uma idade avançada, isquémia e hipóxia, e ainda quando bactérias patogénicas colonizam a ferida, a probabilidade de desenvolver uma ferida crónica aumenta significativamente. (Zhao, Ruilong et al, 2016)

Idade

O envelhecimento cutâneo inclui duas componentes, intrínseca (relacionada com o envelhecimento celular fisiológico) e extrínseca (relacionada com fatores externos que podem acelerar o processo fisiológico, como por exemplo a radiação solar), que em conjunto resultam numa perda progressiva da função de barreira, assim como de uma diminuição da capacidade de manter a homeostase celular. (Gosain, Ankush et al, 2004)

Isto acontece uma vez que, com a idade, o conteúdo celular da derme diminui quer em número de células, quer na capacidade de as mesmas exercerem as suas funções com a exequibilidade e rapidez a que se propõem. Concretizando: os queratinócitos, envolvidos no processo de reparação, experimentam um processo de migração muito mais longo com o avançar da idade; a qualidade do colagénio, componente importante da MEC, diminui uma vez que a razão entre colagénio tipo I e colagénio tipo III é alterada; a elastina, outro componente fundamental da MEC também vê a sua produção comprometida, resultando assim numa baixa produção de MEC de qualidade reduzida; apesar dos macrófagos experimentarem uma maior capacidade de adesão aos substratos, a infiltração normal dos mesmos para o local da ferida está impedida, o que se traduz numa redução geral da capacidade fagocítica; aumenta ainda a secreção de mediadores pro-inflamatórios pelos leucócitos, com conseqüente aumento, em tempo e intensidade, da fase inflamatória. (Gosain, Ankush et al, 2004; Zhao, Ruilong et al, 2016) Além disso, a microcirculação na derme está comprometida, assim como a drenagem linfática na epiderme, resultando numa baixa eficiência na eliminação de patógenos das feridas e na sua contração.

É ainda de notar que o envelhecimento, manifestando-se ao nível de outros sistemas, como o sistema cardiovascular e o metabolismo dos açúcares, poderá através de doenças adicionais, conduzir a um aumento significativo dos mecanismos anteriormente explicados, assim como exacerbar outros fatores que regulam a não cicatrização. (Gosain, Ankush et al, 2004)

Isquemia e hipoxia

Isquemia e hipoxia são dois conceitos relacionados entre si que, tanto isolados como em conjunto, podem desencadear o desenvolvimento de uma ferida crônica. Isquemia é definida como a diminuição da perfusão sanguínea num determinado local, ao passo que hipoxia se caracteriza pela baixa penetração de oxigênio num tecido, podendo assim ser uma consequência da isquemia. (Zhao, Ruilong et al, 2016)

Numa situação isquêmica com consequente falta de oxigênio num determinado tecido, vários mecanismos moleculares induzem a ruptura de membranas que por sua vez desencadeiam um estado de inflamação potenciado. A expressão de neutrófilos e macrófagos é exagerada levando à produção exacerbada de citocinas pro-inflamatórias. Estas, por sua vez, são capazes de perturbar o equilíbrio proteases-inibidores e promover a inflamação. Por outro lado, o óxido nítrico (NO), um antioxidante responsável pela desativação do fator nuclear kappa B (NF- κ B), é produzido à custa de oxigênio pelo que, em estados de hipoxia, a sua produção fica comprometida e perturba o equilíbrio ROS-antioxidantes. (Gonzalez, Ana Cristina de Oliveira et al, 2016; Zhao, Ruilong et al, 2016)

Uma vez que, como já foi referido, a terceira etapa da cicatrização normal de uma ferida está intimamente relacionada com uma nutrição e oxigenação dos tecidos capaz de permitir um nível de atividade celular ampliado, a re-epitelização, proliferação de fibroblastos e a síntese de colagénio são prejudicadas. É assim evidente que isquemia e hipoxia contribuem para o aumento da duração da fase inflamatória e impedem a sua evolução para a fase proliferativa.

De notar ainda que, os estados de hipoxia proporcionam um ambiente ótimo para o crescimento de bactérias anaeróbias enquanto diminuem a atividade de enzimas antimicrobianas, como a mieloperoxidase, cuja atividade é dependente de oxigênio. Além disso, situações de isquemia impedem a entrega eficaz dos antibióticos orais no local de ação, o que se traduz em concentrações subterapêuticas dos mesmos no local. Assim, estes dois estados contribuem para a colonização de feridas por bactérias e dificultam o combate endógeno e exógeno das mesmas. De seguida irão ser abordados o tipo de bactérias que colonizam uma ferida crônica, como se organizam e as suas repercussões. (Zhao, Ruilong et al, 2016)

Colonização microbiana

A infeção microbiana é considerada a causa que, quando única, aumenta mais a probabilidade de complicação de uma ferida. Quando a barreira cutânea é comprometida,

microrganismos exógenos são capazes de se ligar, através de adesinas da superfície celular, a proteínas associadas à MEC expostas pelo dano na pele. A presença de bactérias num leito de ferida recruta leucócitos para o local, com consequente aumento exagerado de citocinas pró-inflamatórias, proteases e ROS, o que proporciona um ambiente hostil para a normal formação de MEC e fatores de crescimento indispensáveis à cicatrização da ferida. Através da sua aparência, é possível inferir sobre a possibilidade de uma ferida estar infetada. Por norma, além do retardo na cicatrização, é possível verificar algum comprometimento das bordas da ferida e aumento da dimensão da mesma, assim como um incremento em exsudato, sendo por vezes fétido. A estas características está ainda associado o aumento da dor ao toque. (Leaper, D et al, 2015; Powers, Jennifer G. et al, 2016; Withycombe, C et al, 2017; Zhao, Ruilong et al, 2016)

Porém, o principal problema da colonização de feridas crónicas é que esta é, por norma, polimicrobiana podendo incluir várias espécies de bactérias que coabitam em sinergismo, assim como fungos, vírus ou outros fatores biogénicos com potencial patogénico. Além disso, estes microrganismos tendem a abandonar a sua forma planctónica e a organizar-se em **biofilmes**. Os biofilmes são caracterizados como uma organização tridimensional especial em que as bactérias se encontram sem mobilidade, cujo metabolismo está próximo da inércia e a coordenação entre elas é tal que proporciona um ambiente que otimiza a fixação à ferida e a capacidade de sobreviver aos ataques externos, como o sistema imunitário do hospedeiro ou a presença de antibióticos. A presença de biofilmes, ou mesmo apenas microcolónias de tamanho tal que impeça que sejam fagocitadas, leva a que os macrófagos desgranulem e originem uma resposta inflamatória excessiva.

