

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
MESTRADO EM ENFERMAGEM

Ana Elisa Rodrigues

Estudo da segurança de aplicação tópica de membranas de nanocelulose bacteriana modificadas com Poli-L-Lisina-Colesterol: teste clínico fase I

Juiz de Fora
2023

Ana Elisa Rodrigues

Estudo da segurança de aplicação tópica de membranas de nanocelulose bacteriana modificadas com Poli-L-Lisina-Colesterol: teste clínico fase I

Projeto de qualificação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Enfermagem.

Orientador: Professor Dr. Thiago César Nascimento

Coorientadora: Professora Dra. Camila Quinetti Paes Pittella

Juiz de Fora

2023

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Rodrigues, Ana Elisa.

Estudo da segurança de aplicação tópica de membranas de nanocelulose bacteriana modificadas com Poli-L-Lisina-Colesterol: : teste clínico fase I / Ana Elisa Rodrigues. -- 2023.

77 f. : il.

Orientador: Thiago Cesar Nascimento

Coorientadora: Camila Quinetti Paes Pittella

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Enfermagem. Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, 2023.

1. Ensaio Clínico Fase I. 2. Nanocelulose Bacteriana. 3. Cicatrização de Feridas. I. Nascimento, Thiago Cesar, orient. II. Pittella, Camila Quinetti Paes, coorient. III. Título.

Ana Elisa Rodrigues

Estudo da segurança de aplicação tópica de membranas de nanocelulose bacteriana modificadas com Poli-L-Lisina-Colesterol: teste clínico fase I

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Enfermagem.

Aprovada em 14 de setembro de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Thiago Cesar Nascimento – Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora

Profª Drª Maria Helena de Melo Lima
Universidade Estadual de Campinas

Profª Drª Valesca Nunes dos Reis
Universidade Federal de Juiz de Fora

Profª Drª Ana Paula Ferreira
Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora – SUPREMA

Profª Drª Nayara Gonçalves Barbosa
Universidade Federal de Juiz de Fora

Juiz de Fora, 28/08/2023.



Documento assinado eletronicamente por Thiago Cesar Nascimento, Professor(a), em 14/09/2023, às 18:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Maria Helena de Melo Lima, UsuárioExterno, em 14/09/2023, às 20:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Valesca Nunes dos Reis, Servidor(a), em 15/09/2023, às 06:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador 1434968 e o código CRC 9FC828CF.

Dedico este trabalho a todos aqueles que acreditam que podem alcançar o inalcançável.

“The ultimate measure of a man is not where he stands in moments of comfort and convenience, but where he stands at time of challenges and controversy.” (Martin Luther King).

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, fonte de amor e carinho inesgotável, luz de toda minha existência.

Aos meus pais José Roberto e Rosmeire, por me apoiarem em todas as minhas decisões e me proporcionarem um caminho sempre em busca do conhecimento. Aos meus irmão Nara, Renan, Amanda e meu sobrinho Eduardo, por serem luz e amor em minha vida. Ao meu cunhado Elton e minha cunhada Elisa, pela torcida e amor. A minha avó Maria, que em suas incansáveis orações intercedeu por mim durante o Mestrado. Aos demais familiares que me apoiam e vibram com minhas vitórias, obrigada!

Ao meu orientador Prof. Dr Thiago Cesar Nascimento e à Prof. Dra. Camila Quinetti Paes Pittella, pela paciência, pelos ensinamentos e por terem confiado em minha capacidade. Obrigada pelo crescimento e amadurecimento na pesquisa que me proporcionaram!

À minha co-orientadora e inspiração na vida acadêmica e na pesquisa Prof. Dra. Kelli Borges dos Santos, toda minha gratidão pela sua capacidade em ensinar e inspirar tantos profissionais, você faz a diferença na Enfermagem!

Ao Laboratório Cortes Vilella pela parceria realizada.

Aos alunos do curso de Farmácia da UFJF e demais voluntários da pesquisa pela disponibilidade e disposição durante o ensaio clínico. Vocês foram essenciais para que este estudo se realizasse.

Aos amigos pela compreensão, apoio e força nos momentos em que pensei em desistir, especialmente Bárbara, João Paulo, Joseane, Thaysa, Anita, Laisa, Suelen, Priscila, Thiago e Glauce. Amo muito vocês!

À Prof. Dra. Samara Silva de Souza pela contribuição com o desenvolvimento da pesquisa, cedendo as membranas de Nanocelulose Bacteriana puras.

Aos professores membros da banca examinadora, pela disponibilidade em analisar e contribuir para esta dissertação.

A todos que de alguma forma contribuíram para realização desta pesquisa, meu muito obrigada!

RESUMO

A presente proposta de estudo buscou analisar a segurança de aplicação tópica de um novo biomaterial para tratamento de lesões cutâneas, constituído de membranas de nanocelulose bacteriana (NCB) incorporadas com o polímero Poli-L-Lisina-Colesterol (PLC), aqui denominada NCB-PLC. O dispositivo NCB-PLC possui uma modificação inédita na superfície da NCB utilizando a adsorção do polímero recém-sintetizado PLC para aumentar a eficiência de adesão e proliferação de células epiteliais, características essenciais na utilização de biomateriais em engenharia de tecidos, especialmente na aplicação para o tratamento de lesões cutâneas de grande extensão. Tal biomaterial já foi caracterizado e sua biocompatibilidade testada in vitro, em células epiteliais. Foi possível observar ausência de toxicidade, bem como uma boa adaptação celular, revelada pelo aumento da proliferação e adesão das células cultivadas sobre a sua superfície. Foram também realizados previamente ensaios pré-clínicos in vivo (eficácia), utilizando um modelo experimental de excisão de pele em camundongos C57Bl/6. Os resultados apontaram ação cicatrizante satisfatória da membrana em estudo, demonstrando o seu potencial para aplicações no tratamento de feridas. Neste sentido, para a caracterização clínica e futuramente disponibilização do biomaterial NCB-PLC no mercado, foi desenvolvido na presente pesquisa o teste de segurança de sua aplicação tópica, com a análise de um estudo clínico de fase I com aplicação em humanos, participantes voluntários da pesquisa com pele íntegra. O estudo foi iniciado após aprovação no Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos, foi realizada coleta de dados demográficos através de formulário, após foi realizada coleta de material para realização de hemograma, testes bioquímicos e urinálise, antes e 30 dias após o início da aplicação das membranas de NCB e NCB-PLC, que foram aplicadas por 3 vezes na semana em pele íntegra, no período de 1 mês. Os resultados de análise estatística das variáveis de efeitos adversos da aplicação das membranas e exames laboratoriais, sugerem o potencial uso de aplicação tópica da membrana devido ausência de resposta inflamatória relacionada ao seu uso. Desta forma torna-se necessário dar continuidade ao desenvolvimento do estudo com a realização do teste clínico fase II.

Palavras-chave: Ensaio Clínico Fase I. Nanocelulose Bacteriana. Cicatrização de Feridas.

ABSTRACT

The present study proposal aimed to analyze the safety of topical application of a new biomaterial for the treatment of skin lesions, composed of bacterial nanocellulose (NCB) membranes incorporated with the polymer Poly-L-Lysine-Cholesterol (PLC), here referred to as NCB-PLC. The NCB-PLC device features a novel modification on the NCB surface using the adsorption of the newly synthesized PLC polymer to enhance the adhesion and proliferation efficiency of epithelial cells, essential characteristics in the use of biomaterials in tissue engineering, especially for the treatment of extensive skin lesions. This biomaterial has already been characterized and its in vitro biocompatibility tested in epithelial cells. It was possible to observe the absence of toxicity, as well as good cellular adaptation, as evidenced by increased proliferation and adhesion of cells cultured on its surface. Preclinical in vivo trials (efficacy) were also previously conducted using an experimental skin excision model in C57Bl/6 mice. The results indicated satisfactory wound healing action of the membrane under study, demonstrating its potential for wound treatment applications. In this regard, for clinical characterization and future availability of the NCB-PLC biomaterial in the market, the present research developed a safety test for its topical application, involving the analysis of a Phase I clinical study in human participants with intact skin who volunteered for the research. The study commenced after approval by the Ethics and Human Research Committee, and demographic data were collected through a form. Subsequently, material collection for hematology, biochemical tests, and urinalysis was performed before and 30 days after the initiation of NCB and NCB-PLC membrane applications, which were applied three times a week on intact skin for one month. The statistical analysis results of adverse effects variables related to membrane application and laboratory tests suggest the potential for topical application of the membrane due to the absence of inflammatory response associated with its use. Therefore, it is necessary to proceed with the development of the study by conducting Phase II clinical trials.

