



## ARTIGO ORIGINAL

# Ensaio clínico randomizado do curativo de hidrofibra com prata *versus* pomada de collagenase para úlceras venosas: análise de bactérias produtoras de biofilme e clonalidade bacteriana<sup>☆,☆☆</sup>



Taís Lopes Saranholi <sup>ID</sup><sup>a</sup>, Natalie Carlos Ferreira Mello Sampaio <sup>ID</sup><sup>b</sup>,  
Hélio Amante Miot <sup>ID</sup><sup>c</sup>, Stéfani Thais Alves Dantas <sup>ID</sup><sup>d</sup>, Vera Lucia Moraes Rall <sup>ID</sup><sup>d</sup>  
e Luciana Patricia Fernandes Abbade <sup>ID</sup><sup>c,\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Enfermagem, Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil

<sup>b</sup> Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil

<sup>c</sup> Departamento de Infectologia, Dermatologia, Diagnóstico por Imagem e Radioterapia, Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil

<sup>d</sup> Departamento de Ciências Químicas e Biológicas, Setor de Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil

Recebido em 20 de julho de 2024; aceito em 13 de outubro de 2024

## PALAVRAS-CHAVE

Ensaio clínico;  
Infecção dos  
ferimentos;  
Úlcera varicosa

## Resumo

**Fundamentos:** Infecção superficial em úlceras venosas (UV) dificulta a cicatrização.

**Objetivo:** Avaliar a ação do curativo de hidrofibra com prata (HAg) em comparação à pomada de collagenase (Col) em UV.

**Métodos:** Ensaio clínico randomizado controlado no qual pacientes com UV com infecção superficial foram randomizados para o grupo intervenção (HAg) ou comparação (Col). Após 30 dias (T30), os desfechos primários avaliados foram: taxa de úlceras sem sinais de infecção superficial, diminuição da carga bacteriana, presença de bactérias produtoras de biofilme e clonalidade bacteriana.

**Resultados:** Foram incluídos neste estudo 34 pacientes (56 úlceras) – 18 pacientes (28 úlceras) no grupo HAg e 16 (28 úlceras) no grupo Col. Houve redução nas úlceras com infecção superficial em ambos os grupos ao longo do tempo, mas sem diferenças ( $p=0,422$ ). Não houve diminuição na carga bacteriana total ao longo do tempo ( $p=0,054$ ) ou entre os grupos ( $p=0,113$ ). Houve

DOI referente ao artigo:

<https://doi.org/10.1016/j.abd.2025.501162>

<sup>☆</sup> Como citar este artigo: Saranholi TL, Sampaio NCFM, Miot HA, Dantas STA, Rall VLM, Abbade LPF. A randomized clinical trial of silver hydrofiber dressing versus collagenase ointment for venous ulcer: analysis of biofilm-producing bacteria and bacterial clonality. An Bras Dermatol. 2025;100:501162.

<sup>☆☆</sup> Trabalho realizado no Departamento de Infectologia, Dermatologia, Diagnóstico por Imagem e Radioterapia, Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil.

\* Autor para correspondência.

E-mail: [fernandes.abbade@unesp.br](mailto:fernandes.abbade@unesp.br) (L.P. Abbade).

redução na taxa de úlceras com bactérias formadoras de biofilme ao longo do tempo ( $p = 0,047$ ), mas não houve diferenças entre os grupos ( $p = 0,558$ ). Em relação à clonalidade de *Staphylococcus aureus*, em 92,8% das úlceras no grupo HA<sub>g</sub> e 85% no grupo Col, os clones identificados em T0 foram os mesmos em T30 ( $p = 0,553$ ). Não houve alteração na identidade de *Pseudomonas aeruginosa* em nenhuma úlcera em nenhum dos grupos.

**Limitações do estudo:** Curto tempo de seguimento.

**Conclusão:** Ambas as intervenções melhoraram as características clínicas e algumas microbiológicas, mas não houve diferença entre elas. Além disso, a maioria das úlceras apresentou perfis genéticos indistinguíveis de *S. aureus* e *P. aeruginosa* entre T0 e T30, sem diferença entre os grupos.

© 2025 Sociedade Brasileira de Dermatologia. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## Introdução

Úlcera venosa (UV) e outras úlceras crônicas são contaminadas por microrganismos que podem ser provenientes de secreções endógenas, curativos e do meio ambiente. Portanto, é essencial compreender a diferença entre colonização, colonização crítica (infecção superficial) e infecção profunda. A colonização ocorre quando as bactérias se replicam no leito da úlcera, mas não causam danos ao hospedeiro. Entretanto, o ambiente é suscetível a infecções bacterianas que ocorrem quando há aumento na carga microbiana na superfície da úlcera (colonização crítica ou infecção superficial/local). Consequentemente, os níveis de citocinas pró-inflamatórias aumentam e promovem a deterioração do tecido de granulação e exsudato em excesso, dificultando o processo de cicatrização. A infecção profunda ocorre quando as bactérias penetram nos tecidos perilesionados, se replicam e causam danos ao hospedeiro, ultrapassando a capacidade de defesa imunológica, manifestando-se como eritema, edema, aumento da temperatura, dor na região perilesional e febre.<sup>1-3</sup>

Dependendo do ambiente da úlcera, diferentes tipos de biofilmes podem ser produzidos. Sua formação inicia-se quando uma bactéria, em sua forma planctônica, adere à superfície exposta, que pode ser biótica ou abiótica. Em seguida, os microrganismos se conectam entre si e se fixam de maneira irreversível. A partir daí, começam a proliferar, ativando o *quorum sensing*. O biofilme cresce e se diferencia, tornando-se uma comunidade de biofilme maduro e apresentando características estruturais. Em seguida, forma-se uma matriz de água e substâncias poliméricas, como polissacarídeos, proteínas e DNA extracelular. Por fim, o biofilme maduro inicia um processo de dispersão com o desprendimento de células ou microcolônias. A dispersão pode resultar na colonização de novos nichos e, consequentemente, em novos locais de infecção pelo biofilme.<sup>4</sup>

A resistência das bactérias produtoras de biofilme é um problema crucial no manejo e tratamento de úlceras crônicas. No biofilme maduro, as bactérias crescem lentamente em virtude da deficiência de nutrientes, resultando em resistência a antibióticos tópicos e sistêmicos. Além disso, a penetração dessas substâncias na estrutura bacteriana é reduzida ou incompleta, e o biofilme na úlcera se renova rapidamente.<sup>5</sup> Desbridamento agudo e curativos com prata, como o de hidrofibra com prata (HA<sub>g</sub>), são linhas de tra-

tamento descritas para combater o biofilme.<sup>6</sup> Entretanto, nenhum método é totalmente eficaz para biofilmes, e as evidências científicas são escassas para garantir a melhor forma de remoção do leito da úlcera crônica.

Produtos que promovem o desbridamento enzimático, como a collagenase, não são descritos para combater o biofilme. A collagenase é mencionada como enzima derivada da bactéria *Clostridium histolyticum*. Ela é eficaz e seletiva para atuar no colágeno do tecido necrótico sem danificar o tecido de granulação. Assim, seu uso é apontado como possível após o desbridamento agudo.<sup>7</sup> Em virtude do uso frequente da pomada de collagenase (Col) na prática clínica como tratamento de rotina em serviços de saúde, é possível utilizá-la como intervenção comparativa. O estudo do microambiente da UV e a busca por intervenções para combater a infecção superficial e o biofilme são aspectos relevantes a serem considerados na escolha das melhores estratégias terapêuticas para promover a cicatrização.