Para melhor compreender os mecanismos que levam a que a colonização bacteriana por biofilmes potencie a cronicidade das feridas, é necessário abordar as etapas de formação de um biofilme e conhecer os seus constituintes:

- ❖ **Formação de biofilmes:** A formação de um biofilme inclui tipicamente 5 etapas. A primeira consiste na **fixação reversível** de uma bactéria a uma determinada superfície, que pode ser biótica (como o caso do leito de uma ferida) ou abiótica (como no caso de próteses ou cateteres) através de uma interação físico-química ou eletrostática, respetivamente. No caso da formação de um biofilme numa ferida, falamos de interações específicas entre o envelope da bactéria e a membrana celular de uma célula da ferida mediadas pela presença de apêndices superficiais, como pili ou flagelos. Estes conseguem estabelecer a

ligação através de eventos de sinalização intracelular que alteram a sua expressão genética de forma a permitir a permuta da forma planctónica para biofilme. Na segunda etapa, inicia-se a produção de **substância polimérica extracelular** (EPS) que fortalece a ligação anterior (considerando-se agora uma fixação irreversível) e, além disso, dá suporte estrutural e bioquímico aos microrganismos. A terceira etapa diz respeito à **maturação** do biofilme em que microcolónias começam a estruturar-se em formas que permitem fazer chegar nutrientes e água em quantidade suficiente às camadas mais internas do biofilme, assim como eliminar os resíduos dessas mesmas camadas de forma mais eficaz. Essas estruturas dependem de fatores genéticos das bactérias envolvidas no biofilme (a título de exemplo, a *Pseudomonas aeruginosa* forma, por regra, estruturas em cogumelo), assim como de fatores externos, como os nutrientes disponíveis. Por fim, a última etapa corresponde à **dispersão** e desprendimento de células que, ficando livres, podem estabelecer fixação reversível com outra superfície e iniciar a formação um novo biofilme. (Clinton, Allie et al, 2015; Butler, Éile et al, 2014; Omar, Amin et al, 2017; Wu, Yuan-Kun et al, 2018)

- ❖ **EPS**: constitui cerca de 90% do volume do biofilme, contra os 10% de microrganismos (na forma planctónica e de biofilme), e é constituído por polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos. É o constituinte que define um biofilme uma vez que exerce várias funções determinantes do sucesso desta organização de microrganismos. Entre elas: contribui para manter a adesão das bactérias à superfície e manter as células próximas umas das outras; funciona como uma barreira que impede a entrada de agentes antimicrobianos e de células do sistema imune, bloqueando o sistema complemento, diminuindo a resposta linfoproliferativa e evitando a fagocitose através da prevenção do reconhecimento das bactérias pelos macrófagos; transporta nutrientes e água, mantendo a boa nutrição de todas as bactérias do biofilme, mesma as das camadas mais profundas. (Wu, Yuan-Kun et al, 2018; Clinton, Allie et al, 2015; Omar, Amin et al, 2017)
- ❖ ***Quorum sensing* (QS)**: é importante em todas as fases de formação de um biofilme uma vez que permite que as células dentro do biofilme estabeleçam comunicação, sendo que as funções específicas dependem de cada fase e do tipo de bactérias envolvidas. Esta comunicação é mediada por pequenas moléculas,

que podem passar por poros ou canais ou atravessar passivamente as membranas, e que são diferentes conforme o tipo de bactérias em causa. Assim, tanto as de Gram negativo como as de Gram positivo comunicam através do autoindutor 2, no entanto, as de Gram negativo também comunicam através da N-acil homoserina lactona, enquanto que as de Gram positivo utilizam o peptídeo autoindutor. Através destas moléculas, o QS permite regular a expressão génica das bactérias em resposta ao aumento ou diminuição da densidade populacional das mesmas, libertando proteínas e fatores de virulência diferentes, assim como promovendo a permuta entre bactérias no fenótipo de biofilme e no fenótipo planctónico. (Wu, Yuan-Kun et al, 2018; Omar, Amin et al, 2017)

A complexidade no combate a infeções provocadas por biofilmes prende-se quer com a aquisição de genes de resistência, quer com o aumento da tolerância às terapias antimicrobianas. A resistência está deveras relacionada com a aquisição de novos genes que pode ser potenciada pelo facto de os antibióticos chegarem ao leito de ferida em concentrações subterapêuticas. Além disso, a organização em biofilme torna o ambiente mais propenso à transferência horizontal desses mesmos genes de resistência através de plasmídeos, quer dentro da mesma espécie de bactérias, quer para bactérias de diferentes espécies.

Por outro lado, a tolerância é definida como um fenótipo transitório que proporciona capacidade de sobreviver às agressões externas. Uma das principais causas associada com a tolerância dos biofilmes é o facto de as bactérias se encontrarem com o metabolismo muito reduzido o que permite ultrapassar o mecanismo de ação da maioria dos antibióticos que atuam em fases específicas do metabolismo das bactérias [β -lactâmicos inibem a síntese da parede celular; aminoglicosídeos inibem a síntese de proteínas importantes à sobrevivência celular; quinolonas inibem a replicação do ácido desoxirribonucleico (DNA)]. A tolerância está ainda relacionada com a heterogeneidade fisiológica das bactérias dentro do biofilme, com a limitação da penetração dos antibióticos na EPS e com o facto do QS ser capaz de neutralizar a ação dos neutrófilos.

Assim, aquando da terapêutica com antibióticos ou antissépticos, as bactérias sensíveis são eliminadas, proporcionando uma melhoria na sintomatologia da infeção. No entanto, as células persistentes, quer resistentes, quer tolerantes, voltam a proliferar assim que a terapêutica é suspensa, tornando a recorrência das infeções por biofilmes extremamente elevada. De realçar que, apesar de existir o teste de sensibilidade a

antibióticos e de este dever ser usado antes a instauração de qualquer terapêutica antimicrobiana, este teste está desenhado para avaliar resistência em bactérias planctónicas, podendo não ser adequado para nos elucidar quando utilizados no contexto das feridas crónicas, cujas bactérias se encontram organizadas em biofilmes. (Omar, Amin et al 2017; Wu, Yuan-Kun et al, 2018; Clinton, Allie et al, 2015)

Interação biofilme-hospedeiro

A pele é habitada por uma microbiota residente, com a qual estabelece uma relação de mutualismo, e pode, em determinados momentos, ser colonizada por outros microrganismos potencialmente patogénicos ou não. As bactérias que com mais frequência se revelam como responsáveis pela formação de biofilmes em feridas crónicas são a *P. aeruginosa* e bactérias do género *Staphylococcus*, sendo que, quando um biofilme começa a ser formado por uma determinada espécie, outras vão sendo aprisionadas no biofilme, podendo mesmo as bactérias da microbiota tornar-se patogénicas. Regra geral, uma ferida crónica inclui bactérias aeróbias e anaeróbios, sendo as anaeróbias encontradas nas camadas mais profundas do biofilme enquanto que as aeróbias se encontram mais à superfície. (Rahim, Kashif et al, 2017)

Na tabela 1, estão sintetizadas as espécies de bactérias que com mais frequência são encontradas em todos os tipos de feridas.