Keywords: Clinical Trial, Phase I. Bacterial Nanocellulose. Wound Healing.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	– Membrana de NCB hidratada	21
Figura 2	– Modificação de NCB para NCB-PLC	30
Figura 3	– Aplicação das membranas	34
Figura 4	– Divisão em recipientes das membranas de NCB (A) e NCB-PLC (B)	34
Figura 5	– Fluxograma CONSORT da seleção de voluntários para o estudo clínico	39
Figura 6	– Evolução típica da aplicação da membrana NCB-PLC ao longo do teste	42
Figura 7	– Evolução atípica com sinais de dermatite circunscrita ao filme de poliuretano em NCB controle (A) e posterior regressão dos sintomas após substituição por fita microporosa hipoalergênica. As setas pretas indicam as áreas afetadas.	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Propriedades físicas e mecânicas da NCB e sua correlação com as funções ideais de um biomaterial utilizado no reparo de tecidos	22
Tabela 2	– Dados demográficos dos voluntários submetidos ao Teste Clínico Fase I para análise da segurança de aplicação tópica de NCB-PLC. Minas Gerais, 2023.	40
Tabela 3	– Ocorrência de efeitos adversos durante o Teste Clínico Fase I. Minas Gerais, 2023.	41
Tabela 4	– Resultados dos exames laboratoriais dos voluntários do Teste Clínico Fase I encontrados em D1, entre grupos. Minas Gerais, 2023.	44
Tabela 5	– Resultados dos exames laboratoriais (avaliação dicotômica) dos voluntários do Teste Clínico Fase I encontrados em D1, entre grupos. Minas Gerais, 2023.	46
Tabela 6	– Resultados de exames laboratoriais dos voluntários do Teste Clínico Fase I encontrados em D30, entre grupos. Minas Gerais, 2023.	46
Tabela 7	– Resultados dos exames laboratoriais (avaliação dicotômica) dos voluntários do Teste Clínico Fase I encontrados em D30, entre grupos. Minas Gerais, 2023.	48
Tabela 8	– Resultados de exames laboratoriais dos voluntários do Teste Clínico Fase I encontrados entre D1 e D30, por grupo. Minas Gerais, 2023.	48
Tabela 9	– Resultados de exames laboratoriais (avaliação dicotômica) dos voluntários do Teste Clínico Fase I encontrados entre D1 e D30, por grupo. Minas Gerais, 2023.	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
NCB	Nanocelulose Bacteriana
NCB-PLC	Nanocelulose Bacteriana - Poli-L-lisina-colesterol
CB	Celulose Bacteriana
CM	Celulose Microbiana
COFEN	Conselho Federal de Enfermagem
CONSORT	Consolidated Standards of Randomized Trials
CV	Celulose Vegetal
NaOH	Hidróxido de Sódio
NPAgs	Nanopartículas de Prata
PCR	Proteína C Reativa
PHMB	Polyhexamethylene Biguanide
PLC	Poli-L-lisina-colesterol
ReBEC	Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos
SPIRIT	Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials
SPSS	Statistical Package for the Social Science
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGO	Transaminase Glutâmico Oxalacética
TGP	Transaminase Glutâmico Pirúvica
UFJF	Universidade Federal de Juiz de Fora
UTN	Universal Trial Number

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	Biomateriais e Nanotecnologia: o avanço no tratamento de feridas	16
2.2	A pele humana e o processo cicatricial	17
2.3	Nanocelulose Bacteriana (NCB) e o tratamento de feridas	19
2.4	Modificações em membranas de NCB	24
2.5	Membrana de NCB modificada com Poli-l-lisina-colesterol (NCB-PLC)	25
2.6	Da produção à aplicação em humanos: testes clínicos	26
3	OBJETIVOS	28
3.1	Objetivos Específicos	28
4	MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1	Produção e preparação das membranas de NCB-PLC	29
4.2	Cegamento	30
4.3	Teste Clínico fase 1	30
4.3.1	Protocolo Clínico	30
4.3.2	Tipo de estudo	31
4.3.3	População	31
4.3.4	Instrumento de coleta de dados	31
4.3.5	Coleta de dados	32
4.3.6	Variáveis a serem mensuradas	34
4.3.7	Aspectos éticos	35
4.3.8	Critérios de inclusão	36
4.3.9	Critérios de exclusão	36
4.3.10	Análise estatística	36
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
6	CONCLUSÕES	52
	REFERÊNCIAS	54
	APÊNDICE A – Protocolo de Cegamento do Estudo	61
	APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	62

APÊNDICE C – Instrumento de Coleta de Dados	64
ANEXO A – Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos	69
ANEXO B – Referência para análise dos exames laboratoriais	74

1 INTRODUÇÃO

O grande impacto causado pelas feridas na vida dos pacientes e no sistema de saúde, resulta no desenvolvimento de estudos inovadores, como é o caso do uso de biomateriais que possuem compostos que estimulam o processo reparador, o tratamento e a cicatrização de lesões, proporcionando conforto e qualidade de vida ao paciente (VASSALO, 2019).

A Resolução do COFEN nº 567/2018, aprova e institui o regulamento sobre a competência da equipe de enfermagem no cuidado às feridas, assim como confere ao enfermeiro o direito de realizar cuidados com feridas de forma autônoma (COFEN, 2018). No entanto, esta assistência envolve procedimentos de alta complexidade técnica. É de extrema importância que o enfermeiro tenha conhecimento dos mecanismos celulares e moleculares envolvidos no processo cicatricial, para que a sua conduta seja baseada em evidências científicas. Neste sentido, o desenvolvimento da pesquisa com materiais que auxiliem no tratamento do tecido lesionado, assim como o conhecimento teórico e prático dos biomateriais disponíveis para esta finalidade, deve ser tema de relevante preocupação e estudo para os profissionais enfermeiros. Tendo em vista que o acompanhamento das feridas deve ser realizado de forma sistematizada, torna-se necessário que o cuidador tenha um profundo domínio sobre essa problemática (PITELLA, 2017).

Muitos pesquisadores anseiam pela chance de criar um curativo ideal, que não cause nenhum dano ao paciente e facilite uma cicatrização perfeita (FOHN; BANNASCH, 2007). Nesta perspectiva, pesquisadores têm focado no desenvolvimento de tal material terapêutico, utilizando para isso membranas de nanocelulose bacteriana (NCB) como biomaterial base para o desenvolvimento de novas estratégias para a reparação tecidual (RECOUVREUX et al., 2011).

A NCB é produzida por bactérias como a *Gluconacetobacter hansenii* e possui uma estrutura nanofibrilar pura. Além do seu uso já aprovado em aplicações médicas como curativos em úlceras e queimaduras, o uso da NCB está expandindo como biomaterial na preparação de outros dispositivos biomédicos na engenharia de tecidos pelas suas características e estrutura natural composta por uma rede de nanofibras tridimensional, que favorece os destinos celulares (FU et al., 2013).

A NCB não modificada apresenta propriedades físicas e mecânicas únicas. No entanto, estudos publicados recentemente revelam que há uma grande tendência em investigações para modificar a estrutura das membranas de NCB para aumentar a sua biocompatibilidade (STUMPF et al., 2018). A NCB modificada pode funcionar como suporte para a regeneração de uma variedade de tecidos, o que, eventualmente, a torna um biomaterial interessante para o desenvolvimento de dispositivos médicos e produtos de consumo. Tais modificações podem ocorrer por meio da incorporação de polímeros, nanopartículas, grupos funcionais e/ou moléculas bioativas (SAIBUATONG; PHISALAPHONG, 2010).

Neste contexto, visando o desenvolvimento de dispositivos funcionais para aplicações tópicas, um estudo desenvolvido por Pittella (2017) apresentou uma modificação inédita na superfície da NCB, utilizando a adsorção do polímero Poli-L-Lisina-Colesterol (PLC) para aumentar a eficiência de adesão e proliferação de células epiteliais, características essenciais na utilização de biomateriais em engenharia de tecidos, especialmente na aplicação para o tratamento de lesões cutâneas de grande extensão. Tal biomaterial (denominado NCB-PLC), foi desenvolvido, caracterizado e sua biocompatibilidade foi testada *in vitro*, em células epiteliais (fibroblastos e queratinócitos) visando aplicações terapêuticas tópicas. Os resultados da análise da biocompatibilidade em células epiteliais revelaram a ausência de toxicidade do biomaterial desenvolvido, bem como uma boa adaptação celular, revelada pelo aumento da proliferação e adesão das células cultivadas sobre a sua superfície.

Um novo produto só é levado à experimentação em seres humanos depois de conhecidos seus mecanismos de ação e toxicidade em provas pré-clínicas *in vitro* e em modelos experimentais *in vivo* (BRASIL, 1997). Desta forma, como continuidade da pesquisa de Pittella (2017), objetivou-se avaliar a atividade cicatrizante da membrana NCB-PLC utilizando um modelo de ferida excisional em camundongos C57BL/6 (experimentos realizados em acórdância com o Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora- protocolo aprovado nº 049/2018).

Como resultado, o ensaio *in vivo* demonstrou uma atividade cicatrizante satisfatória quando comparado ao grupo controle. Foi possível observar um aumento significativo na contração das feridas no grupo NCB-PLC nos dias 3 e 7 em relação ao controle (VITORIA, 2023). Estes dados sugerem que a membrana NCB-PLC

desenvolvida aumenta a eficácia da reparação de feridas in vivo, demonstrando o seu potencial para aplicações clínicas futuras.

Os ensaios clínicos de fase 1 constituem-se na primeira etapa de avaliação de um produto químico/biológico em seres humanos e são, geralmente, precedidos de provas em modelos experimentais em animais; devem ser conduzidos no país de produção da droga e envolvem um número limitado de voluntários adultos sadios (OPAS, 1997).

Neste sentido, para a conclusão da caracterização clínica e futuramente disponibilização da membrana de NCB-PLC no mercado, é necessária a realização do estudo de segurança de sua aplicação tópica. Portanto, o presente estudo pretende dar sequência aos resultados obtidos até o momento, por meio da realização do estudo clínico fase 1 em humanos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Para o desenvolvimento do referencial teórico optou-se por dividi-lo em seis tópicos que abordam o tema da pesquisa, apresentados a seguir.

2.1 Biomateriais e Nanotecnologia: o avanço no tratamento de feridas

As feridas cutâneas crônicas representam um grave problema de saúde pública, o que torna bastante relevante seu alto custo social e econômico para a sociedade. Pesquisas recentes na área de Biomateriais e Nanotecnologia têm sido realizadas a fim de aumentar a eficácia terapêutica de curativos em relação aos tradicionais. Neste contexto, o uso de curativos com princípios ativos para feridas crônicas visa modular o processo natural de cicatrização, atuando em aspectos que o dificultam, tais como inflamação excessiva, isquemia, cicatrização e infecção da ferida (DWIVEDI et al., 2016).

O uso de biomateriais não é recente, sua aplicação à saúde humana remonta à antiguidade, em registros que datam 2000 A.C. (SAMPAIO; CARVALHO; CARNEIRO, 2018). Segundo Pires et al. (2015), esses biocompostos podem ser definidos como dispositivos que entram em contato com sistemas biológicos (incluindo fluidos biológicos) e que possuem aplicações diagnósticas, vacinais, cirúrgicas ou terapêuticas. Em sua composição possuem compostos de origem sintética ou natural, assim como materiais naturais quimicamente modificados e são disponibilizados tanto na forma de sólidos quanto de géis, pastas ou mesmo líquidos.