O objetivo deste estudo foi avaliar a ação do curativo de HA<sub>g</sub> em comparação à Col, tanto após desbridamento agudo, no controle da infecção superficial, interferindo na formação de biofilme por *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, quanto na clonalidade das cepas isoladas no tempo inicial e final, em pacientes com UV que utilizaram essas intervenções por 30 dias. Esse período foi escolhido uma vez que os objetivos primários eram avaliar a infecção superficial local e os resultados microbiológicos, em vez da cicatrização, que necessita de mais tempo de seguimento.

## Materiais e métodos

Ensaio clínico randomizado, controlado e aberto, com desenho de dois grupos paralelos e avaliação cega dos desfechos, foi conduzido com pacientes com UV e sinais clínicos de infecção superficial. O estudo foi registrado no Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos (ReBEC – RBR – 4kkq2h) e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina (FMB) da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Botucatu, sob o número 3.055.504. Além disso, o estudo foi relatado seguindo a declaração CONSORT.<sup>8</sup>

O trabalho foi realizado em pacientes adultos atendidos no Ambulatório de Úlceras Crônicas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp, entre outubro de 2020 e novembro de 2021.

## Participantes do estudo

Os indivíduos que preencheram todos os critérios de inclusão e nenhum dos critérios de exclusão foram elegíveis para o estudo. Os critérios de inclusão foram: 1) idade  $\geq$  18 anos; 2) UV crônica (úlceras ativas há mais de seis semanas) com sinais clínicos de infecção superficial, seguindo a regra dos critérios mnemônicos NERDS<sup>9</sup> se houvesse pelo menos dois dos seguintes: i) N=feridas que não cicatrizam; ii) E=feridas exsudativas; iii) R=tecido de granulação vermelho e com sangramento na superfície da ferida; iv) D=detritos – tecido necrótico amarelo ou preto na superfície da ferida; v) S=cheiro ou odor desagradável da ferida; 3) concordância com os procedimentos propostos no estudo; 4) assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (paciente ou responsável). Os critérios de exclusão foram: 1) úlceras de outras etiologias (doença arterial periférica, causas hematológicas, neoplásicas, infecciosas etc.); 2) úlceras com infecções de tecidos profundos associadas a erisipela, celulite ou linfangite em virtude da necessidade de antibioticoterapia sistêmica; 3) história de hipersensibilidade aos tratamentos propostos; 4) UV associada à doença arterial periférica, classificada quando Índice Tornozelo-Braquial (ITB)  $< 0,8$  e ausência de pulsos distais, principalmente tibiais.

## Randomização e intervenções

O protocolo de randomização foi implementado utilizando o *software* Rv 3.1.2, realizado por paciente, não por ferida. Para garantir a ocultação da alocação, a lista de randomização foi mantida por um indivíduo não relacionado na seleção clínica dos participantes. Portanto, a randomização foi realizada no tempo basal (T0), e o participante podia ser alocado no grupo colagenase (grupo Col) ou no curativo de hidrofibra com prata (grupo HAG).

Após o recrutamento, a área de todas as úlceras foi medida no início do estudo para todos os participantes. Em seguida, a úlcera foi limpa com solução salina a 0,9%. A seguir, foi realizada a coleta de material com *swab* para análise microbiológica e desbridamento agudo do leito da ferida. Esse último procedimento foi realizado com anestesia tópica local (creme de lidocaína a 4%) e mantido sob curativo oclusivo por 30 minutos. Em seguida, o desbridamento foi realizado com cureta em todo o leito ulcerado.

Após o desbridamento superficial, os participantes foram randomizados em dois grupos. O primeiro grupo foi composto por participantes tratados com curativo de HAG (AQUACEL® Ag + Extra™) em formato de compressa, sendo necessárias trocas ao atingir a saturação (aproximadamente quatro dias). No segundo grupo, os participantes foram tratados com Col, que não foi associada aos antibióticos (Kollagenase®). A apresentação da colagenase foi em pomada, e a quantidade aplicada variou de acordo com o tamanho da ferida. Ainda assim, deveria ser suficiente para cobrir todos os leitos das feridas com uma camada mínima de 2 mm, posteriormente coberta com gaze, necessitando ser trocada uma vez ao dia.

Em ambos os grupos, a faixa elástica compressiva (Surepress®) foi associada ao tratamento, devendo ser aplicada uma vez ao dia (pela manhã e removida ao final do dia).

A faixa elástica compressiva é um sistema de compressão constituído por uma única camada, com pressão em torno de 25 a 35 mmHg no tornozelo. Além disso, todos os participantes e cuidadores receberam instruções para cuidar da ferida em casa durante o período do estudo.

## Desfechos

Os desfechos avaliados após 30 dias (T30) foram os seguintes.

Primários: (i) taxa de feridas sem sinais de infecção superficial, seguindo os critérios clínicos da regra mnemônica NERDS;<sup>9</sup> (ii) análise microbiológica – taxa de úlceras com redução da carga bacteriana; taxa de úlceras com bactérias formadoras de biofilme; taxa de úlceras com alterações de identidade bacteriana (clonalidade).

Secundários: (i) melhora clínica da UV avaliada pela escala PUSH (*Pressure Ulcer Scale for Healing*)<sup>10</sup> – o escore total pode variar de 0 a 17; escores mais altos representam as piores condições para a úlcera; (ii) redução da área da úlcera pelo método planimétrico; (iii) taxa de cicatrização avaliada clinicamente pela observação da epitelização total sem a presença de crostas no local da UV; (iv) eventos locais adversos relacionados às intervenções.

Todos os desfechos foram avaliados por um clínico independente, cego à alocação do tratamento.

## Análise microbiológica

As úlceras foram irrigadas com solução salina a 0,9% sob pressão mecânica para a coleta das amostras. Um molde de gaze estéril com abertura central de 1 cm<sup>2</sup> foi colocado sobre o leito da ferida com o aparecimento dos tecidos mais inviáveis. O *swab* foi umedecido com solução salina estéril (0,9%) e friccionado ao longo da área exposta. Posteriormente, o *swab* foi acondicionado em um tubo com 3 mL de solução salina estéril a 0,9%, que foi refrigerado e imediatamente transferido para análise microbiológica.

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Biociências de Botucatu (Universidade Estadual Paulista – Unesp). Neste estudo, as bactérias formadoras de biofilme mais prevalentes na UV mencionadas na literatura – *S. aureus* e *P. aeruginosa* – foram selecionadas para análise. *Staphylococcus epidermidis* também foi avaliada por ser bactéria formadora de biofilme.<sup>11</sup> As demais bactérias presentes nas culturas foram apenas descritas quanto à presença e à carga bacteriana. Ainda assim, não foram avaliadas quanto à capacidade de formação de biofilme e à identidade bacteriana entre T0 e T30. Para calcular o número de unidades formadoras de colônias por centímetro quadrado (UFC/cm<sup>2</sup>), o número de colônias confirmadas foi multiplicado por 10 (100  $\mu$ L de inóculo) e, então, por três (total de 3 mL no tubo de *swab*).