Tabela 1, III: Géneros de bactérias encontradas em feridas com mais frequência, a sua classificação Gram e o modo como o oxigénio influencia o seu crescimento. (Butler, Éile et al, 2014)

Género Bacteriano	Coloração Gram	Influência do oxigénio
<i>Staphylococcus</i>	Positivo (+)	Anaeróbio facultativo
<i>Pseudomonas</i>	Negativo (-)	Aeróbio
<i>Enterobacter</i>	Negativo (-)	Anaeróbio facultativo
<i>Enterococcus</i>	Positivo (+)	Anaeróbio facultativo
<i>Finogoldia</i>	Positivo (+)	Anaeróbio

De entre todas as bactérias capazes de colonizar feridas e produzir biofilmes, as melhor estudadas são o *Staphylococcus aureus* e a *P. aeruginosa*, sendo também estas as duas bactérias mais prevalentes neste tipo de infecção, quer isoladas quer em co-colonização. É claro que o biofilme estabelece uma interação complexa com o hospedeiro, manipulando algumas células do sistema imunitário deste para sua própria vantagem. A título de exemplos:

- ❖ Interação *S. aureus* – hospedeiro: a presença de *S. aureus* recruta macrófagos para o local da infecção que, ao contactarem com as bactérias, são induzidos a alterar o seu estado para macrófagos M2, estado em que a atividade microbicida está suprimida. Por outro lado, o EPS produzido pelo biofilme de *S. aureus* consegue atenuar a resposta inflamatória através da redução dos níveis de expressão de citocinas e quimiocinas pro-inflamatórias, sendo que, na globalidade, a penetração de macrófagos no leito da ferida diminui, e os que chegam não têm atividade contra as bactérias, ficando estas protegidas do sistema imune do hospedeiro. (Wu, Yuan-Ku et al, 2018)
- ❖ Interação *P. aeruginosa* – hospedeiro: a presença de *P. aeruginosa* leva a um aumento drástico do número de neutrófilos no local da ferida, no entanto estes não conseguem fagocitar as bactérias porque são paralisados e lisados por fatores do sistema de QS; por sua vez, as bactérias conseguem utilizar o DNA e actina que resulta da necrose dos neutrófilos para continuar a formar biofilme. O EPS produzido por *P. aeruginosa* também tem um papel importante no sucesso da infecção uma vez que é rico em alginato que confere proteção contra macrófagos e secreta elastase que inativa o sistema complemento. (Wu, Yuan-Ku et al, 2018)
- ❖ Interação *S. aureus* – *P. aeruginosa*: *In vitro*, *P. aeruginosa* produz algumas moléculas reguladas pelo QS, com capacidade de eliminar *S. aureus*. Pelo contrário, *in vivo*, a presença de albumina no leito da ferida leva a que as moléculas sinalizadoras do QS se liguem sem especificidade à proteína e, daí resultante, a expressão génica dos exoprodutos mencionados anteriormente fica diminuída. Dessa forma estas duas espécies co-existem e tornam o decorrer da infecção muito mais agressiva, verificando-se que pacientes com co-infecção têm, em geral, piores prognósticos. (Clinton, Allie et al, 2017) Verifica-se ainda que a tolerância a antibióticos aumenta quando estas duas espécies crescem em sinergismo. Os mecanismos relacionados com o aumento dessa tolerância não se encontram totalmente esclarecidos, no entanto, admite-se ser influenciado quer por

exoprodutos produzidos pelo QS, quer pela presença de EPS. (DeLeon, Stephanie et al, 2014)

Métodos de diagnóstico

O diagnóstico de feridas crónicas nem sempre é fácil e exige uma série de condições diferentes do diagnóstico de feridas agudas colonizadas por uma bactéria no estado planctónico, em que uma simples cultura e posterior antibiograma são suficiente para diagnosticar o agente etiológico e inferir sobre o tratamento adequado. O método escolhido para o diagnóstico tem influência nas espécies detetadas no biofilme, tanto em termos qualitativos como quantitativos, mas não se reconhece nenhum método capaz de, isoladamente, detetar a composição completa do biofilme. Por esse motivo não estão ainda definidos testes padrão para o seu diagnóstico, pelo que, para aumentar a sensibilidade e confiança das técnicas, é sempre aconselhada a combinação de ensaios morfológicos com ensaios microbiológicos e moleculares. (Butler, Éile et al, 2016; Wu, Yuan-Kun et al, 2018)

Entre os aspetos que dificultam o diagnóstico e perturbam o estabelecimento de terapêutica adequada, destacam-se o facto de os biofilmes serem polimicrobianos e heterogêneos, pelo que a recolha correta da amostra tem um papel fundamental no sucesso desta etapa. Assim, a recolha de amostras deve ser anterior à instituição de qualquer terapêutica que interfira na posterior cultura bacteriana e deve ter-se em conta sempre a manutenção de condições assépticas, evitando contaminações e, por conseguinte, falsos negativos e falsos positivos. Além disso, é crucial a recolha de múltiplas amostras, de locais e profundidades distintas dentro do leito da ferida para aumentar as probabilidades de encontrar todos os patógenos envolvidos no biofilme. (Macià, María D. et al, 2018; Wu, Yuan-Kun et al, 2018)

Ensaio morfológico

A avaliação morfológica pode ser feita quer por análise objetiva da biópsia do tecido da base da ferida após desbridamento, quer por microscopia eletrónica de varredura ou microscopia confocal de varredura a laser. A primeira técnica está associada a muitos falsos negativos uma vez que apenas cerca de 10% de um biofilme são microrganismos, podendo a amostra não recolher material de biofilme suficiente para permitir a visualização dos mesmos.