Os biomateriais têm apresentado uma aplicação promissora na cicatrização de feridas desde o século XX. Após a segunda guerra mundial, diversos biomateriais foram disponibilizados para o público e adotados em aplicações médicas, desde então eles têm sido investigados, tornando sua aplicação relevante para indústria médica incluindo o desenvolvimento de curativos modernos (DWIVEDI et al., 2016).

A nanotecnologia está presente na humanidade acerca de dois mil anos. Usada a princípio de forma empírica, ao longo dos anos seu uso foi racionalizado de forma sistemática e precisa (SOUSA et al., 2018). Esta tecnologia tem sua aplicação reconhecida com o uso de nanopartículas, que são constituídas por partículas ou aglomerados com distribuição de tamanho que apresenta uma fração considerável de

partículas no intervalo entre um e 100 nanômetros (nm). Muitos processos biológicos ocorrem por mecanismos que atuam na escala nanométrica, desta forma as nanopartículas podem ser utilizadas no contexto da cicatrização de feridas pois se destacam na condutividade elétrica, atividade microbiana, alta relação superfície/volume e concentração, tornando seu uso versátil (SILVA et al., 2017; SAMPAIO; CARVALHO; CARNEIRO, 2018).

Em estudo realizado por Silva et al. (2017), evidenciou-se que os curativos contendo nanocompostos são bastante promissores e mostram-se uma ótima opção terapêutica na cicatrização de feridas proporcionando maior velocidade na cicatrização, redução da ferida por contração, efeito hemostático, ação bactericida e baixa citotoxicidade.

Neste contexto, a Nanocelulose Bacteriana (NCB) é considerada um biomaterial de destaque pois possui propriedades que a qualificam como um excelente composto para estar presente em coberturas de ferimentos, atuando profundamente no tecido danificado (BEDOYA, 2019).

2.2 A pele humana e o processo cicatricial

A pele tem função primordial de barreira física do corpo humano, impedindo a entrada de organismos invasores e a perda de elementos vitais como a água. Os anexos cutâneos, estruturas presentes na pele, contribuem ainda para outras funções deste órgão como: controle de temperatura corporal, impermeabilização e lubrificação da superfície corporal, proteção e imunidade (BELDA JÚNIOR; CHIACCHIO; CRIADO, 2014).

Duas camadas compõem a estrutura da pele: a epiderme e a derme, a primeira encontra-se na superfície e a segunda é a camada mais profunda. Abaixo da derme encontra-se ainda o tecido subcutâneo ou hipoderme, onde ocorre o armazenamento de tecido adiposo (BELDA JÚNIOR; CHIACCHIO; CRIADO, 2014).

A epiderme é composta por camadas de queratinócitos separadas da derme através da membrana basal. Divide-se em subcamadas: camada basal, estrato espinhoso, granuloso e córneo. Histologicamente é constituída por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado e sua principal função é a produção de queratina, proteína responsável pela impermeabilidade da pele e prevenção da

evaporação de água da superfície corpórea (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Na derme encontram-se fibras colágenas e elásticas, substância fundamental, fibroblastos, mastócitos, plasmócitos, linfócitos, histiócitos, células dendríticas, glândulas sudoríparas e sebáceas e folículos. Ela é ricamente vascularizada e innervada e possui grande quantidade de vasos linfáticos (LAI- CHEONG; MCGRATH, 2017).

Quando ocorre algum estímulo que danifique parte deste sistema, seja por traumas mecânicos ou físicos, queimaduras, cirurgias ou comorbidades que levam ao desenvolvimento de ferimentos, o organismo perde sua homeostase. Desta forma, inicia-se uma série de etapas complexas que resultam na cicatrização, restauração e a regeneração deste tecido danificado, permitindo que o tecido volte a ficar íntegro novamente (BEDOYA, 2019).

De acordo com o processo de cicatrização, uma ferida pode ser categorizada como aguda, que ocorre por um agravo repentino e tem um tempo previsível de cura, geralmente dentro de 8 – 12 semanas; ou crônica, que não progride nos estágios normais de cicatrização e que ultrapassa 12 semanas no seu processo cicatricial (SAMPAIO; CARVALHO; CARNEIRO, 2018).

Um complexo processo de regeneração de tecidos ocorre durante a cicatrização de uma lesão, quatro fases distintas ocorrem neste processo: i) coagulação e hemostasia, onde ocorre a coagulação local e formação da rede de fibrina para impedir o sangramento; ii) fase inflamatória, onde ocorre atração dos macrófagos e células inflamatórias; iii) fase de proliferação, novos tecidos e vasos são formados e os processos celulares ocorrem mediados por queratinócitos e fibroblastos; iv) fase de remodelação, onde ocorre contração do novo tecido formado. Essas fases seguem uma ordem e se sobrepõem umas com as outras, sua progressão depende do tipo da lesão, condições patológicas associadas e material do curativo utilizado (SAMPAIO; CARVALHO; CARNEIRO, 2018).

A integridade tissular prejudicada atinge diretamente a qualidade de vida dos indivíduos, principalmente se acometem grandes extensões, podendo levar a incapacidade parcial ou total do membro e até mesmo a morte dependendo de sua gravidade. O ideal é que a cicatrização ocorra de maneira rápida e saudável, porém nem sempre este processo ocorre com vitalidade (PITELLA; PORTO, 2016).

A tecnologia avança cada vez mais no desenvolvimento de diferentes tipos de materiais para fabricação de curativos, buscando atender a esta demanda. Porém, a seleção correta de uma cobertura para uma ferida específica deve ser extremamente cautelosa devido à complexidade dos processos envolvidos (SAMPAIO; CARVALHO; CARNEIRO, 2018).

O curativo ideal deve possuir as seguintes características: a) fornecer ou manter o ambiente úmido; b) melhorar a migração epidérmica; c) promover a angiogênese e síntese do tecido conjuntivo; d) permitir trocas gasosas entre a lesão e o meio externo; e) manter a temperatura adequada do tecido, favorecendo o fluxo sanguíneo e a migração epidérmica; f) ser barreira contra infecções; g) ser de fácil remoção e ser não-aderente h) quando necessário, deve fornecer ação de desbridamento; i) ser estéril, não-tóxico e não alérgico (SAMPAIO; CARVALHO; CARNEIRO, 2018).

2.3 Nanocelulose Bacteriana (NCB) e o tratamento de feridas

A celulose ($[C_6H_{10}O_5]_n$) é considerada o biopolímero mais abundante na natureza, podendo ser encontrada em plantas, algas, fungos e bactérias (BEDOYA, 2019). A estrutura química da celulose vegetal (CV) é muito similar à celulose produzida por bactérias. No entanto, o que a diferencia da CV é sua estrutura morfológica de nanofibras e a ausência de lignina e hemicelulose em sua estrutura, o que a torna altamente pura (DONINI *et al.*, 2010; TEIXEIRA, 2016).

A Nanocelulose Bacteriana (NCB), também conhecida como celulose bacteriana (CB) ou celulose microbiana (CM), é encontrada na forma de película translúcida e gelatinosa, possuindo em média diâmetro de 20-100nm (VASSALO, 2019). Esta partícula foi descrita pela primeira vez em um experimento desenvolvido por Adrian J. Brown em 1886. Este pesquisador conseguiu identificar a formação de uma fina e delicada camada gelatinosa de microrganismos na superfície de seu experimento durante a fermentação do vinagre. Posteriormente, o pesquisador identificou que a película era um tipo de celulose produzida através da fermentação de bactérias, denominando-as de *Bacterium xylinum* (BROWN, 1886).

Após alguns anos de pesquisas, a bactéria recebeu diversas nomeações sendo a mais conhecida *Acetobacter xylinum*, que logo após foi reclassificada como

Gluconacetobacter xylinus (FORESTI; VAZQUEZ; BOURY, 2016). O gênero *Gluconacetobacter*, após alguns estudos, foi subdividido em dois. Um deles, o *Komagataeibacter*, levou a bactéria a ficar conhecida também como *K. xylinus*. Muitos autores utilizam em seus trabalhos os nomes *G. xylinus* ou *K. xylinus* para definir a mesma bactéria produtora de NCB (CACICEDO et al., 2016).

A *Gluconacetobacter xylinus* (*G. xylinus*) é amplamente utilizada para gerar celulose devido ao seu alto potencial de rendimento e a sua facilidade em se multiplicar em vários substratos como: a glicose, a frutose, o melaço, o glicerol, a maltose, o amido, o manitol e outros (LEE et al., 2013; PINTO, 2013). A NCB pode ser também sintetizada por diversas outras bactérias, como: *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azobacter*, *Escherichia*, *Komagataeibacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Salmonella* e *Sarcina* (BEDOYA, 2019; VASSALO, 2019).

Em estudo realizado por Bedoya (2019), evidenciou-se que a NCB possui inúmeras propriedades que a tornam um polímero de fácil manuseio de características únicas, sendo algumas delas: biocompatibilidade, não toxicidade, estabilidade mecânica, alto teor de umidade e ser altamente hidrofílica. Outros estudos evidenciam também que a BNC possui estrutura porosa, uniforme, permeável, fácil esterilização, baixo custo na produção, alta elasticidade e maleabilidade. Além de elevada resistência e estabilidade mecânica, baixa densidade e cristalinidade entre 60 a 90%. Estas características fazem com que a NCB seja utilizada para aplicações em diferentes tipos de empresas (FORESTI; VAZQUEZ; BOURY, 2016; PINTO, 2013; PITELLA, 2017).

Pesquisas vêm sendo realizadas comprovando que a NCB tem grande potencial para manter, melhorar e restaurar o tecido humano. A NCB atualmente é utilizada na produção e desenvolvimento de peles artificiais, tratamento de feridas, implantes dentários, liberação controlada de fármacos, próteses vasculares, vasos sanguíneos, córnea, valvas cardíacas, uretras, ossos, cartilagens, meniscos e outros sistemas (FU; ZHANG; YANG, 2013; OSÓRIO et al. 2018; PINTO, 2013).