## Produção de biofilme em microplaca de poliestireno

Para cada cultura de *S. aureus*, *S. epidermidis* e *P. aeruginosa*, o crescimento em BHI a 35 °C/24 horas foi diluído para aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC (escala MacFarland 0,5), com

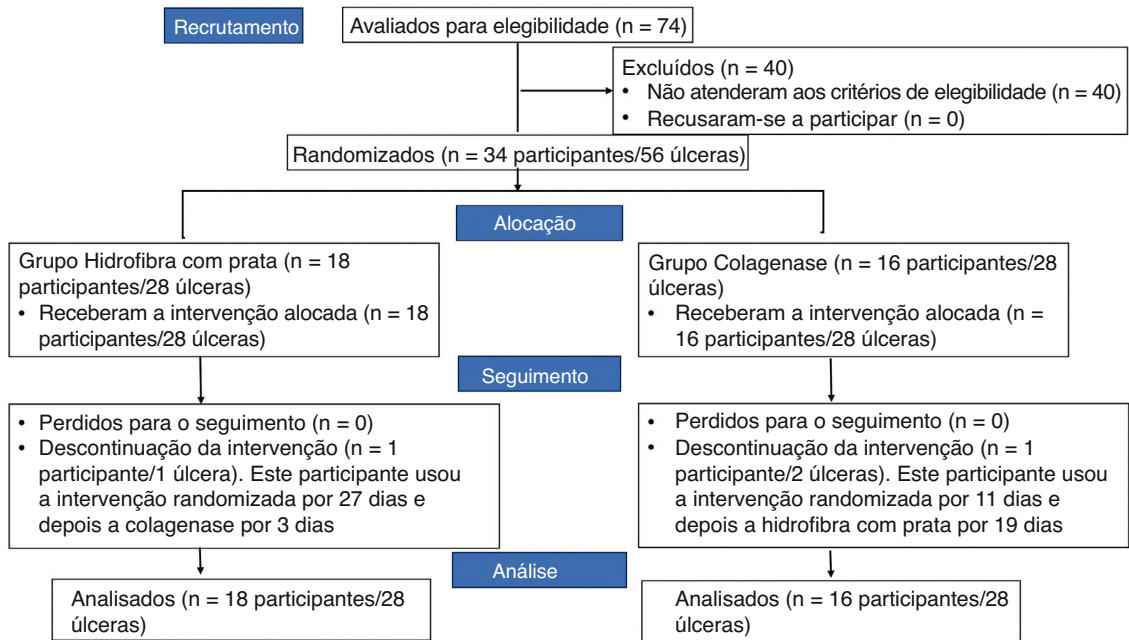


Figura 1 Fluxograma do estudo segundo CONSORT.

o auxílio do Densicheck (Biomérieux For), utilizando o BHI suplementado com 0,5% de glicose. A densidade óptica (DO) foi medida usando leitor de ELISA (Babsystems, MultiScan EX) a 570 nm. O BHBI não inoculado foi usado como controle negativo das reações. O controle positivo de *P. aeruginosa* foi o ATCC 9027, e o de *Staphylococcus* foi *S. epidermidis* ATVV 35983. A partir da média das quatro repetições (DO) e de acordo com a relação entre a DO (amostra teste) e a DO (controle negativo), as cepas foram classificadas nas seguintes categorias: não produtoras de biofilme, produtoras fracas, moderadas ou fortes de biofilme, como mencionado por Stanovic et al.<sup>12</sup>

Identificação da tipagem bacteriana por gel de eletroforese de campo pulsado (PFGE)

A tipagem molecular utilizando a técnica de PFGE foi realizada para as bactérias *S. aureus* e *P. aeruginosa* quando as mesmas espécies foram encontradas em uma úlcera em T0 e T30. Para as cepas de *S. aureus*, a metodologia utilizada foi a descrita para o PulseNet.<sup>13</sup> Para as cepas de *P. aeruginosa*, foi empregada a metodologia de Gram-negativas de Selim et al.<sup>14</sup>

### Tamanho da amostra e análise estatística

Para o tamanho da amostra, assumiu-se que 20% das UV permaneceriam com infecção superficial no grupo HA<sub>g</sub> e 60% no grupo Col. A diferença entre os grupos foi baseada em estudos anteriores que encontraram quase 80% da infecção superficial controlada com curativos HA<sub>g</sub>.<sup>15,16</sup> No grupo Col, assumiu-se apenas 40% de controle da infecção, visto que sua ação é o desbridamento enzimático.<sup>7</sup> Considerando 80% de poder estatístico e nível de significância bicaudal de 95%, foram necessárias 27 UV para cada grupo de intervenção.

A análise estatística foi por intenção de tratar, realizada respeitando-se as premissas determinadas pelos resultados, características e comportamento das variáveis. As variáveis

binomiais foram comparadas pelos testes Qui-Quadrado (c<sup>2</sup>) e Exato de Fisher. O teste *t* de Student ou teste U de Mann-Whitney foi usado na comparação das variáveis numéricas, e a normalidade foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. O seguimento longitudinal das áreas de úlcera, o escore PUSH, foi alcançado entre os grupos por meio de modelo linear misto generalizado com distribuição de probabilidade adequada para cada variável. A magnitude do efeito sobre os dados nominais foi avaliada pelo risco relativo (RR) e seu intervalo de confiança de 95% (IC 95%).<sup>17</sup> Os dados foram analisados utilizando o *software* SPSS 22.0, e o valor de *p* < 0,05 foi considerado significativo.

### Resultados

Durante o período do estudo, 74 participantes foram avaliados para determinar se atendiam aos critérios de elegibilidade (fig. 1). Entre eles, 40 foram excluídos por não atenderem a esses critérios. Assim, 34 participantes com 56 úlceras venosas foram elegíveis e randomizados para o estudo. Dezoito participantes com 28 UV foram randomizados para o grupo HA<sub>g</sub> e 16 participantes com 28 UV para o grupo Col. Após 30 dias de seguimento, um participante do grupo HA<sub>g</sub> com uma úlcera e um do grupo Col descontinuaram as intervenções.

A tabela 1 apresenta os dados demográficos e clínicos dos participantes no tempo basal (T0), distribuídos por grupo de estudo. Observa-se que os grupos de estudo são homogêneos e não apresentam diferenças estatísticas entre as variáveis.

### Desfechos primários

Taxa de úlcera sem sinais clínicos de infecção superficial em T30



**Tabela 1** Distribuição dos 34 participantes (56 úlceras) por grupo de estudo de acordo com dados demográficos e clínicos no Tempo basal (T0)

Variáveis relacionadas aos pacientes	Grupo		Total, n = 34 (%)	p-valor
	Col, n = 16 (%)	HAg, n = 18 (%)		
Média de idade (em anos) ( $\pm$ DP)	70,7 ( $\pm$ 9,2)	68,6 ( $\pm$ 8,9)	69,6 ( $\pm$ 9,0)	0,94
Sexo feminino	11 (68,8)	13 (72,2)	24 (70,6)	0,83
Sexo masculino	5 (31,3)	5 (27,8)	10 (29,4)	0,83
HAS	11 (68,8)	14 (77,8)	25 (73,5)	0,58
DM	5 (31,3)	6 (33,3)	11 (32,3)	0,90
Histórico de procedimentos cirúrgicos vasculares	6 (37,5)	4 (22,2)	10 (24,49)	0,36
Mobilidade reduzida do tornozelo	9 (56,2)	10 (55,5)	19 (55,8)	0,97
História da TVP	5 (31,3)	3 (16,7)	8 (23,5)	0,35
ITB – mediana (máx.–mín)	1,07 (0,80–1,50)	1,05 (0,93–1,21)	1,06 (0,80–1,50)	0,25
Variáveis relacionadas às feridas mediana (mín.–máx.)	n = 28 úlceras	n = 28 úlceras	Total (n = 56 úlceras)	p-valor
Tempo das úlceras (meses)	24,0 (1,0–168,0)	42,0 (2,0–600,0)	30 (1,0–600,0)	0,25
Área das úlceras (cm <sup>2</sup> )	10,3 (1,0–96,9)	14,3 (1,0–123,3)	11,2 (1,0–123,3)	0,74

HAS, hipertensão arterial sistêmica; DM, diabetes *mellitus*; TVP, trombose venosa profunda; ITB, índice tornozelo-braquial.

Houve redução de úlceras com critérios de infecção superficial em ambos os grupos ao longo do tempo. Em 29/56 úlceras (51,8%; IC 95% 39,0%–64,3%), não havia sinais de infecção superficial em T30, dos quais 13/28 do grupo HAg (46,4%; IC 95% 28,6%–65,4%) e 16/28 do grupo Col (67,1%; IC 95% 40,0%–73,4%), não havendo diferença estatística entre os grupos ( $p=0,422$ ). O RR para infecção não superficial ao final de 30 dias entre o grupo HAg em comparação ao grupo Col foi de 0,81 (IC 95% 0,39–1,68).