As técnicas de microscopia, apesar de serem mais confiáveis, do ponto de vista clínico são impraticáveis devido à necessidade de material específico e pessoal qualificado.

Desta forma, apesar de estar associada a um grande número de falsos negativos, a avaliação histológica do tecido da ferida continua a ter um papel na clínica para avaliar o aspeto clínico da ferida, assim como a localização do biofilme no leito da ferida. Além disso, é um método que permite também avaliar a presença de células inflamatórias, orientando o clínico para o estado da infeção. (Macià, Maria D. et al, 2018; Wu, Yuan-Kun et al, 2018)

Ensaio microbiológicos

A cultura de microrganismos provenientes de um biofilme pode ser uma tarefa desafiante. A maior dificuldade sentida prende-se com o facto da generalidade das bactérias envolvidas num biofilme se encontrarem num estado de crescimento lento pelo que, apesar de viáveis, tornam-se não cultiváveis, originando falsos negativos.

Para aumentar a sensibilidade e especificidade da cultura, é necessário “destruir” o biofilme, podendo recorrer-se a métodos físicos, como a sonicação, ou a métodos químicos, como a adição de ditiotreitol. (Macià, Maria D. et al, 2018; Rhoads, Daniel D. et al, 2012; Wu, Yuan-Kun et al, 2018)

Ensaio moleculares

Os ensaios moleculares baseiam-se na deteção de DNA ou ácido ribonucleico (RNA), permitindo a identificação de microrganismos mesmo quando estes se encontram no estado não cultivável. Existem várias técnicas que podem ser usadas para a deteção de ácidos nucleicos, entre elas: Reação de Polimerização em Cadeia (PCR) da região 16S ribossomal, amplificação parcial do ribossoma e pirosequenciamento (PRAPs), amplificação ribossómica completa, clonagem e sequenciamento de Sanger (FRACs) e amplificação parcial ribossómica, eletroforese em gel com gradiente desnaturante e sequenciamento de Sanger (PRADs).

Apesar das metodologias moleculares atuais serem muito sensíveis e específicas, não são capazes de distinguir entre patogéneos verdadeiros e contaminações, pelo que não devem substituir as técnicas anteriormente descritas, mas sim complementá-las. (Wu, Yuan-Kun et al, 2018)

Métodos emergentes

Apesar de não existirem ainda testes *gold-standart*, estão em estudo algumas abordagens promissoras que permitem detetar com maior exatidão e precisão a composição qualitativa e quantitativa de biofilmes em feridas, baseadas em *wound blotting* e/ou transcriptómica.

Wound blotting é uma técnica que consiste na transferência, através de adsorção para uma membrana de nitrocelulose, após desbridamento agudo, das proteínas e mucopolissacarídeos de uma ferida. Esta técnica foi utilizada para análise espacial feridas de pressão e, através de uma técnica de coloração com vermelho de ruténio conseguiu-se detetar um componente do EPS, que permitiu inferir sobre o prognóstico da evolução da ferida. Outro estudo com *wound blotting*, consistiu na análise do padrão de distribuição do TNF- α , que também demonstrou estar relacionado com o prognóstico.

A análise transcriptómica tem duas vantagens que lhe conferem um potencial acrescido no diagnóstico de feridas crónicas. Uma vez que consegue detetar padrões de RNA diferentes em extrema dependência com o seu estado planctónico ou de biofilme, permite inferir sobre o tipo de bactérias e o seu estado em todo o microambiente do biofilme. Além disso, permite avaliar subtipos moleculares, o que se traduz na avaliação da resistência a antibióticos. Decorrente destes dois factos, percebe-se que a análise transcriptómica é, talvez, a mais promissora para a instauração de uma terapêutica personalizada para cada tipo de ferida. (Wu, Yuan-Kun et al, 2018)

Tratamento de feridas crónicas

Como já foi descrito, a maioria das feridas crónicas resulta de uma infeção polimicrobiana organizada em biofilme. Dessa forma, o tratamento deste tipo de patologia não poderá ser direccionado a um patógeno em particular pois, se assim fosse, o biofilme persistiria. Além de ter de ser um tratamento que abranja uma panóplia mais ou menos alargada de espécies, verificou-se ser necessário destruir a organização em biofilme para que seja possível a penetração dos agentes antimicrobianos por forma atuar com maior eficácia no maior número de bactérias.

No entanto, é também importante perceber os motivos pelos quais a ferida se tornou crónica, uma vez que, se esta for secundária a uma doença de base, o controlo dessa doença é essencial para as melhoras clínicas da ferida e para permitir a sua cicatrização

completa. A título de exemplo, no caso das úlceras do pé diabético, o controlo da glicémia é crucial para o controlo da infeção e resolução da ferida. (Zhao, Ruilong et al, 2016)

Tendo a cicatrização como objetivo maior, é necessário atingir dois pontos cruciais para a conseguir: cessar as causas da inflamação, de forma a interrompê-la; e gerar um microambiente propício à regeneração de tecido de granulação saudável que serve de “força motriz” à cicatrização. Para que esse microambiente possa ser criado, a ferida tem de estar “saudável”, ou seja, a base do leito da ferida terá de ter cor avermelhada e sangrar aquando do desbridamento. Observar estas características permite-nos dizer com clareza que a ferida está ainda irrigada e, só nessa condição, podemos pensar sobre o tratamento farmacológico mais adequado, ou seja, que resulta num tempo de cicatrização tão curto quanto possível aumentando a qualidade de vida dos doentes, com um custo-efetividade suportável pelo doente e pelo Estado. Além disso, mesmo a ferida estando ainda “saudável”, há necessidade de remover eventual tecido necrótico dentro e ao redor da ferida, uma vez que este dificulta que os queratinócitos migrem na ferida, prejudicando a cicatrização. A remoção do tecido necrótico constitui a primeira fase terapêutica na abordagem a uma ferida crónica, sendo esta efetuada por desbridamento. O desbridamento é também um ponto importante para a diminuição da carga biológica das feridas. (Gupta, Subhas et al, 2017; Powers, Jennifer G. et al, 2016; Zhao, Ruilong et al, 2016)