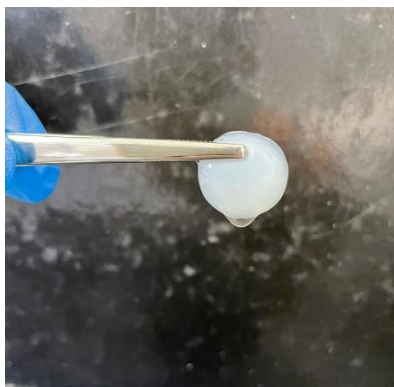
O uso deste biomaterial para o tratamento de feridas não é recente. Em 1980 a Johnson & Johnson iniciou seus esforços na comercialização da BNC em larga escala. Esta empresa foi pioneira em investigações exploratórias sobre a aplicação médica de BNC no tratamento de diferentes tipos de feridas. No Brasil, a NCB foi testada com sucesso e utilizada como tratamento para feridas, especialmente em

casos de queimaduras a partir de 1988 (PEIXOTO; SANTOS, 1988). Estudos da época já demonstravam que as queimaduras tratadas com revestimentos de nanocelulose bacteriana cicatrizavam mais rápido do que os tratamentos tradicionais (PITANGUY et al., 1988).

O uso da membrana de NCB proporciona diversos benefícios no tratamento de lesões, ela se apresenta no formato de uma fina camada gelatinosa contínua (Figura 1), agindo como um obstáculo mecânico e físico para possível contato direto de patógenos com a ferida, além de reduzir a perda de eletrólitos e manter o local hidratado (ZANOTI, 2017).

A cobertura não necessita de troca diária e quando em contato com a pele lesionada é perceptível a ocorrência de reepitelização da epiderme e derme, formação de vasos sanguíneos e ocorrência de colágeno com redução dos sinais inflamatórios. Por possuir consistência gelatinosa, fina e transparente, os sinais citados são vistos com clareza durante todo o processo cicatricial, além disso a membrana não é aderente e se desprende da pele assim que a cicatrização é estabelecida (PEDROZA, 2019).

Figura 1 – Membrana de NCB hidratada



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Os biomateriais quando adicionados em coberturas utilizadas no tratamento de feridas, devem conter características que otimizem o processo cicatricial. Uma cobertura adequada deve proporcionar alívio na sensação da dor e do processo inflamatório, promover controle do exsudato e da umidade, manter a temperatura e o pH adequados, auxiliar o crescimento de tecido granular, inibir crescimento de tecido

necrótico e ser de fácil manipulação (BADIN *et al.*, 2007; BEDOYA, 2019; FISCHER *et al.*, 2017; MORITZ *et al.*, 2014).

O material utilizado deve conter ainda: capacidade de favorecer a proliferação da derme e epiderme, possibilitar que o profissional tenha uma visualização ampla da lesão e reduzir traumatismos epidérmicos causados na periferia da ferida pelo curativo, reduzir a incidência de infecção e contaminação externa, melhorar a formação cicatricial e proporcionar segurança e conforto ao paciente (BADIN *et al.*, 2007; BEDOYA, 2019; FISCHER *et al.*, 2017; MORITZ *et al.*, 2014).

Levando-se em consideração as características necessárias que uma cobertura deve possuir para agir na restauração, otimização e regeneração do tecido danificado, as propriedades físicas e mecânicas da NCB a caracterizam como um material ideal para a reparação de tecidos conforme listado na tabela abaixo (Tabela 1):

Tabela 1 – Propriedades físicas e mecânicas da NCB e sua correlação com as funções ideais de um biomaterial utilizado no reparo de tecidos.

Função ideal de um biomaterial usado na reparação de tecidos	Propriedades da NCB
Manter um ambiente úmido no leito da ferida	Alta capacidade de retenção de água; elevada taxa de transmissão de vapor de água
Fornecer barreira física contra infecção bacteriana	Estrutura porosa que não permite penetração de bactéria externa no leito da ferida
Absorver exsudato	A membrana parcialmente desidratada é capaz de absorver o líquido até a sua capacidade original
Estéril, fácil de usar e de baixo custo	Membranas são fáceis de esterilizar; o custo estimado da produção de 1 cm ² é \$ 0,02

Fornecer uma cobertura adequada da ferida, permitindo também uma remoção fácil e indolor	Alta elasticidade e moldabilidade
Permitir troca de gases e fluidos	Material altamente poroso com dimensões de poros que variam entre nanômetros e micrômetros
Atóxico, não-pirogênico e biocompatível	Biocompatível, não pirogênica, não-tóxica
Fornecer cobertura com alta moldabilidade e elasticidade	Alta elasticidade e moldabilidade
Fornecer estabilidade mecânica	Elevada resistência mecânica

Fonte: Pittella (2017).

Esta correlação explicita que a NCB é uma opção viável e biocompatível para atuar no tratamento de feridas e queimaduras. O seu uso vem despertando interesse de empresas que tem investido em pesquisas que buscam otimizar as funções da NCB tornando-a acessível à população. Alguns exemplos de membranas de NCB disponíveis no mercado e suas aplicações: Biofill[®], Bionext[®] e Membracel[®], utilizadas na substituição do tecido cutâneo em queimaduras ou em úlceras; XCell[®], aplicada no tratamento de úlceras venosas e no alívio da dor; Gengiflex[®], empregue em doenças periodontais e Bioprocess[®], atua na estimulação de tecido de granulação em queimaduras graves e úlceras de membros inferiores (PITTELLA, 2017; VASSALO, 2019).

Outras opções também disponíveis no mercado: Dermafill[®], utilizada nas ulcerações causadas por patologias crônicas; Basy[®], auxilia na reconstrução de vasos sanguíneos; Celmat[®], atuante como cobertura hidratante; NexFil[®], aplicada em queimaduras; Suprasorb[®] X+PHMB, responsável por otimizar o tratamento de lesões com presença de exsudato com possibilidade de infecção e Suprasorb[®] X, utilizada em lesões com presença de exsudato sem possibilidade de infecção (PITTELLA, 2017; VASSALO, 2019).

A NCB possui ainda benefícios que envolvem sua produção. Este material pode ser produzido em laboratório em condições controladas, possibilitando o monitoramento da quantidade de composto a ser produzido em tempo pré-

determinado. Além disso, a NCB pode ter sua superfície modificada de modo a produzir um composto com especificações únicas e ajustáveis a real necessidade da aplicação como: curativos com ação anti-inflamatória, antibacteriana, hidratantes entre outros (VASSALO,2019).

2.4 Modificações em membranas de NCB

A NCB não modificada é um polímero que possui propriedades físicas, químicas e mecânicas que auxiliam no tratamento de feridas acelerando de fato o processo de cicatrização. Diversas alterações em sua superfície podem ser realizadas e o resultado da incorporação de princípios ativos específicos é a otimização das propriedades já existentes levando a cobertura a possuir a característica desejada (PITTELLA, 2017).

Podem ser realizados dois tipos de modificações em sua superfície, sendo elas: *in situ* ou *ex situ*. A primeira forma consiste em uma modificação que ocorre durante a cultura celular bacteriana, já a segunda é realizada após a membrana estar formada. Estas alterações acontecem a partir da incorporação de polímeros, nanopartículas, moléculas bioativas e outros, que funcionam como um reforço das propriedades da membrana já existente (STUMPF *et al.*,2018).

Em revisão integrativa desenvolvida por Colli (2022), foram analisados 30 estudos que desenvolveram alterações em membranas de BNC e evidenciou-se que quando esta tem a sua superfície alterada por meio da incorporação de diferentes ativos, nota-se uma otimização das suas características classificando-a como um recurso biotecnológico de alto padrão para a cicatrização. As alterações de NCB avaliadas contemplaram resultados como: redução os níveis de inflamação e o tempo de cicatrização, atuação na melhora da dor, combate à microrganismos, redução na área da lesão e aumento da proliferação celular. Estes fatores influenciaram diretamente em uma modulação significativa da cicatrização.

Estudos desenvolvidos com modificações em membranas de NCB apresentam resultados promissores e satisfatórios. Khalid *et al.* (2017) modificou NCB com nanocompostos de óxido de zinco (NPZnO) e a membrana potencializou 66% a atividade de cicatrização de queimadura em feridas de animais. Além disso, esta combinação promoveu atividade antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas*

aeruginosa, *Staphylococcus aureus* e *Citrobacter freundii*. Fischer *et al.* (2017) desenvolveu alterações da BNC com nitrato de cério ($\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$) e nanopartículas de prata (NPAg_s). A conclusão de sua pesquisa foi a atenuação microbiana de 98% para a bactéria *Staphylococcus aereus*. Silva *et al.* (2017) abordou em seu estudo alterações da NCB com nanopartículas de prata (NPAg_s) que apresentaram ótimo resultado bactericida contra *Staphylococcus aereus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, além da membrana ter efeito positivo cicatrizante em queimaduras superficiais.

Ainda nesta linha de abordagem, envolvendo alterações de membranas de nanocelulose, Portela *et al.* (2019) desenvolveu NCB incorporada ao ácido acrílico ($\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2$), promovendo regeneração tecidual de modo mais efetivo e multiplicação de fibroblastos presentes. Vassalo (2019) para obter atividade antimicrobiana no tratamento de lesões, incorporou à superfície da NCB nanopartículas de prata (NPAg_s) que mostraram em estudo resposta positiva contra *S. aureus* e *E.coli*. O autor desenvolveu também a NCB alterada com quitosano, que evidenciou melhores resultados no crescimento de epitélio quando comparado ao uso da NCB pura. Por fim o pesquisador realizou modificações na NCB com ácido hialurônico na concentração de 0,1% mostrando resultado ascendente na regeneração tecidual.

2.5 Membrana de NCB modificada com Poli-L-lisina-colesterol (NCB-PLC)

Um polímero é constituído por vários tipos de moléculas (monômeros diferentes). Quando ocorre a junção de vários monômeros iguais, tem-se um homopolímero. Nesta linha de raciocínio, pode-se citar a Poli- L- Lisina Colesterol (PLC), molécula constituída de aproximadamente 30 subunidades de L-lisina (PITTELLA, 2017).