### Taxa de úlceras com redução da carga bacteriana

Foi possível identificar que não houve redução da carga bacteriana ao longo do tempo ( $p=0,054$ ), ou entre os grupos ( $p=0,113$ ; [fig. 2](#)).

Em T0, 37/56 das úlceras apresentaram crescimento de *S. aureus* (66,1%; IC 95% 53%–77,1%); no grupo HAg, ocorreu em 16/28 (57,1%; IC 95% 39,1–73,5%) e no grupo Col em 21/28 úlceras (75%; IC 95% 56,6%–87,3%). Em T30, 46/56 apresentaram crescimento de *S. aureus* (82,1%; IC 95% 70,1%–90%); no grupo HAg ocorreu em 20/28 úlceras (71,4%; IC 95% 52,4%–84,75%) e no grupo Col em 26/28 úlceras (92,8%; IC 95% 77,5%–98,0%). Não houve diferença com significância estatística ao longo do tempo ( $p=0,345$ ) e de acordo com os grupos de intervenção ( $p=0,336$ ).

Quanto a *P. aeruginosa*, em T0, houve crescimento em 16/56 úlceras (28,5%; IC 95% 18,4%–41,5%); no grupo HAg, ocorreu em 11/28 (39,3%; IC 95% 23,6%–57,6%) e no grupo Col ocorreu em 5/28 (17,8%; IC 95% 7,9%–35,6%). Em T30, 13/56 úlceras apresentaram crescimento de *P. aeruginosa* (23,2%; IC 95% 14,1%–35,8%); no grupo HAg ocorreu em 7/28 úlceras (25%; IC 95% 12,7%–43,3%) e no grupo Col em 6/28 úlceras (21,4%; IC 95% 10,2%–39,5%). *Staphylococcus epidermidis* ocorreu em apenas três úlceras em T0.

Taxa de úlceras com bactérias formadoras de biofilme

Houve redução na taxa de úlceras com bactérias formadoras de biofilme de T0 a T30 ( $p=0,047$ ), mas não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em T30 ( $p=0,558$ ).

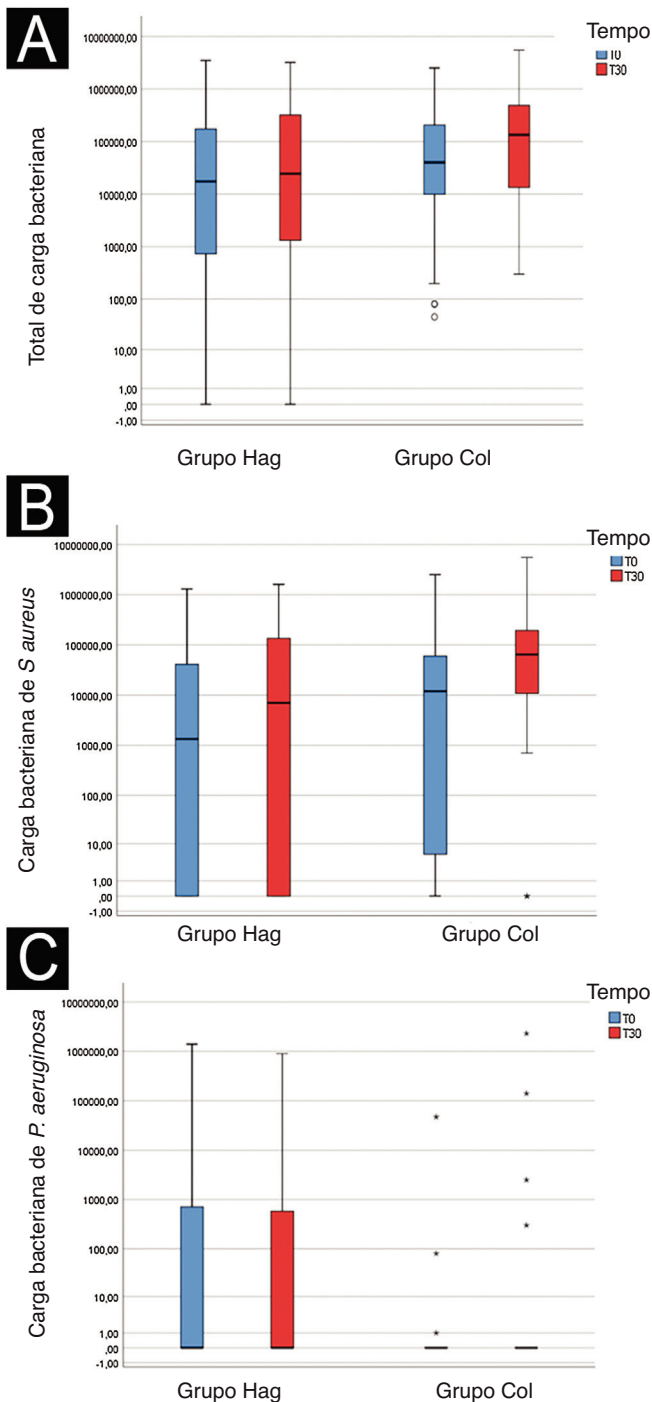
Em T30, no grupo HAg, 13/28 (46,4%; IC 95% 28%–63%) não apresentavam bactérias formadoras de biofilme; no grupo Col, também 13/28 (46,4%; IC 95% 28%–63%). Assim, o RR de úlceras com bactérias que não formam biofilme foi de 1,0 (IC 95% 0,46–2,16;  $p=1,000$ ). Os resultados da produção de biofilme por cepa bacteriana são apresentados na [figura 3](#).

Taxa de úlceras com alteração na identidade bacteriana.

A tipagem molecular utilizando a técnica de PFGE foi realizada para as bactérias (*S. aureus* e *P. aeruginosa*) da mesma espécie em uma úlcera específica em T0 e T30. Entretanto, a tipagem não foi realizada para *S. epidermidis*, uma vez que não houve crescimento dessa bactéria em T0 e T30 na mesma úlcera.

A [figura 4](#) mostra os resultados do dendrograma de similaridade genética de *S. aureus* de úlceras que apresentaram crescimento dessa bactéria em T0 e T30. Foi possível identificar a existência de 17 clones totais de bactérias em 22 participantes em diferentes momentos e grupos deste estudo. Nesse sentido, houve similaridade significativa, acima de 80%, na maioria das úlceras, de modo que clones idênticos foram identificados em T0 e em T30. Os clones de *S. aureus* identificados em T0 foram os mesmos identificados em T30 em 13/14 úlceras (92,8%; IC 95% 68,5%–98,7%) no grupo HAg e em 17/20 úlceras (85%; IC 95% 64,0%–94,8%) no grupo Col. O RR para ter *S. aureus* com alteração na identidade é de 0,58 (IC 95% 0,10–3,31;  $p=0,553$ ); portanto, não há diferença com significância estatística entre os grupos.

As análises de PFGE em cepas de *P. aeruginosa* são observadas no dendrograma da [figura 5](#). Esse dendrograma foi criado utilizando partição final de oito agrupamentos com nível de similaridade superior a 80%. Todas as feridas do dendrograma identificaram alta similaridade dos clones em T0 e em T30. Foi possível identificar oito clones em sete participantes com 11 úlceras. Dessas 11 úlceras, 9/28 eram do grupo HAg (32,1%) e 2/28 (7,14%) do grupo Col. Não houve alteração na identidade de *P. aeruginosa* em nenhuma úlcera em ambos os grupos.