Existem várias técnicas de desbridamento que podem ser utilizadas: cirúrgico; autolítico; enzimático; biológico; e mecânico. A escolha do método deve ser adequada ao tipo de ferida em causa, se é exsudativa ou não e rapidez necessária. O desbridamento mais rápido e eficaz é o **cirúrgico**, no entanto não é o mais utilizado uma vez que muitas vezes pode danificar o tecido viável do fundo da ferida e comprometer a cicatrização subsequente. Os tipos **biológico** e **mecânico** são poucas vezes utilizados uma vez que estão associados a muita dor. O tipo **autolítico**, apesar de ser lento, é dos mais utilizados por ser um processo menos doloroso e mais seletivo. Este é baseado em manter um ambiente húmido na ferida que permita um ambiente propício a que enzimas endógenas degradem o material não viável. Por fim, o tipo **enzimático** recorre a uma colagenase derivada da bactéria *Clostridium histolyticum*, e é mais eficaz no desbridamento de feridas secas fibrinosas em que o tecido de granulação não é viável. (Powers, Jennifer G. et al, 2016)

Uma vez que a infeção é a causa primária da cronicidade das feridas, vamos focar-nos na debelação da infeção como fator primário para a resolução da mesma. (Leaper, D

et al, 2015) Sabemos também que, a maioria destas, é causada por bactérias (muitas vezes resistentes) e outros microrganismos organizados na forma de biofilme e como isso constitui um desafio na erradicação da infecção, uma vez que esse tipo de organização dificulta a entrega de qualquer antibiótico ou antisséptico a todas as partes do biofilme. Assim, verificou-se que, para que um antisséptico ou antibiótico tenha atividade sobre as bactérias que constituem o biofilme, esta organização terá de ser previamente quebrada. Para isso desenvolveram-se compostos antibiofilme, com capacidade de destruir a matriz EPS já formada, e inibidores do QS, que interrompem a comunicação entre as bactérias do biofilme, levando à sua destruição. (Bowler, Philip G. et al, 2018; Trentin, Danielle Da Silva et al, 2013; Withycombe, C et al, 2017)

Estratégias antibiofilme

As estratégias antibiofilme estão relacionadas quer com moléculas que destroem o biofilme por destruição direta das ligações da matriz EPS, forçando o aparecimento de poros no biofilme, quer por moléculas que inibem a comunicação entre as bactérias do biofilme, descoordenando os processos fisiológicos que o sustentam. O principal objetivo do uso deste tipo de moléculas não é, por isso, eliminar a infecção e promover a cicatrização, mas antes proporcionar um ambiente de maior suscetibilidade bacteriana e de menor probabilidade de transferência horizontal de genes, por forma a que, as terapias antimicrobianas subsequentes sejam mais efetivas e provoquem o mínimo de pressão seletiva que origine resistências. (Bowler, Philip G. et al, 2018; Trentin, Danielle Da Silva et al, 2013)

Os **agentes antibiofilme** podem ser enzimas capazes de destruir ligações peptídicas da matriz de EPS, como por exemplo, a proteinase K, tripsina, β -amilase ou peptídeos catiónicos antimicrobianos. Apesar de não se conhecer o mecanismo exato destes peptídeos catiónicos, sabe-se que estes interagem com a membrana citoplasmática e suprimem a expressão de genes envolvidos na formação de biofilmes. (Trentin, Danielle Da Silva et al, 2013; Withycombe, C et al, 2017)

Polissacarídeos catiónicos também têm demonstrado ter um papel antibiofilme, além de um papel antimicrobiano. O quitosano tem a capacidade de interagir com a parede celular dos microrganismos, alterando a sua permeabilidade, o que leva a que o metabolismo normal da célula fique comprometido, levando à morte celular. Por outro lado, tem a capacidade de reduzir a adesão das bactérias, comprometendo por isso a integridade dos biofilmes. Apesar destes efeitos, a sua atividade máxima no controlo de

infecções e enquanto potenciador da regeneração verifica-se em conjunto com o alginato, outro polissacarídeo que, além de atuar como antimicrobiano contra Gram positivas e Gram negativas, consegue, através de troca iónica, absorver o exsudato excessivo das feridas, mantendo um ambiente húmido saudável para a cicatrização. Assim, estes dois polissacarídeos atuam em sinergismo, modulando a fase inflamatória e estimulando a proliferação de fibroblastos, crucial para melhorar a qualidade do tecido de cicatrização. (Silva Pereira, Jéssica Da et al, 2018)

No que diz respeito aos **agentes inibidores do QS**, estes baseiam-se no facto de que, para que a formação de um biofilme ocorra e se mantenha, é necessária uma comunicação prévia e continuada entre as células. Assim, inibindo a comunicação, o biofilme fica comprometido. Dois exemplos de inibidores de QS são a furanona, com atividade contra *P. aeruginosa* e a tiofenona, com atividade contra o *S. aureus*.

Agentes antissépticos vs agentes antibióticos

Para a abordagem bacterostática/bactericida, estão disponíveis dois grandes grupos de moléculas: antissépticos e antibióticos. Estes diferem entre si em alguns aspetos que devem ser tidos em conta aquando da escolha terapêutica.

Os **antissépticos** definem-se por atuar num conjunto diversificado de alvos moleculares dentro da célula pelo que o seu espetro de ação é mais amplo. Além disso, o seu mecanismo de ação é mais rápido do que o dos antibióticos, manifestando-se a sua atividade em apenas alguns segundos.

Apesar de não se conhecerem desenvolvimento de resistências a antissépticos, a falta de testes de sensibilidade padronizados não nos permite dizer com clareza que não ocorram fenómenos de tolerância e resistência cruzada com o seu uso continuado. Pelo mesmo motivo, os dados de eficácia clínica também não são completamente esclarecedores, pelo que o uso de antissépticos não deve ser descartado, mas estes devem, na maioria dos casos, ser utilizados como adjuvantes do tratamento e não como tratamento isolado. (Leaper, D. et al, 2015; Williamson, Deborah A. et al, 2017)

No que diz respeito aos **antibióticos**, estes, ao contrário dos antissépticos, podem ser administrados por via tópica ou oral. A via tópica é preferida para feridas infetadas apenas na zona mais superficial em que não há risco de *sepsis*, ficando a via sistémica reservada para situações mais graves, em que a infeção atinge proporções críticas, incapazes de controlar apesar dos esforços tópicos, justificando-se uma abordagem mais agressiva. (Leaper, D. et al, 2015; Williamson, Deborah A. Et al, 2017)

Por via oral, todos os grupos de antibióticos são passíveis de constituir terapêutica de uma ferida crónica, desde que de acordo com o seu espectro de ação nas bactérias que colonizam a ferida crónica. No entanto, no tratamento tópico o mesmo não se verifica, havendo uma faixa muito mais estreita de antibióticos com atividade, e sem efeitos secundários graves, quando usados topicamente.