A PLC é um homopolímero inédito na literatura, sintetizado e fornecido pelo pesquisador Dr. Hyun – Jin Kim da Universidade de Tokyo, Japão para a incorporação das pesquisas de Pitella (2017). A molécula PLC tem sido desenvolvida e estudada, uma vez que demonstrou resultados na adesão, proliferação e diferenciação celular, além de ser um excelente composto para alterações de superfície da NCB devido sua possível ação antimicrobiana. Ou seja, a NCB, molécula que naturalmente já possui inúmeros benefícios no tratamento de feridas, tendo sua superfície modificada com

PLC se torna uma membrana que tem seus efeitos potencializados na pele lesionada (PITTELLA, 2017).

A PLC atua na NCB através das ligações eletrostáticas e hidrofóbicas. Inicialmente a NCB tem sua superfície carregada negativamente, após a incorporação da PLC esta passa a apresentar em sua superfície cargas positivas. O polímero modificado com PLC possui moléculas de colesterol, uma substância hidrofóbica que também está presente na bicamada lipídica das células. A partir do momento que o biomaterial modificado, contendo cargas positivas, é aderido à célula, com cargas negativas, ocorre a interação eletrostática, as moléculas de colesterol atravessam a bicamada lipídica funcionando como âncoras. Todo este processo possibilita o aperfeiçoamento da adesão, proliferação e diferenciação da célula (PITTELLA, 2017).

A NCB por natureza se apresenta em aspecto branco leitoso, quando incorporada à PLC através da liofilização, seu aspecto é modificado perdendo a opacidade, possibilitando uma melhor observação na evolução da ferida. Após estudo desenvolvido evidenciou-se que a PLC quando em contato com NCB tem efeito atóxico, estimula a atividade metabólica das células, aumenta a adesão de fibroblastos e a expressão de colágeno (PITTELLA, 2017).

2.6 Da produção à aplicação em humanos: testes clínicos

Um novo produto é levado à experimentação em seres humanos somente após conhecidos seus mecanismos de ação e toxicidade em provas pré-clínicas *in vitro* e em modelos experimentais *in vivo* (BRASIL, Ministério da Saúde, 1997).

Os testes *in vitro* realizados por Pittella (2017), revelaram ausência de toxicidade, aumento de atividade metabólica e adesão de fibroblastos primários na membrana de nanocelulose bacteriana alterada NCB-PLC.

Como continuidade do mesmo projeto, nos testes *in vivo*, objetivou-se avaliar a atividade cicatrizante da membrana NCB-PLC utilizando um modelo de ferida excisional em camundongos C57BL/6 (experimentos realizados em acordância com o Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora - protocolo aprovado nº 049/2018) (VITÓRIA, 2023).

Para tanto, os animais foram tricotomizados, anestesiados e feridas foram criadas em seu dorso utilizando-se um *punch* circular (6 mm). Os animais foram

divididos em 3 grupos (n=8 cada): Controle, NCB e NCB-PLC. As feridas foram fotografadas em intervalos diferentes e mensuradas utilizando-se um paquímetro digital. A taxa de cicatrização foi calculada comparando-se a área inicial da ferida com a área após 3, 7 e 10 dias. Como resultado, o ensaio *in vivo* demonstrou uma atividade cicatrizante satisfatória quando comparado ao grupo controle. Foi possível observar um aumento significativo na contração das feridas no grupo NCB-PLC nos dias 3 e 7 em relação ao controle. No dia 10, foi possível observar uma redução na área da ferida tanto no grupo NCB-PLC quanto no NCB em relação ao controle. Estes dados sugerem que a membrana NCB-PLC desenvolvida aumenta a eficácia da reparação de feridas *in vivo*, demonstrando o seu potencial para aplicações clínicas futuras como cobertura para tratamento de lesões, pois acelera o processo cicatricial além de atuar como bactericida em lesões infectadas (VITÓRIA, 2023).

Os ensaios clínicos, são estudos que envolvem experimentos em pacientes, ou seja, sujeitos com determinada patologia específica. Segundo Zuccheiti e Morrone (2012), o principal objetivo de um estudo clínico é avaliar se os efeitos adversos são toleráveis e se os benefícios podem superar os danos.

As etapas do ensaio clínico são subdivididas em quatro diferentes fases sucessivas e escalonadas, com níveis crescentes de complexidade e de exposição. A fase 1 tem como finalidade verificar a segurança e eficácia da droga que está sendo testada, a fase 2 também avalia a eficácia e investiga efeitos colaterais e a fase 3 confirma a eficácia e monitora reações adversas. Se o produto em teste for comercializado, ocorre a fase 4, com um número maior de pacientes, é mantida a investigação do medicamento, verificando eventos adversos ainda não previstos (GUIMARÃES et al., 2014).

De acordo com a legislação vigente, ensaios clínicos de fase 1 constituem-se na primeira etapa de avaliação de um produto químico/biológico em seres humanos e são, geralmente, precedidos de provas em modelos experimentais em animais; devem ser conduzidos no país de produção da droga e envolvem um número limitado de voluntários adultos sadios (BRASIL, 1997).

Neste sentido, para a conclusão da caracterização clínica e futuramente disponibilização do hidrogel de NCB-PLC no mercado, a segurança de sua aplicação tópica foi testada. Portanto, o presente estudo buscou dar sequência aos resultados obtidos, por meio da realização do estudo clínico fase 1 em humanos.

3 OBJETIVOS

Avaliar a segurança da aplicação tópica das membranas de nanocelulose bacteriana incorporados com Poli-L-Lisina-Colesterol (NCB-PLC).

3.1 Objetivos Específicos

- Preparar membranas de nanocelulose bacteriana incorporados com Poli-L-Lisina-Colesterol para a finalidade de aplicação tópica;
- Avaliar a ocorrência de efeitos adversos e sinais inflamatórios da aplicação tópica do hidrogel NCB-PLC aplicado em pele íntegra de pessoas saudáveis, por meio da execução do teste clínico fase 1.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia do presente estudo envolveu a produção e preparação das membranas de BNC-PLC e o desenvolvimento de um teste clínico fase I.

4.1 Produção e preparação das membranas de NCB-PLC

As membranas de Nanocelulose Bacteriana foram produzidas e cedidas pela Prof^a. Dr^a. Samara Silva de Souza, Professora Adjunta-A do curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, campus Dois Vizinhos. Para a produção das membranas NCB e NCB-PLC, foram seguidos os protocolos padronizados e estabelecidos por Pittella (2017). As membranas de NCB foram obtidas utilizando meio de cultura constituído de manitol, extrato de levedura e peptona, diluídos em 1L de água destilada. O pH foi ajustado para 6,5, em seguida a solução foi esterilizada. Foram adicionadas ao meio de cultura, 10% (v/v) de inóculo obtido a partir de uma cultura reserva de *Gluconacetobacter hansenii* (ATCC 23769). O cultivo ocorreu em condições estáticas, à temperatura ambiente durante 7 dias em placas de 24 poços, onde cada poço recebeu 500µl de meio de cultura inoculado. Após o período de cultivo, as membranas foram removidas e receberam um tratamento para eliminar as bactérias remanescentes, utilizando-se uma solução de NaOH 0,1 mol/L a 50°C por 24 horas, seguido de lavagens sucessivas com água destilada até o pH atingir a neutralidade (pH 7,0) e apresentaram uma espessura final de 2 mm. Em seguida as membranas seguiram para o processo de esterilização em autoclave. Para a obtenção das membranas de NCB com poli-l-lisina-colesterol adsorvidos em sua superfície (NCB-PLC), foi utilizado o método descrito em Pittella (2017). Para tanto, utilizou-se 15 mg de polímero poli-l-lisina-colesterol liofilizado que foi solubilizado com 15 ml de composto dimetilsulfóxido (DMSO), desta solução utilizou-se 180µL que foram diluídos em 14,820 µL de H₂O e após filtrada a solução final, 100µL de PLC (1 mg/ml diluído em água) foram instilados sobre a superfície da membrana de NCB (Figura 2), a qual foi mantida em temperatura ambiente por 24 h. Logo após, as membranas foram lavadas com água destilada estéril para remoção dos polímeros não adsorvidos e autoclavadas para manter a

esterilização e então foram mantidas sob refrigeração até serem utilizadas para os ensaios.

Figura 2 – Modificação de NCB para NCB-PLC



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.2 Cegamento

O estudo trata-se de um ensaio triplo cego – nem os pesquisadores, nem os voluntários e nem o estatístico saberão qual tipo de membrana será aplicada nos respectivos voluntários.

O cegamento foi realizado antes do início da aplicação das membranas, por voluntário definido previamente, que preencheu e assinou o Protocolo de Cegamento do Estudo (Apêndice A) e dividiu as membranas em Grupo A e Grupo B. Após finalização da coleta de dados a informação do cegamento foi revelada e o Grupo Controle (NCB) ficou definido como Grupo A e o Grupo de Tratamento (NCB-PLC) como Grupo B.

4.3 Teste Clínico fase 1

4.3.1 Protocolo Clínico

Foi elaborado um protocolo seguindo as recomendações do SPIRIT 2013 (sigla em inglês para itens padrão de um protocolo: Recomendações para

ensaios de intervenção - *Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials*), que fornece o conteúdo mínimo para um protocolo de ensaio clínico (Botelho et al., 2020). O protocolo foi registrado na plataforma de Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos (ReBEC) com o número RBR-4g4jkrw e cadastrado com o *Universal Trial Number* (UTN): U1111-1296-5540.

4.3.2 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo clínico experimental de fase I, triplo-cego, randomizado. Desta forma, foi avaliada a evolução de um grupo de voluntários, que foram submetidos à aplicação tópica de hidrogéis de nanocelulose bacteriana incorporadas com poli-l-lisina-colesterol (NCB-PLC) pelo período de um mês.