**Figura 2** Log da carga bacteriana (UFC/cm<sup>2</sup>) do total de espécies avaliadas (A), *S. aureus* (B) e *P. aeruginosa* (C), no início do estudo (T0) e após 30 dias (T30), nas úlceras do grupo hidrofibra com prata (HAg) e colagenase (Col). A carga bacteriana ao longo do tempo (média antes vs. média depois) apresentou significância marginal ( $p=0,054$ ); entretanto, não diferiu entre os grupos ( $p=0,113$ ).

## Desfechos secundários

### Melhora clínica da UV

No grupo HAg, o valor médio de PUSH em T0 foi de 13,5 ( $\pm 2,5$ ) e em T30 foi de 12,7 ( $\pm 3,3$ ). No grupo Col, o valor médio em T0 foi de 13,5 ( $\pm 2,5$ ) e em T30 foi de 12,4 ( $\pm 2,9$ ). Ambos os grupos apresentaram melhora no escore ao longo do tempo ( $p=0,001$ ); entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p=0,0668$ ). A redução média do escore percentual de PUSH no grupo HAg foi de -6,8 (IC 95% -1,3 a -13,0); no grupo Col, foi de -7,6 (IC 95% -1,10 a -14,1), confirmando que não houve diferença entre os grupos.

### Redução da área da úlcera e cicatrização total

A redução média da área da úlcera foi de 0,78 cm<sup>2</sup> (IC 95% -0,20 a -1,36) no grupo HAg e de 1,1 cm<sup>2</sup> (IC 95% -0,20 a -2,00) no grupo Col. Houve redução da área em ambos os grupos ao longo do tempo ( $p=0,001$ ), mas não houve diferença na significância estatística entre os grupos ( $p=0,786$ ). Não houve úlceras com cicatrização total em ambos os grupos analisados.

## Eventos adversos

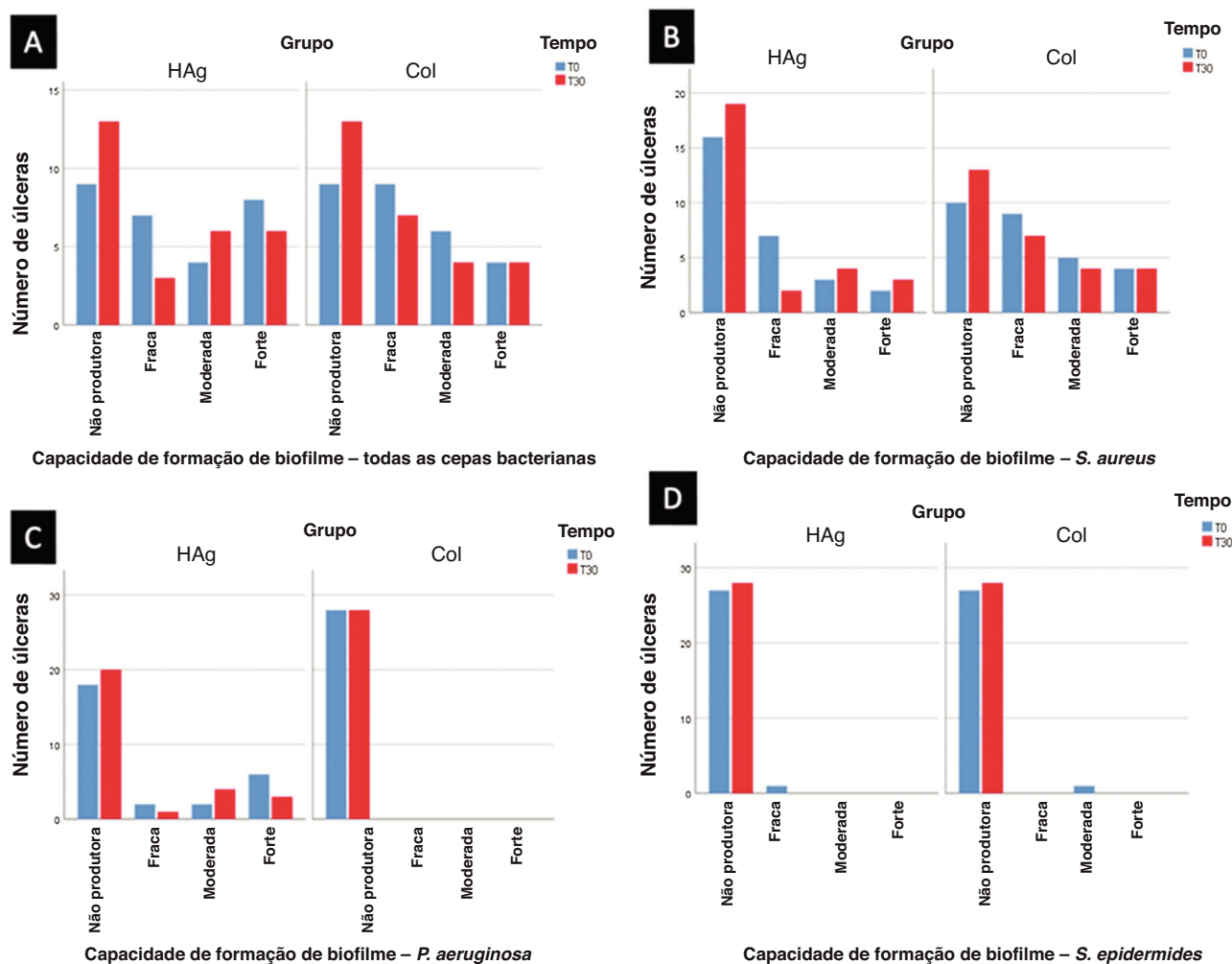
Não houve eventos adversos relacionados a ambas as intervenções. Um paciente com quatro úlceras no grupo Col apresentou miíase secundária, mas esse evento não estava relacionado à intervenção.

## Discussão

Avaliar intervenções que atuam na carga bacteriana e nos biofilmes das UV é crucial, pois há alta prevalência de biofilmes em feridas crônicas, de 62% a 89%.<sup>18</sup> Este ensaio clínico randomizado foi especificamente criado para avaliar, em curto período, a eficácia do curativo de HAg em desfechos clínicos, como infecção local, e microbiológicos, como redução da carga bacteriana e inibição de bactérias produtoras de biofilme. Foi avaliado se os curativos poderiam eliminar as bactérias que colonizavam inicialmente a úlcera, utilizando a avaliação da clonalidade bacteriana, comparando os desfechos basais com o tempo final de seguimento.

Os principais resultados mostram que ambas as intervenções, curativo de HAg e Col, promoveram a redução de úlceras com critérios de infecção superficial, diminuição da taxa de úlceras com bactérias formadoras de biofilme ao longo do tempo, mas sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Por outro lado, não houve redução na carga bacteriana total ao longo do tempo, mas houve significância marginal ( $p=0,054$ ). Portanto, a falta de detecção de diferença pode ter sido decorrente da pequena amostra (sem poder estatístico). Entretanto, não houve sugestão de diferença entre os grupos.