A eficácia de um antibiótico depende de vários fatores: em primeira instância da escolha racional do mesmo de acordo com a flora microbiana que se pretende debelar; da concentração efetiva que chega ao local de ação, estando relacionada com a presença de isquemia/necrose, fator pelo qual a observação do aspeto da ferida tem tanta importância para a abordagem terapêutica; e, em última análise, da resistência microbiana intrínseca e extrínseca, sendo este um dos fatores que mais impacto tem na decisão de limitar o uso de antibióticos. (Leaper, D. et al, 2015; Powers, Jennifer G. et al, 2016; Williamson, Deborah A. Et al, 2017)

Antissépticos

O uso de antissépticos tem como principal objetivo coadjuvar a limpeza, irrigação e desbridamento das feridas com vista a reduzir a carga biológica total e a formação/reparação de biofilmes. O seu uso deve, no entanto, ter em vista não atrasar o processo de cicatrização, ou seja, ter o mínimo de impacto nas células de regeneração de novo tecido.

De entre os antissépticos existentes, destacam-se: cloro-hexidina, iodopovidona, álcool, peróxido de hidrogénio (H₂O₂) e iões de prata. O **peróxido de hidrogénio** e o **álcool**, apesar de potentes e de amplo espectro, estão associados a problemas que levaram a limitar o seu uso na prática clínica. Por um lado, o H₂O₂ está relacionado com níveis substanciais de tolerância, em especial por microrganismos produtores de catalase, uma enzima capaz de decompor o H₂O₂ em água e oxigénio, inibindo a sua ação. Por sua vez, a presença de álcool num leito de ferida pode potenciar a formação de biofilmes de *S. aureus* e *S. epidermis*, tendo o efeito oposto ao pretendido quando estas bactérias estão presentes. (Leaper, D. et al, 2015; Williamson, Deborah A. et al, 2017)

Os antissépticos que melhor se adequam ao objetivo do manuseamento são a cloro-hexidina, a iodopovidona e os iões de prata, sendo, por isso, os mais utilizados. Contudo, mesmo dentro destes, existem diferenças que levam a que os clínicos optem muitas vezes pela cloro-hexidina em detrimento dos outros. A

iodopovidona atua como agente oxidante, com rápida penetração na membrana celular e inibindo um conjunto importante de processos celulares vitais dos microrganismos, com espectro de atividade alargado. Todavia, algumas evidências, demonstram que pode também ser citotóxico para as células do tecido saudável, retardando a cicatrização. Além disso, a iodopovidona pode tornar-se ineficaz quando na presença de sangue ou proteínas teciduais. No que diz respeito aos **iões de prata**, estes mostraram evidência significativa na diminuição da carga biológica e no tamanho da ferida, no entanto, os resultados sobre a sua eficácia na cicatrização completa das feridas é equívoca. Por sua vez, a **cloro-hexidina**, além de não demonstrar qualquer efeito adverso sobre a cicatrização, possui a particularidade de ter atividade residual de longa duração. Assim, apesar de não ter atividade direta sobre as bactérias no estado de biofilme, necessitando de complemento de técnicas de desbridamento e/ou agente anti-biofilme, tem sido o antisséptico preferido no controlo da carga biológica de feridas crónicas. (Leaper, D. et al, 2015; Powers, Jennifer G. et al, 2016; Williamson, Deborah A. et al, 2017)

Antibióticos

Além do uso de antibióticos, sobretudo no caso de antibióticos tópicos, estar sujeito ao desenvolvimento acelerado de resistências, estes estão muitas vezes associados a reações adversas como dermatite de contacto. Assim, o arsenal de antibióticos tópicos é baixo e, em grande parte das vezes, o benefício do seu uso não supera os riscos associados.

Os antibióticos tópicos usados na prática clínica restringem-se à mupirocina, ácido fusídico, neomicina, bacitracina e polimixina B. Os três primeiros atuam por inibição da síntese proteica, enquanto que os dois últimos atuam ao nível da parede celular. A **mupirocina**, assim como o **ácido fusídico**, são sobretudo utilizados quando a infeção é causada por bactérias dos géneros *Staphylococcus* ou *Streptococcus*. Contudo, em especial o género de *Staphylococcus* tem verificado a aquisição de muitos genes de resistência. Este facto poder-se-á dever à classificação do ácido fusídico como medicamento não sujeito a receita médica, o que potencia o seu uso indevido.

No que diz respeito à **neomicina, bacitracina e polimixina B**, estes são muitas vezes usados em conjunto para cobrir um espectro mais amplo de bactérias.

A neomicina, apesar de administrada por via tópica, está sujeita a um determinado grau de absorção sistêmica, podendo conduzir a ototoxicidade.

Nos casos em que é necessário recorrer à terapêutica sistêmica, o número de antibióticos disponíveis é muito maior, com mecanismos de ação que podem ser mais ou menos direcionados, conforme desejarmos. Assim, os antibióticos devem ser escolhidos, sempre que possível, com base na análise das bactérias causadoras de infecção e na existência de genes de resistência, de forma a escolher o mais indicado para a infecção a tratar e evitar o desenvolvimento de resistências. (Leaper, D. et al, 2015; Powers, Jennifer G. et al, 2016; Williamson, Deborah A. et al, 2017)

Existem ainda produtos naturais com reconhecidas propriedades antimicrobianas. Apesar de já terem sido feitos esforços para isolar os compostos com essa atividade, reconhece-se que alguns produtos naturais têm melhor eficácia devido ao sinergismo de ações entre os seus diversos compostos. Um dos exemplos que com mais frequência é utilizado no manuseamento de feridas é o **mel de manuka**. Este mel tem propriedades higroscópicas, elevada osmolaridade e baixo pH, fatores que inibem o crescimento bacteriano e melhoram as condições para a cicatrização por promoverem a epitelização e reduzirem a inflamação. Apesar de promissor, as dificuldades na dispersão efetiva pelo biofilme são idênticas às sentidas com os antibióticos tópicos e, daí decorrente, o seu uso também pode conduzir ao aparecimento de resistências a longo prazo. (Butler, Éile, et al, 2016; Withycombe, C et al, 2017)

Controlo da humidade

O controlo da humidade de uma ferida é crucial para a sua cicatrização. Quando esta está em equilíbrio permite a migração normal dos queratinócitos, com conseqüente promoção da cicatrização.