4.3.3 População

A população alvo deste estudo foi constituída de indivíduos saudáveis, com idade entre 18 e 60 anos, de ambos os sexos, que se enquadraram nos critérios de inclusão e que aceitaram os termos para participar voluntariamente da pesquisa. Para definição do tamanho da amostra, foram utilizadas as orientações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2015), que preconiza de 20 a 100 indivíduos para compor a amostra de pesquisa clínica fase 1. Desta forma, levando em conta a quantidade mínima exigida de indivíduos, a população do estudo foi constituída de 20 pessoas.

A seleção foi de forma voluntária por meio de mobilização da comunidade acadêmica da Universidade Federal de Juiz de Fora, com ampla divulgação da realização da pesquisa em redes sociais da Faculdade de Enfermagem da UFJF e e-mails institucionais. Foi disponibilizado um telefone e e-mail para os interessados entrarem em contato com o pesquisador responsável.

4.3.4 Instrumento de coleta de dados

O instrumento de coleta de dados (Apêndice C) foi elaborado e adaptado pela pesquisadora seguindo orientações contidas em documento reportado por Pittella

(2017) e constitui-se em um formulário elaborado para identificação do paciente voluntário e das condições de sua pele. Este formulário continha questões referentes às informações pessoais e perfil socioeconômico, resultados dos exames laboratoriais, características da pele e registro fotográfico antes e após aplicação da membrana e avaliação dos efeitos colaterais. Os dados pessoais e de perfil socioeconômico foram adaptados em questionário on-line *Google Forms* e enviados via e-mail para os voluntários após assinatura do TCLE.

4.3.5 Coleta de dados

Inicialmente, foi realizada a avaliação e seleção das pessoas voluntárias, em data, local e horário definidos pelo pesquisador, onde os dados foram coletados e registrados em formulário. Posteriormente foi solicitado aos participantes da pesquisa selecionados que lessem e, caso concordassem em participar da pesquisa, assinassem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice B). Antes do início da aplicação tópica, foi realizada uma avaliação física para certificar se a pele da pessoa voluntária estava isenta de quaisquer sinais alérgicos, inflamatórios ou de infecção.

Foi realizada previamente à coleta de exames laboratoriais a randomização dos grupos e os indivíduos foram divididos entre Grupo A e Grupo B. Os participantes receberam após, em data que antecedeu as coletas dos exames, um frasco coletor de urina estéril e foram orientados a realizar higiene íntima e coletar a primeira urina na data de realização do exame de sangue. Em data então pré-definida, eles foram encaminhados para coleta de sangue e urina para exames, que foram coletados por profissionais capacitados e encaminhados ao laboratório. As amostras de sangue e urina foram coletadas no 1º (primeiro) e 30º (último) dia, o laboratório onde foram realizados os exames, apresenta infraestrutura necessária à realização da referida pesquisa, com conjunto de práticas, equipamentos e instalações voltados à prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes às atividades de pesquisa, visando a saúde humana, a preservação do meio ambiente e a qualidade dos resultados, atendendo a legislação brasileira (Resolução N° 441/11, 466/12 e a portaria 2.201/11 do Conselho Nacional de Saúde). As amostras biológicas coletadas foram armazenadas no referido laboratório, incluindo apenas a necessidade de

análise do resultado dos exames laboratoriais para atender aos objetivos da presente pesquisa.

Após análise e entrega dos resultados dos exames, os participantes da pesquisa compareceram em local e horário definido pela pesquisadora, para aplicação das membranas. A cobertura foi então retirada de refrigeração momentos antes da aplicação nos indivíduos e mantida em recipiente estéril. Utilizou-se luva de procedimento e pinça estéril durante todo processo de aplicação para evitar contaminação da membrana, esta foi aplicada no antebraço direito, 3 vezes por semana (segunda, quarta e sexta-feira ou terça, quinta e sábado, conforme disponibilidade do voluntário) durante 1 mês; em área circular correspondente a 4 cm² e posteriormente um filme de poliuretano foi colocado sobre o local (Figura 3) para que o hidrogel não fosse removido durante o banho, locomoção ou utilização de vestuário.

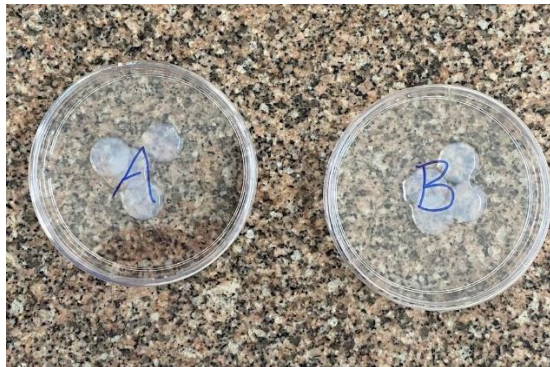
Após avaliação da presença de dermatite em alguns voluntários devido ao filme de poliuretano, a cobertura adesiva foi substituída por fita microporosa antialérgica. Com a finalidade de diminuir a probabilidade de dedução da membrana aplicada, as duas membranas foram subdivididas em recipientes semelhantes (Figura 4). Os participantes foram orientados que na ocorrência de reação inflamatória, alérgica ou lesão cutânea, a aplicação seria imediatamente interrompida e eles seriam encaminhados ao serviço médico especializado.

Figura 3 – Aplicação das membranas



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 4 – Divisão em recipientes das membranas de NCB (A) e NCB-PLC (B)



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.3.6 Variáveis a serem mensuradas

Antes do início da aplicação tópica, foi realizada uma avaliação física para certificar se a pele da pessoa voluntária estava isenta de quaisquer sinais alérgicos, inflamatórios ou de infecção. Foram solicitados exames laboratoriais (descritos no apêndice C) antes da aplicação das membranas e 30 dias após, para avaliação dos parâmetros indicativos de reação inflamatória bem como toxicidade hepática e renal. Os indivíduos foram então aleatoriamente divididos em dois grupos de tratamento que

receberam as membranas NCB-controle e NCB-PLC. Foi avaliada a presença dos seguintes sinais e sintomas de reação alérgica local:

- Dor. A dor foi avaliada pela Escala numérica de 1 a 10, sendo que zero significa ausência de dor e 10 dor intensa.

- Eritema. Este parâmetro foi avaliado aplicando-se leve pressão com a polpa digital sobre a área e liberando em seguida. As áreas de pele submetidas à pressão deveriam ficar esbranquiçadas após a remoção da mesma.

- Dermatite. Durante a inspeção visual do antebraço, foi identificada a presença de lesões avermelhadas e a confirmação foi feita com a retirada e substituição do material irritante, no caso o filme de poliuretano.

- Lesão. Durante a inspeção visual do antebraço, foi identificada a presença ou não de lesões.

- Ressecamento e descamação. O local da aplicação será avaliado pela palpação local e submetido à pequena fricção com a polpa digital.

- Edema. O edema foi avaliado pela prova de cacifo, que consiste na pressão da área com firmeza, utilizando-se o dedo polegar por 5 segundos, e posterior liberação. Outro método usado concomitantemente foi a mensuração da circunferência do antebraço com fita métrica, semanalmente. A fita foi posicionada na circunferência do antebraço a 3,0 cm da fossa cubital para verificar a medida do local ao longo do tratamento.

- Calor. A variação da temperatura da pele pode revelar processo inflamatório ou infeccioso pelo aumento do fluxo sanguíneo. O calor do local de aplicação foi avaliado com o dorso da mão da pesquisadora.

- Prurido. Para avaliação desta variável, foi considerada a informação fornecida pela pessoa voluntária quanto à presença ou não de prurido.

- Vesículas ou bolhas. Durante a inspeção visual do antebraço, foi identificada a presença ou não de vesículas.

4.3.7 Aspectos éticos

A pesquisa foi realizada em conformidade com a Resolução no 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde, que dispõe sobre pesquisas envolvendo seres humanos (BRASIL, 2012). O presente projeto foi aprovado pelo

Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de Juiz de Fora (CEP-UFJF) sob Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) 54853421.6.0000.5147 e parecer n. 5.448.480 (Apêndice C).

A coleta de dados foi iniciada somente após aprovação pelo CEP-UFJF e posterior assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelos participantes do estudo, que foi aplicado em duas vias, sendo uma entregue ao participante e a outra arquivada pelo pesquisador responsável. Neste momento foram informados os objetivos da pesquisa assim como os riscos. O anonimato e sigilo sobre as informações coletadas foi garantido a todos os participantes, assim como o esclarecimento do direito de não participar da pesquisa ou de interrompê-la, em qualquer tempo. Os riscos e benefícios com a participação voluntária também foram informados.

4.3.8 Critérios de inclusão

Foram elegíveis pessoas adultas acima de 18 anos e abaixo de 60 anos, de ambos os sexos.

4.3.9 Critérios de exclusão

Foram excluídas pessoas com relato de: doenças infectocontagiosas ou parasitárias, processos infecciosos ou alérgicos aos componentes da formulação, uso de antimicrobianos, imunossuppressores, antialérgicos, corticosteróides e anti-inflamatórios sistêmicos, nos últimos quinze dias; bem como, gestação e amamentação.

4.3.10 Análise estatística

A amostra foi caracterizada epidemiologicamente através da análise de média, frequência e porcentagem.