A maioria das úlceras apresentou perfis de PFGE indistinguíveis entre T0 e T30, mostrando falta de ação para



**Figura 3** Classificação das cepas bacterianas formadoras de biofilme. (A) Classificação de todas as cepas bacterianas avaliadas em conjunto (*S. aureus*, *P. aeruginosa* e *S. epidermidis*). (B) Capacidade do *S. aureus* de formar biofilme. (C) Capacidade da bactéria *P. aeruginosa* de formar biofilme. (D) Capacidade da bactéria *S. epidermidis* de formar biofilme. Houve redução na taxa de úlceras com bactérias formadoras de biofilme de T0 a T30 ( $p=0,047$ ), mas não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em T30 ( $p=0,558$ ).

eliminar as bactérias que estavam inicialmente colonizando a úlcera. A hipótese inicial presumia que o curativo de HAg seria superior à Col, visto que há mais evidências de sua ação contra infecções superficiais e biofilmes em virtude de suas propriedades antimicrobianas.<sup>15,16</sup> Curativos contendo prata são conhecidos por reduzir a carga bacteriana e atuar como barreira antimicrobiana para evitar maior contaminação da ferida por microrganismos externos. Esses curativos apresentam menor risco de resistência bacteriana quando há dose adequada de prata.<sup>15</sup> Além disso, a prata atua contra bactérias Gram-negativas, bactérias Gram-positivas, fungos e vírus,<sup>19</sup> embora tenha havido relatos recentes de resistência bacteriana à prata.<sup>20</sup>

Os ensaios clínicos com curativos com prata geralmente avaliam os desfechos de cicatrização. Entretanto, os resultados relacionados ao controle local da infecção e aos efeitos microbiológicos ainda precisam ser avaliados, o que dificulta a comparação dos achados do presente estudo.

Uma revisão sistemática Cochrane com metanálises de 2010 concluiu que não havia evidências que confirmassem

se produtos com prata podem promover a cicatrização de feridas.<sup>21</sup> Entretanto, outras revisões sistemáticas dos últimos anos encontraram resultados diferentes. Uma revisão sistemática Cochrane de 2018 sobre curativos e agentes tópicos para o tratamento de UV encontrou evidências de que os curativos com prata podem aumentar a probabilidade de cicatrização da UV em comparação com curativos não aderentes (RR = 2,43; IC 95% 1,58–3,74), com evidência de certeza moderada.<sup>22</sup> A revisão sistemática realizada em 2020 sobre curativos com prata, especificamente para UV, incluiu oito ensaios clínicos randomizados, totalizando 1.057 pacientes, 526 participantes com curativos com prata e 531 controles. Os desfechos avaliados foram clínicos, como redução da área da ferida e cicatrização. Houve evidências de que curativos com prata podem aumentar a taxa de cicatrização da UV e melhorar sua recuperação em curto período. Entretanto, em comparação com outros curativos, ensaios clínicos com longo tempo de seguimento são necessários para confirmar se os curativos com prata são superiores para a cicatrização completa da ferida.<sup>23</sup>

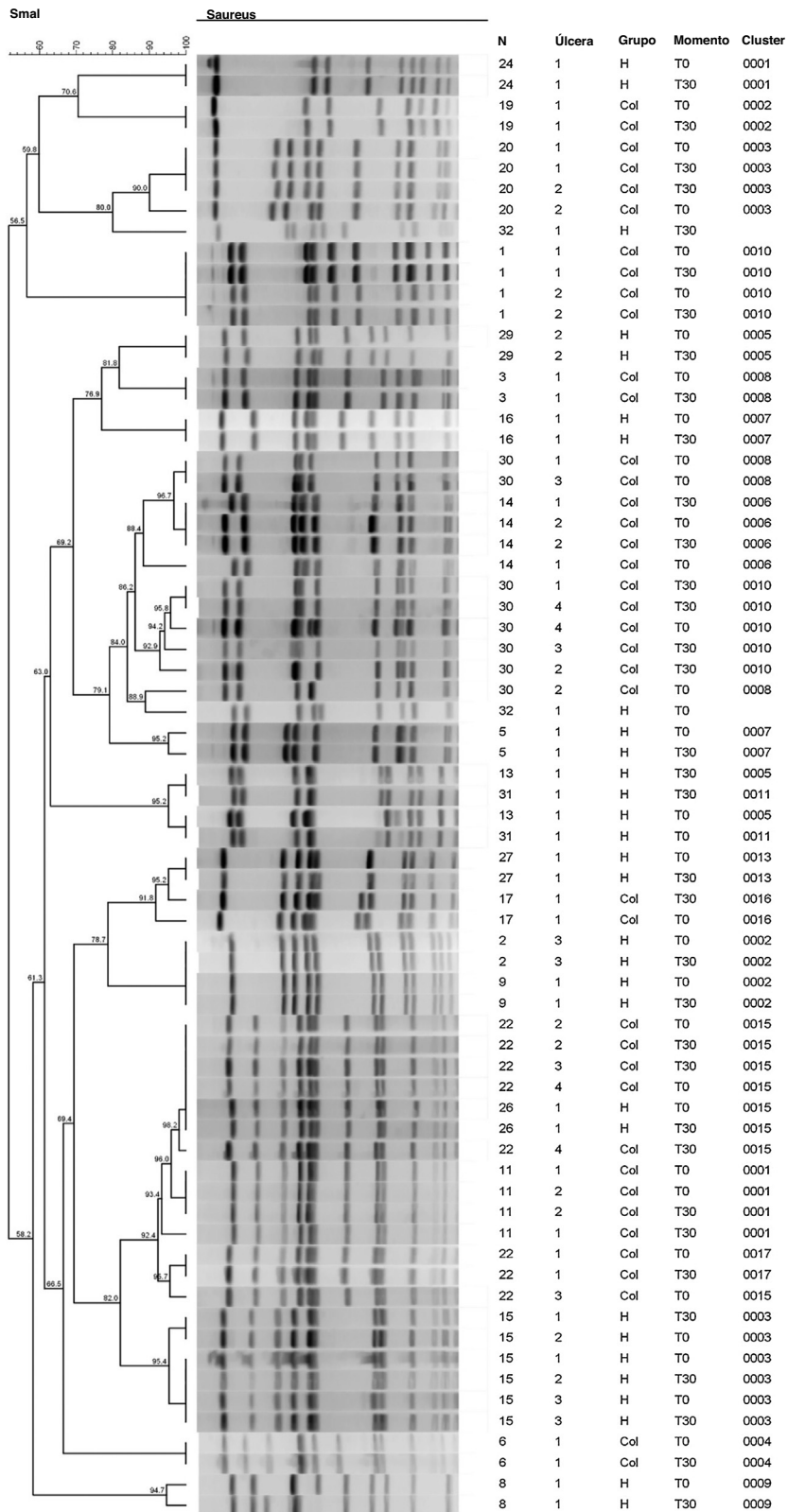
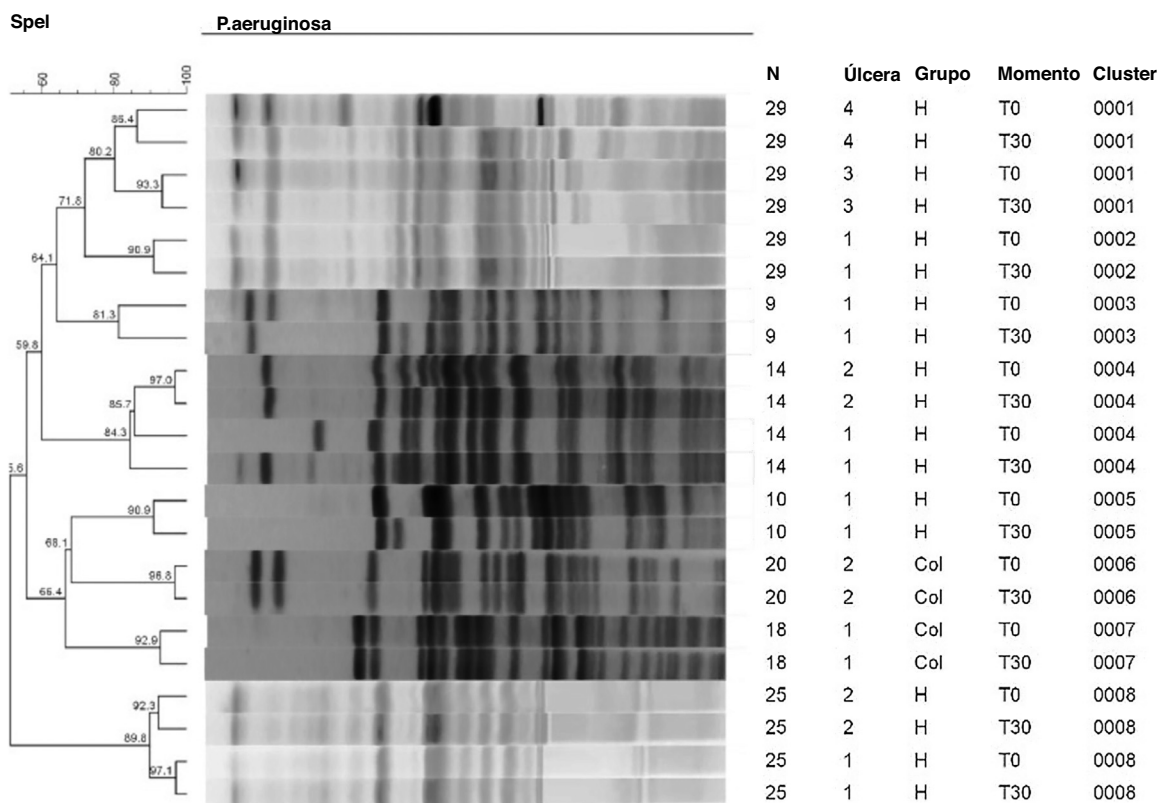