A forma mais eficaz e mais barata de manter uma ferida sobre as condições de humidade apropriadas é a utilização de pensos, que além dessa atividade, são também uteis para prevenir/tratar infecções e diminuir complicações associada a irritações externas. Existem vários tipos de pensos sendo que a escolha do mais apropriado se baseia nas características da ferida a tratar. Para feridas com excesso de exsudato, usualmente, utilizam-se **alginatos** ou **espumas**. Estes polissacarídeos têm propriedade de absorção muito marcada pelo que deve haver precaução no seu uso para que não

seque demasiado as feridas, provocando dor e lesão tecidual ao retirar. Os **hidrocoloides** são pensos que permitem prevenir da desidratação, uma vez que formam um gel quando em contacto com o exsudato, podendo ser utilizados mesmo quando o exsudato não é extremamente abundante, sem perigo de secagem excessiva. Por último, os **hidrogéis** são sobretudo utilizados para feridas necróticas secas.

Outra técnica que permite controlar a humidade e promover a cicatrização consiste na **terapia de pressão negativa**. É uma técnica muitas vezes utilizada no tratamento de úlceras do pé diabético e de pressão. Apesar de controverso, parece diminuir a carga biológica e o exsudato, mantendo a humidade e a perfusão vascular adequada à melhor regeneração de tecido de granulação. Assim verifica-se uma diminuição no tamanho global da ferida e um tempo de cicatrização total mais curto. (Jones, Ruth Ellen et al, 2018; Powers, Jennifer G. et al, 2016)

Abordagem multifatorial

Apesar dos esforços, a abordagem a feridas crónicas continua a ser um desafio para o qual não há uma resposta pronta. A pesquisa avança a passos lentos devido, não só à falta de financiamento, como também à dificuldade de conseguir modelos *in vitro* ou animais em que seja possível reproduzir todas as particularidades de uma ferida crónica, especialmente no que diz respeito à infeção por biofilmes. (Zhao, Ruilong et al, 2016; Withycombe, C et al, 2017)

A melhor abordagem atual para o tratamento de feridas crónicas é uma abordagem multifatorial, utilizando estratégias combinadas entre si. Para isso, os pensos podem ser um meio de transporte de antissépticos, antibióticos, produtos naturais com propriedades antimicrobianas, peptídeos e polissacarídeos catiónicos e até mesmo fatores de crescimento.

O uso de antibióticos acoplado a pensos é passível de se fazer com recurso à nanoencapsulação, permitindo que o antibiótico vá sendo libertado no leito da ferida ao longo do tempo, mantendo uma concentração eficaz durante um período de tempo mais longo. (Withycombe, C et al, 2017)

No que diz respeito aos fatores de crescimento, estes mimetizam a ação dos fatores de crescimento presentes numa ferida em processo de cicatrização normal, com vista a proporcionar uma concentração e função ideais das principais células envolvidas no

processo de cicatrização: queratinócitos; células endoteliais, células imunes; e fibroblastos. (Zhao, Ruilong et al, 2016)

Para feridas crônicas cujo fator de cronicidade major é uma patologia adjacente, poderá ainda ser necessário adicionar terapias adjuvantes. É exemplo a alta compressão elástica para úlceras venosas. (Gupta, Subhas et al, 2017)

A tabela seguinte resume as principais técnicas que podem ser utilizadas para promover a cicatrização de uma ferida crônica.

Tabela 2, III: Fatores a ter em consideração e técnicas utilizadas para promover a cicatrização de uma ferida crônica.

Cicatrização de uma ferida crônica							
Fatores cruciais	Promover um microambiente ideal para a cicatrização		Controlar a infecção				
Técnicas	Desbridamento	Controlo da humidade	Estratégias Antibiofilme		Abordagem Bacteriostática/bactericida		
			Agentes antibiofilme	Inibidores do quórum sensing	Antissépticos	Antibióticos	Produtos naturais
Objetivos e características	Remover tecido necrótico e diminuir a carga biológica	Permitir a migração normal dos queratinócitos	Proporcionar maior suscetibilidade bacteriana		Espetro de ação mais amplo e atuação mais rápida; Usados como adjuvantes por via tópica	Usados por via tópica ou sistémica; Adaptados à suscetibilidade das bactérias	Atividade antimicrobiana por sinergismo de compostos
Exemplos	Cirúrgico Biológico Mecânico Autólítico Enzimático	Pensos (Alginatos; Espumas; Hidrocoloídes; Hidrogéis) Terapia de pressão negativa	Proteinase K Tripsina β-amilase Peptídeos catiónicos antimicrobianos	Furanona Tiofenona	Cloro-hexidina Iodopovidona Iões de prata	Tópicos: Mupirocina; Ácido fusídico; Neomicina; Bacitracina; Polimixina B	Mel de Manuka
			Quitosano e alginato				

Conclusão

As feridas crónicas podem ser desencadeadas por vários fatores, sendo os mais frequentes e importantes: a idade, que perturba o normal recrutamento das células envolvidas na cicatrização; a isquemia e hipoxia, que muitas vezes resultam de doenças precedentes e que, além de perturbarem a cicatrização fisiológica, ameaçam também a eficácia dos esforços terapêuticos aplicados; e a presença de microrganismos que, devido à forma como se organizam no leito de uma ferida, conseguem fazer a infeção persistir contra a maioria dos tratamentos disponíveis.

No caso das feridas crónicas, as bactérias mais prevalentes são a *S. aureus* e a *P. aeruginosa*, bactérias capazes de estabelecer biofilmes de estruturas complexas, tanto isoladas como em conjunto. Além de interagirem entre si, estas bactérias são capazes de manipular o hospedeiro de forma a reforçar a sua patogenicidade.

É clara a necessidade de estabelecer diagnósticos mais diferenciais e terapêuticas mais direcionadas para gerir feridas que não cicatrizam no tempo adequado, dado o crescente número de indivíduos que sofrem com a cronicidade das feridas. O desenvolvimento de técnicas de diagnóstico promissoras, baseadas em *blotting* e transcriptómica, constituem um progresso importante para instituir um tratamento adequado.

O tratamento de feridas crónicas continua a ser um desafio devido à dificuldade de gerir a infeção. Conhecer com detalhe os microrganismos envolvidos e as repercussões do fenótipo que apresentam, permite o desenvolvimento de terapêuticas cada vez mais direcionadas. Apesar disso, continuamos a ter a abordagem multifatorial como a melhor opção, contemplando a abordagem antimicrobiana e o controlo de condições de humidade, indispensáveis ao mecanismo normal de cicatrização. A introdução de novos agentes terapêuticos baseados na compreensão dos mecanismos envolvidos na formação de biofilmes, como é o caso dos agentes antibiofilme e dos inibidores do QS, permitiu uma maior eficácia dos agentes antimicrobianos tradicionais.