Para análise estatística das variáveis foi utilizado o *software SPSS (Statistical Package for the Social Science)* versão 29 para *Windows*. A análise da frequência dos efeitos adversos entre os grupos foi realizada através do teste *Qui-quadrado*. Para

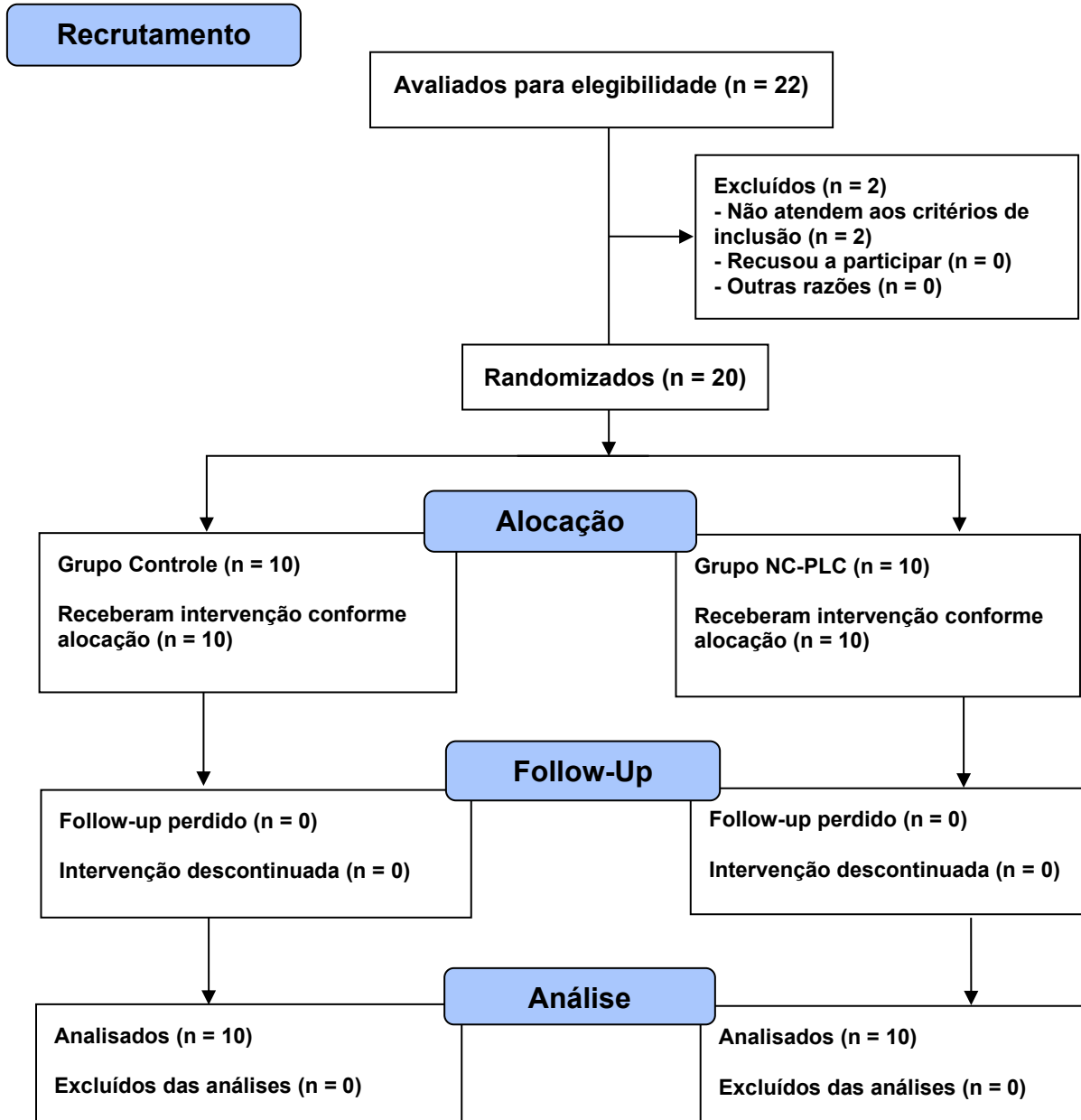
comparações dos exames laboratoriais entre os grupos controle e tratamento, incluindo análise das diferenças apresentadas entre o primeiro e o último dia de coleta de exames após aplicação dos hidrogéis, foi utilizado o teste *t-Student* nas variáveis quantitativas e o teste *Qui-quadrado* nas variáveis qualitativas.

Diferenças entre os grupos foram consideradas estatisticamente significantes quando $p \leq 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este estudo buscou efetivar a realização do teste clínico fase I da aplicação tópica de membranas de nanocelulose bacteriana modificadas com Poli-L-lisina-colesterol (NCB-PLC) e para tanto os voluntários foram alocados aleatoriamente em dois grupos distintos, o grupo Controle, tratado com NCB pura e o grupo NCB-PLC tratado com NCB modificada com Poli-L-Lisina-Colesterol. Para apresentação e análise dos resultados foram seguidas as orientações contidas no *Consolidated Standards of Reporting Trials* (CONSORT), que é um conjunto de critérios que auxilia os autores a aperfeiçoarem a descrição de seus achados por meio do emprego de uma lista de checagem e um diagrama representando o fluxo dos participantes durante cada estágio do estudo (ALTMAN et al., 2001) (Figura 5).

Figura 5 – Fluxograma CONSORT da seleção de voluntários para o estudo clínico.



Fonte: Elaborado pela autora (2022)

A amostra foi constituída de indivíduos saudáveis, entre 18 e 59 anos, de ambos os sexos, que aceitaram participar voluntariamente da pesquisa e que se enquadraram nos critérios de inclusão, totalizando 20 pessoas voluntárias, cuja caracterização (Tabela 2) foi realizada a partir dos dados coletados em formulários no momento da primeira avaliação através do *Google Forms*.

Tabela 2 – Dados demográficos dos voluntários submetidos ao Teste Clínico Fase 1 para análise da segurança de aplicação tópica de NCB-PLC. Minas Gerais, 2023.

Dados Demográficos		
Variáveis	n	%
Idade (anos)		
18-30	7	35
31-59	13	65
Sexo		
Feminino	16	80
Masculino	4	20
Cor da pele		
Branca	12	60
Parda	7	35
Negra	1	5
Estado civil		
Solteiro	14	70
Casado ou em união	5	25
Separado, divorciado ou viúvo	1	5
Escolaridade		
Ensino superior	8	40
Pós-graduação	12	100
Tabagismo		
Nunca	20	100
Ex-tabagista	0	0
Sim	0	0
Consumo de álcool – frequência		
Nunca ou quase nunca	13	65
Pelo menos 1 vez por semana	6	30
Três a cinco vezes na semana	1	5
Todo dia	0	0
Problema de saúde atual		
Não	16	80
Sim	4	20
Internação hospitalar nos 12 meses antecedentes à pesquisa		
Não	19	95
Sim	1	5
História pregressa de doença		
Não	17	85
Sim	3	15
Uso de medicamentos		
Não	9	45
Sim	11	55
História de pressão arterial elevada		
Não	20	100
Sim	0	0
Índice de massa corporal (IMC)		
Baixo peso	1	5
Peso normal	9	45
Sobrepeso	5	25
Obeso	5	25
Integridade da pele do antebraço		
Não	0	0
Sim	20	100
Grupo de tratamento		

NCB-PLC	10	50
Controle	10	50

Fonte: Elaborado pela autora (2022)

Quanto à análise epidemiológica, entre os 20 participantes, a maioria foi constituída por voluntários do sexo feminino. A média de idade foi de 33,6 anos, sendo a idade mínima de 22 anos e a máxima de 29 anos. Quanto à cor da pele, 12 indivíduos foram identificados com a pele branca (60%), 7 indivíduos de cor parda (35%) e 1 (5%) de cor negra. Quanto à escolaridade, 8 voluntários cursavam o ensino superior (40%), 7 (35%) com pós-graduação completa, 2 (10%) com pós-graduação incompleta, 1 (5%) com mestrado incompleto, 1 (5%) com mestrado completo e 1 (5%) com doutorado incompleto.

Os problemas de saúde relatados no momento da realização do teste não se enquadraram como critério de exclusão, onde 4 indivíduos (20%) relataram: mioma uterino, obesidade, disbiose intestinal e transtorno de ansiedade. Quanto ao histórico de internação hospitalar 1 voluntário (5,3%) relatou internação por osteossíntese de fratura de rádio, no ano anterior. Do total dos participantes, 3 indivíduos (15%) relataram doença pregressa de rinite alérgica. Os medicamentos em uso também não se enquadravam nos critérios de exclusão, e foram citados: anticoncepcional oral, reposição hormonal, antidepressivo, ansiolítico, redutor dos níveis de colesterol.

Foi avaliada a presença dos efeitos adversos dor, edema, eritema, dermatite, lesão, ressecamento e descamação, prurido e vesículas ou bolhas. Dentre estas variáveis, os únicos efeitos observados e reportados no local de aplicação das membranas incluíram dermatite e prurido. Foi observada a frequência da ocorrência e após os dados foram analisados pela ocorrência ou não da reação conforme Tabela 3.

Tabela 3 – Ocorrência de efeitos adversos durante o Teste Clínico Fase I. Minas Gerais, 2023.

Alteração	Prurido				Dermatite				p
	Com alteração		Sem alteração		Com alteração		Sem alteração		
	N	%	N	%	N	%	N	%	
NCB-PLC	0	0	10	0	6	60	4	40	0,087

Controle	4	40	6	60	7	70	3	30	1,000
----------	---	----	---	----	---	----	---	----	-------

N = número de participantes.

Teste *Qui-quadrado*, valor de p estatisticamente significante quando $\leq 0,05$.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Do total da amostra 13 indivíduos (65%) apresentaram algum tipo de reação. Após análise estatística com o teste de *Qui-quadrado* verificou-se que estes parâmetros apresentaram valor de p igual a 0,08 (grupo NCB-PLC) e 1,0 (Controle) indicando não haver significância estatística.

A Figura 6 representa a evolução normal típica dos pacientes após a aplicação das membranas. Nenhum voluntário desenvolveu reações adversas aos componentes das membranas utilizadas no decorrer dos testes clínicos, que pudessem ser evidenciadas por algum sinal ou sintoma clínico.

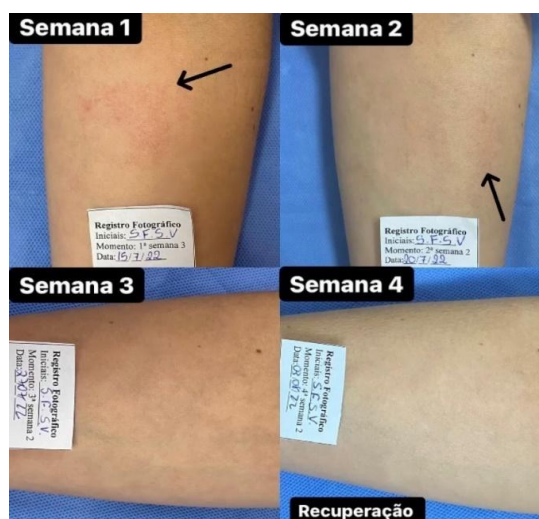
Figura 6 – Evolução típica da aplicação da membrana NCB-PLC ao longo do teste



Fonte: Elaborado pela autora (2022)

Entretanto, foi observado na área adjacente ao local de aplicação do filme de poliuretano, sintomas iniciais de reação alérgica evidenciada por dermatite, totalizando os 13 indivíduos da amostra (65,0%) que apresentaram algum tipo de reação, incluídos tanto no Grupo Controle como no Grupo NCB-PLC (Figura 7), mas que apresentaram regressão após substituição do filme do poliuretano por fita microporosa antialérgica.