Figura 4 Dendrograma de similaridade genética de úlceras com *S. aureus*. O RR para ter *S. aureus* com alteração de identidade é 0,58 (IC 95% 0,10–3,31;  $p=0,553$ ).





**Figura 5** Dendrograma de similaridade genética de úlceras com *P. aeruginosa*. Não houve alteração na identidade de *P. aeruginosa* em nenhuma úlcera em ambos os grupos.

No presente estudo, ambos os grupos foram submetidos a desbridamento por curetagem cirúrgica superficial antes da randomização, o que pode explicar os resultados semelhantes entre os dois grupos. O desbridamento representa estratégia de tratamento contra biofilmes. Entretanto, ele não pode ser erradicado, pois sua formação ocorre algumas horas após o procedimento. Portanto, seu uso isolado não é recomendado. Ainda assim, é uma estratégia que corrobora a melhor eficácia das terapias tópicas contra biofilme realizadas após o desbridamento, pois abre uma janela de oportunidade.<sup>24</sup>

O biofilme e a carga bacteriana das úlceras promovem atraso na cicatrização e podem causar o desenvolvimento de infecções.<sup>25</sup> Portanto, o conhecimento dos microrganismos mais frequentes em úlceras crônicas mostra o caminho para a criação de estratégias de tratamento de feridas. A correlação clínico-laboratorial em relação à flora bacteriana de úlceras crônicas é um desafio. A amostra microbiológica pode ser analisada de maneira qualitativa e quantitativa. Neste estudo, o swab foi realizado em área predeterminada, possibilitando as análises quantitativas e a identificação das espécies bacterianas. A técnica de swab é menos invasiva e pode ser usada para análises qualitativas, semiquantitativas ou quantitativas e é empregada principalmente em ambientes ambulatoriais.<sup>26</sup>

A técnica de swab é menos invasiva e pode ser usada para análises qualitativas, semiquantitativas ou quantitativas. É predominantemente empregada em ambientes ambulatoriais.

As bactérias mais frequentes em úlceras crônicas são *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Ao mesmo tempo, a prevalência de outros tipos varia nos diferentes estudos.<sup>27</sup> A úlcera pode evoluir para infecção de tecidos moles mais profundos quando as bactérias atingem o nível crítico de 105 unidades formadoras de colônias por grama de tecido. Quando o número de bactérias ultrapassa esse limite, a probabilidade de infecção aumenta, pois o sistema imunológico do hospedeiro não consegue mais controlar a proliferação bacteriana.<sup>28</sup> O estudo que analisou as características microbiológicas de 754 UV, utilizando o swab em uma área de 1 cm<sup>2</sup>, em uma amostra de 636 (84,3%) pacientes, apresentou úlceras com cultura positiva.<sup>29</sup> Dentre os patógenos identificados no estudo, *P. aeruginosa* foi detectada em 28,6% das culturas. No presente estudo, cerca de 66% das úlceras foram colonizadas por *S. aureus* e 28,5% por *P. aeruginosa*.

A tipagem molecular, pela técnica de PFGE realizada neste estudo, demonstrou alta similaridade dos clones em T0 e T30 nas cepas de *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Apenas uma úlcera no grupo do curativo de HAq e três do grupo da Col apresentaram perfis genéticos diferentes de *S. aureus*. Os perfis de *P. aeruginosa* por PFGE foram indistinguíveis em quaisquer úlceras de ambos os grupos. Portanto, os resultados do presente estudo mostram que os curativos não são eficazes em alterar a clonalidade bacteriana. Outro estudo avaliou a colonização em feridas por *P. aeruginosa* por PFGE; identificou a bactéria em 48 culturas isoladas de úlceras crônicas que foram submetidas a diferentes tipos de cura-

tivos, incluindo prata, demonstrando multirresistência em três delas. *Pseudomonas aeruginosa* estava presente em 75% das amostras de feridas crônicas. Na maioria das úlceras, as cepas apresentaram as mesmas características genéticas em ambos os momentos analisados, indicando que os leitos das feridas permaneceram colonizados e que os clones persistiram por mais de um mês de tratamento, resultado semelhante ao encontrado no presente estudo. A maioria das bactérias apresentou genes de virulência associados ao alto potencial de estabelecer infecção.<sup>30</sup>

O presente estudo apresenta algumas limitações. Primeiro, o tempo de seguimento de 30 dias é considerado insuficiente para avaliar a evolução do processo de cicatrização de úlceras crônicas. No entanto, os desfechos primários estavam associados à avaliação da infecção superficial local e aos desfechos microbiológicos, que puderam ser alcançados no período proposto. Outra limitação é o procedimento de coleta de material para as análises microbiológicas, visto que o padrão-ouro é a biópsia tecidual em virtude da capacidade de avaliar bactérias mais profundas. Entretanto, a biópsia tem a desvantagem de ser mais invasiva, dolorosa e cara do que a técnica de *swab*.<sup>11</sup> Além disso, o *swab* foi coletado em uma pequena área do leito da ferida. A distribuição de bactérias e biofilmes em feridas crônicas pode não ser uniforme. Portanto, uma única amostra de biópsia ou *swab* em pequena área pode influenciar os resultados, pois outras regiões da mesma lesão podem apresentar resultados diferentes. Entretanto, o *swab* foi realizado no leito da ferida com traços de tecido inviável, aumentando as chances de representar o local com maior carga bacteriana e biofilme.

Os resultados deste estudo permitem discutir a eficácia de intervenções denominadas como estratégias para o tratamento de úlceras com infecção superficial e biofilme, com avaliação clínica e microbiológica de desfechos essenciais relacionados às infecções de feridas.

## Conclusão

Ambas as intervenções melhoraram as características clínicas e algumas microbiológicas ao longo do tempo, mas não houve diferença entre elas após 30 dias de seguimento. Além disso, a maioria das úlceras apresentou perfis genéticos indistinguíveis de *S. aureus* e *P. aeruginosa* entre T0 e T30, sem diferença entre os grupos.

## Editor

Ana Maria Roselino

## Disponibilidade de dados de pesquisa

Todo o conjunto de dados que dá suporte aos resultados deste estudo foi publicado no próprio artigo.

## Suporte financeiro

Este estudo recebeu suporte financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Brasil. A agência financiadora não teve qualquer papel no desenho

do estudo, na coleta, análise e interpretação dos dados, na redação do manuscrito e na decisão de submeter o artigo para publicação.