Bibliografia

BJARNSHOLT, T. *et al.* - Biofilm formation – what we can learn from recent developments. **Journal of Internal Medicine**. . ISSN 13652796. 284:4 (2018) 332–345. doi: 10.1111/joim.12782.

BOWLER, Philip G. - Antibiotic resistance and biofilm tolerance: a combined threat in the treatment of chronic infections. **Journal of Wound Care**. . ISSN 0969-0700. 27:5 (2018) 273–277. doi: 10.12968/jowc.2018.27.5.273.

BUTLER, Éile *et al.* - A pilot study investigating lactic acid bacterial symbionts from the honeybee in inhibiting human chronic wound pathogens. **International wound journal**. . ISSN 1742481X. 13:5 (2016) 729–737. doi: 10.1111/iwj.12360.

CLINTON, Allie; CARTER, Tammy - Chronic Wound Biofilms: Pathogenesis and Potential Therapies. **Laboratory Medicine**. . ISSN 0007-5027. 46:4 (2015) 277–284. doi: 10.1309/lmbnswkui4jpn7so.

DELEON, Stephanie *et al.* - Synergistic Interactions of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in an In Vitro Wound Model . **Infection and Immunity**. . ISSN 0019-9567. 82:11 (2014) 4718–4728. doi: 10.1128/iai.02198-14.

FAZLI, Mustafa *et al.* - Nonrandom distribution of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in chronic wounds. **Journal of Clinical Microbiology**. . ISSN 00951137. 47:12 (2009) 4084–4089. doi: 10.1128/JCM.01395-09.

GONZALEZ, ACO *et al.* - Wound healing - A literature review. 91:5 (2016) 614–620. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/abd1806-4841.20164741>.

GOSAIN, Ankush; DIPIETRO, Luisa A. - Aging and Wound Healing. **World Journal of Surgery**. . ISSN 03642313. 28:3 (2004) 321–326. doi: 10.1007/s00268-003-7397-6.

GUPTA, Subhas *et al.* - Management of Chronic Wounds: Diagnosis, Preparation, Treatment, and Follow-up. **HMP Communications Holdings**. 2017) 19–36.

JONES, Ruth Ellen; FOSTER, Deshka S.; LONGAKER, Michael T. - Management of Chronic Wounds. **JAMA - Journal of the American Medical Association**. . ISSN 15383598. 320:14 (2018) 1481–1482. doi: 10.1001/jama.2018.12426.

KALAN, Lindsay R.; BRENNAN, Meghan B. - The role of the microbiome in nonhealing diabetic wounds. **Annals of the New York Academy of Sciences**. . ISSN 00778923. 1435:1 (2019) 79–92. doi: 10.1111/nyas.13926.

KYAW, Bhone Myint *et al.* - Need for improved definition of “chronic wounds” in clinical studies. **Acta Dermato-Venereologica**. . ISSN 16512057. 98:1 (2018) 157–158. doi: 10.2340/00015555-2786.

LEAPER, D.; ASSADIAN, O.; EDMISTON, C. E. - Approach to chronic wound infections. **British Journal of Dermatology**. . ISSN 13652133. 173:2 (2015) 351–358. doi: 10.1111/bjd.13677.

MACIÀ, María D. *et al.* - Microbiological diagnosis of biofilm-related infections. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**. . ISSN 15781852. 36:6 (2018) 375–381. doi: 10.1016/j.eimc.2017.04.006.

OMAR, Amin *et al.* - Microbial Biofilms and Chronic Wounds. **Microorganisms**. . ISSN 2076-2607. 5:1 (2017) 9. doi: 10.3390/microorganisms5010009.

POWERS, Jennifer G. *et al.* - Wound healing and treating wounds. **Journal of the American Academy of Dermatology**. . ISSN 01909622. 74:4 (2016) 607–625. doi: 10.1016/j.jaad.2015.08.070.

RAHIM, Kashif *et al.* - Bacterial Contribution in Chronicity of Wounds. **Microbial Ecology**. . ISSN 0095-3628. 73:3 (2017) 710–721. doi: 10.1007/s00248-016-0867-9.

RHOADS, Daniel D. *et al.* - Comparison of Culture and Molecular Identification of Bacteria in Chronic Wounds. **International Journal of Molecular Sciences**. . ISSN 1422-0067. 13:3 (2012) 2535–2550. doi: 10.3390/ijms13032535.

SILVA PEREIRA, Jéssica DA *et al.* - Efeito da Quitosana e Alginato na Cicatrização de Feridas: revisão integrativa. **Enfermagem Atual**. v1:n8 (2018) 123. doi: 10.31011/1519-339x.2018a18n84.10.

TAKEO, Makoto; LEE, Wendy; ITO, Mayumi - Wound Healing and Skin Regeneration. **Cold Spring Harbor Perspectives**. 9:6 (2015). doi: 10.1101/cshperspect.a023267.

TRENTIN, Danielle Da Silva; GIORDANI, Raquel Brandt; MACEDO, Alexandre José - Clínica E Estratégias De Combate. **Revista Liberato**. 14:22 (2013) 113–238.

WILLIAMSON, Deborah A.; CARTER, Glen P.; HOWDEN, Benjamin P. - Current and Emerging Topical Antibacterials and Antiseptics: Agents, Action, and Resistance Patterns. **Clinical Microbiology Reviews**. 30:3 (2017) 827–860.

WITHYCOMBE, C.; PURDY, K. J.; MADDOCKS, S. E. - Micro-management: curbing chronic wound infection. **Molecular Oral Microbiology**. . ISSN 20411014. 32:4 (2017) 263–274. doi: 10.1111/omi.12174.

WU, Yuan-Kun; CHENG, Nai-Chen; CHENG, Chao-Min - Biofilms in Chronic Wounds: Pathogenesis and Diagnosis. **Trends in Biotechnology**. . ISSN 01677799. 37:5 (2019) 505–517. doi: 10.1016/j.tibtech.2018.10.011.

ZHAO, Ruilong *et al.* - Inflammation in Chronic Wounds. **International Journal of Molecular Sciences**. . ISSN 1422-0067. 17:2016). doi: 10.3390/ijms17122085.