## Contribuição dos autores

Taís Lopes Saranholi: Concepção e planejamento do estudo; obtenção, análise e interpretação dos dados; elaboração e redação do manuscrito; revisão crítica da literatura; revisão crítica do manuscrito; aprovação da versão final do manuscrito.

Natalie Carlos Ferreira Mello Sampaio: Obtenção, análise e interpretação dos dados; elaboração e redação do manuscrito; revisão crítica da literatura; revisão crítica do manuscrito; aprovação da versão final do manuscrito.

Hélio Amante Miot: Análise e interpretação dos dados; Análise estatística; elaboração e redação do manuscrito; revisão crítica do manuscrito; aprovação da versão final do manuscrito.

Stéfani Thais Alves Dantas: Obtenção, análise e interpretação dos dados; elaboração e redação do manuscrito; revisão crítica da literatura; revisão crítica do manuscrito; aprovação da versão final do manuscrito.

Vera Lucia Moraes Rall: Obtenção, análise e interpretação dos dados; elaboração e redação do manuscrito; revisão crítica da literatura; revisão crítica do manuscrito; aprovação da versão final do manuscrito.

Luciana Patricia Fernandes Abbade: Concepção e planejamento do estudo; obtenção, análise e interpretação dos dados; elaboração e redação do manuscrito; revisão crítica da literatura; revisão crítica do manuscrito; aprovação da versão final do manuscrito.

## Conflito de interesses

Nenhum.

## Referências

1. Percival SL, Hill KE, Williams DW, Hooper SJ, Thomas DW, Costerton JW. A review of the scientific evidence for biofilms in wounds. *Wound Repair Regen*. 2012;20:647–57.
2. Percival SL, Emanuel C, Cutting KF, Williams DW. Microbiology of the skin and the role of biofilms in infection. *Int Wound J*. 2012;9:14–32.
3. Negut I, Grumezescu V, Grumezescu AM. Treatment strategies for infected wounds. *Molecules*. 2018;23:2392.
4. Goswami AG, Basu S, Banerjee T, Shukla VK. Biofilm and wound healing: from bench to bedside. *Eur J Med Res*. 2023;28:157.
5. Wolcott RD, Rumbaugh KP, James G, Schultz G, Phillips P, Yang Q, et al. Biofilm maturity studies indicate sharp debridement opens a time- dependent therapeutic window. *J Wound Care*. 2010;19:320–8.
6. Snyder RJ, Bohn G, Hanft J, Harkless L, Kim P, Lavery L, et al. Wound biofilm: current perspectives and strategies on biofilm disruption and treatments. *Wounds*. 2017;29:S1–17.
7. McCallon SK, Weir D, Lantis JC2nd. Optimizing wound bed preparation with collagenase enzymatic debridement. *J Am Coll Clin Wound Spec*. 2015;6:14–23.
8. Schulz KF, Altman DG, Moher D. CONSORT Group. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *Ann Intern Med*. 2010;152:726–32.

9. Sibbald RG, Woo K, Ayello EA. Increased bacterial burden and infection: the story of NERDS and STONES. *Adv Skin Wound Care*. 2006;19:447–61, quiz 461-463.
10. de Gouveia Santos VL, Sellmer D, Massulo MME. Inter rater reliability of Pressure Ulcer Scale for Healing (PUSH) in patients with chronic leg ulcers. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2007;15:391–6.
11. Alves PJ, Barreto RT, Barrois BM, Gryson LG, Meaume S, Monstrey SJ. Update on the role of antiseptics in the management of chronic wounds with critical colonisation and/or biofilm. *Int Wound J*. 2021;18:342–58.
12. Stepanović S, Ćirković I, Mijač V, Švabić-Vlahović M. Influence of the incubation temperature, atmosphere and dynamic conditions on biofilm formation by *Salmonella* spp. *Food Microbiol*. 2003;20:339–43.
13. Centers for Disease Control and Prevention - CDC [Internet]. Oxacillin Resistant Aureus on PulseNet (OPN): Laboratory Protocol for Molecular typing of *S. Aureus* by Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE). Atlanta: CDC. c2022 [Acesso em 22 jul. 2022]. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/staphylococcus-aureus/media/pdfs/MRAS-PFGE-P.pdf>>.
14. Selim S, El Kholy I, Hagagy N, El Alfay S, Aziz MA. Rapid identification of *Pseudomonas aeruginosa* by pulsed-field gel electrophoresis. *Biotechnol Biotechnol Equip*. 2015;29:152–6.
15. Forlee M, Rossington A, Searle R. A prospective, open, multi-centre study to evaluate a new gelling fibre dressing containing silver in the management of venous leg ulcers. *Int Wound J*. 2014;11:438–45.
16. Coutts P, Sibbald RG. The effect of a silver-containing Hydrofiber dressing on superficial wound bed and bacterial balance of chronic wounds. *Int Wound J*. 2005;2:348–56.
17. Patino CM, Ferreira JC. Confidence intervals: a useful statistical tool to estimate effect sizes in the real world. *J Bras Pneumol*. 2015;41:565–6.
18. Malone M, Bjarnsholt T, McBain AJ, James GA, Stoodley P, Leaper D, et al. The prevalence of biofilms in chronic wounds: a systematic review and meta-analysis of published data. *J Wound Care*. 2017;26:20–5.
19. Vila Domínguez A, Ayerbe Algaba R, Miró Canturri A, Rodríguez Villodres Á, Smani Y. Antibacterial activity of colloidal silver against gram-negative and gram-positive bacteria. *Antibiot (Basel)*. 2020;9:36.
20. Panáček A, Kvítek L, Smékalová M, Večeřová R, Kolář M, Röderová M, et al. Bacterial resistance to silver nanoparticles and how to overcome it. *Nat Nanotechnol*. 2018;13:65–71.
21. Storm-Versloot MN, Vos CG, Ubbink DT, Vermeulen H. Topical silver for preventing wound infection. *Cochrane database Syst Rev*. 2010:CD006478.
22. Norman G, Westby MJ, Rithalia AD, Stubbs N, Soares MO, Dumville JC. Dressings and topical agents for treating venous leg ulcers. *Cochrane database Syst Rev*. 2018;6:CD012583.
23. Zhao M, Zhang D, Tan L, Huang H. Silver dressings for the healing of venous leg ulcer: a meta-analysis and systematic review. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99:e22164.
24. Schultz G, Bjarnsholt T, James GA, Leaper DJ, McBain AJ, Malone M, et al. Consensus guidelines for the identification and treatment of biofilms in chronic nonhealing wounds. *Wound Repair Regen*. 2017;25:744–57.
25. Metcalf DG, Bowler PG. Biofilm delays wound healing: a review of the evidence. *Burn Trauma*. 2013;1:5–12.
26. Ramsay S, Cowan L, Davidson JM, Nanney L, Schultz G. Wound samples: moving towards a standardized method of collection and analysis. *Int Wound J*. 2016;13:880–91.
27. Serra R, Grande R, Butrico L, Rossi A, Settimo UF, Caroleo B, et al. Chronic wound infections: the role of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2015;13:605–13.
28. Percival SL. Importance of biofilm formation in surgical infection. *Br J Surg*. 2017;104:e85–94.
29. Cwajda-Biatasik J, Mościcka P, Jawień A, Szewczyk MT. Microbiological status of venous leg ulcers and its predictors: a single-center cross-sectional study. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18:12965.
30. de Oliveira FP, Pires BMFB, de Cássia Ferreira de Almeida Silva K, de Carvalho BTF, Teixeira LA, de Paula GR, et al. Prevalence Antimicrobial Susceptibility, and Clonal Diversity of *Pseudomonas aeruginosa* in Chronic Wounds. *J Wound Ostomy Continence Nurs*. 2017;44:528–35.