Figura 7 – Evolução atípica com sinais de dermatite circunscrita ao filme de poliuretano em grupo Controle e posterior regressão dos sintomas após substituição por fita microporosa hipoalergênica. As setas pretas indicam as áreas afetadas.



Fonte: Elaborado pela autora (2022)

A dermatite de contato irritativa ou alérgica, possui área afetada bem definida e que se correlaciona com a área de exposição. Geralmente é de curta duração e aparece como uma área de eritema, vesícula ou prurido devido a uma resposta imunológica a componentes químicos (MCNICHOL et al., 2013).

Não houve necessidade de atendimento médico em nenhuma das situações observadas. Desta forma, com a regressão dos sintomas após substituição do filme de poliuretano, sugere-se que a irritação observada está mais relacionada à substância adesiva do que à membrana de NCB-PLC. Estes dados corroboram com outros estudos que evidenciaram reação alérgica ao filme de poliuretano como um dado não relacionado ao objetivo da pesquisa desenvolvida (MIRASTSCHIJSKI et al., 2020; SILVEIRA et al., 2010). Concluindo o suposto, a análise estatística comprova a não relevância dos achados conforme valor de $p \leq 0,05$ encontrado (Tabela 3).

Os achados relacionados a aplicação tópica das membranas estão de acordo com os resultados encontrados em um teste de segurança clínica utilizando uma membrana de NCB modificada desenvolvido por Napavichayanun, Yamdech e Aramwit (2016), onde indivíduos com pele íntegra foram submetidos à aplicação de uma membrana de NCB incorporada com sericina e polihexametileno biguanida e ficou comprovado que a membrana era segura e não irritante para a pele.

Para avaliação de alterações sistêmicas, foram coletadas amostras de sangue e urina dos 20 voluntários antes das aplicações das membranas (D1) e 30 dias após a aplicação das membranas (D30). Em ambas as coletas foram realizados os seguintes exames: urina, hemograma, plaquetas, PCR, glicemia, proteínas, albumina, TGO, TGP, GamaGT, fosfatase, uréia, creatinina, bilirrubina, cálcio, fósforo, cloreto, sódio, potássio. Os dados foram organizados e analisados de acordo com os valores laboratoriais de referência do laboratório responsável pela coleta (dados quantitativos/qualitativos).

A Tabela 4 apresenta a média dos valores encontrados de hemograma, plaquetas, glicemia de jejum, albumina, proteínas totais, TGO, TGP, GamaGT, uréia, creatinina, cálcio, fósforo, cloreto, sódio, potássio e ph e densidade da urina de todos os participantes na coleta que antecedeu a aplicação das membranas (D1).

Tabela 4 – Resultados de exames laboratoriais dos voluntários do Teste Clínico Fase I encontrados em D1, entre grupos. Minas Gerais, 2023.

Exame laboratorial	NCB-PLC		Controle		p
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
Hemácia	4,5	0,3	4,6	0,2	0,78
Hemoglobina	13,3	0,9	13,5	0,6	0,47
Hematócrito	40,0	2,7	40,7	2,3	0,56
VCM	87,0	2,8	88,5	2,6	0,23
HCM	28,9	1,0	29,5	0,7	0,17
CHCM	33,2	0,2	33,3	0,4	0,53
Leucócitos	6770,0	1329,2	6740,0	1389,0	0,96
Segmentados	54,6	9,4	61,0	8,2	0,12
Eosinófilos	1,7	0,6	1,5	0,5	0,47
Basófilos	0,0	0,0	0,0	0,0	-
Linfócitos	38,6	9,5	32,8	7,9	0,15
Monócitos	5,1	0,3	4,7	0,4	0,04**
Plaquetas	249700,0	55443,7	242000,0	60435,4	0,77
Glicemia	87,4	8,4	87,4	5,1	1,00
Albumina	4,5	0,3	4,6	0,1	0,61
Proteínas totais	7,3	0,5	7,3	0,2	1,00
TGO	21,5	17,1	19,5	7,8	0,74

TGP	29,4	40,5	16,1	11,5	0,34
GamaGT	20,6	6,9	22,6	14,0	0,69
Fosfatase	74,8	12,1	69,8	13,3	0,39
Ureia	28,8	5,9	28,2	8,2	0,85
Creatinina	0,8	0,0	0,7	0,0	0,11
Bilirrubina	0,8	0,4	0,9	0,2	0,63
Cálcio	9,1	0,3	9,1	0,2	0,72
Fósforo	3,5	0,4	3,8	0,4	0,24
Cloreto	103,2	1,3	103,5	1,8	0,68
Sódio	137,8	1,4	138,4	2,0	0,45
Potássio	5,2	0,8	5,1	0,6	0,74
pH Urina	5,9	0,5	6,1	0,5	0,44
Densidade Urina	1017,0	8,2	1015,5	8,3	0,69

** $p \leq 0,05$ teste *t-Student* (entre os grupos Controle vs. NCB-PLC).

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Após análise estatística com o teste *t-Student* verificou-se que o único valor divergente entre o grupo NCB-PLC e o grupo Controle na coleta de D1 foi do resultado de monócitos onde o valor de p foi de 0,04 indicando haver significância estatística. Os monócitos são células que participam do sistema imune inato, estando presentes nas respostas inflamatórias, sejam essas provocadas por agentes patogênicos infecciosos ou por agentes agressores não transmissíveis (MEDBURY et al., 2018). No entanto, os valores dos resultados laboratoriais de todos os participantes nesta coleta, encontram-se dentro dos padrões da normalidade utilizados como referência pelo laboratório responsável pela coleta dos exames (entre 4 e 10% conforme ANEXO B), demonstrando similaridade entre os voluntários nos dois grupos.

Em relação ao teste de Proteína C Reativa (PCR) e aos exames de urina de cetonas, proteína, substâncias redutoras, hemácias, leucócitos, microbiota e alterações, o resultado foi analisado quanto à presença ou ausência de alteração e, portanto, de forma dicotômica, onde a análise é realizada considerando-se duas variáveis possíveis como demonstrado na Tabela 5.

Tabela 5 – Resultados de exames laboratoriais (avaliação dicotômica) dos voluntários do Teste Clínico Fase I encontrados em D1, entre grupos. Minas Gerais, 2023.

Exame laboratorial	NCB-PLC		Controle		p
	N Sem alteração	%	N Sem alteração	%	
PCR	9	90	9	90	1,00
Cetonas urina	10	100	10	100	-
Substâncias reductoras urina	10	100	10	100	-
Proteína urina	10	100	10	100	-
Hemácias urina	10	100	09	90	1,00
Leucócitos urina	8	80	9	90	1,00
Microbiota urina	8	80	9	90	1,00
Alteração urina	5	50	8	80	0,35

N = número de participantes

Teste *Qui-quadrado*, valor de p estatisticamente significativo quando $\leq 0,05$.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Os mesmos exames laboratoriais foram repetidos após 30 dias de aplicação das membranas para avaliação da ocorrência de alterações e os valores estão descritos na Tabela 6.

Tabela 6 – Resultados de exames laboratoriais dos voluntários do Teste Clínico Fase I encontrados em D30, entre grupos. Minas Gerais, 2023.

Exame laboratorial	NCB-PLC		Controle		p
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
Hemácia	4,7	0,4	4,7	0,4	0,88
Hemoglobina	13,5	0,8	13,7	1,0	0,69
Hematócrito	40,2	2,6	40,7	3,1	0,79
VCM	85,8	5,9	86,1	5,8	0,91
HCM	28,8	2,1	49,0	63,0	0,32
CHCM	33,6	0,5	33,6	0,7	0,78
Leucócitos	7321,0	2712,0	7134,0	1146,9	0,84

Segmentados	51,9	9,1	61,0	9,2	0,04**
Eosinófilos	3,1	2,0	2,1	1,6	0,24
Basófilos	0,44	0,4	0,39	0,2	0,73
Linfócitos	36,8	7,8	30,6	8,2	0,10
Monócitos	7,4	3,4	5,7	1,2	0,16
Plaquetas	306300,0	76353,0	270400,0	62875,8	0,26
Glicemia	87,4	7,0	82,0	6,7	0,09
Albumina	4,5	0,2	4,5	0,1	0,72
Proteínas totais	6,5	2,2	7,1	0,3	0,42
TGO	20,4	7,8	19,6	8,6	0,83
TGP	20,7	8,8	19,5	9,9	0,77
GamaGT	28,9	18,0	27,7	18,5	0,88
Fosfatase	75,1	13,8	67,0	9,1	0,14
Ureia	31,1	7,8	31,3	7,8	0,95
Creatinina	0,7	0,1	0,6	0,1	0,22
Bilirrubina	0,3	0,1	0,4	0,1	0,13
Cálcio	8,9	0,3	8,9	0,2	0,80
Fósforo	3,5	0,4	3,9	0,4	0,09
Cloreto	105,0	1,8	104,9	0,8	0,88
Sódio	137,5	1,9	137,8	0,9	0,66
Potássio	4,0	0,3	4,0	0,5	0,80
pH Urina	5,9	0,2	5,8	0,2	0,63
Densidade Urina	1023,5	7,0	1024,0	6,1	0,86

** $p \leq 0,05$ teste *t-Student* (entre os grupos Controle vs. NCB-PLC).

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Após análise estatística utilizando-se do teste *t-Student* notou-se relevância estatística entre o grupo NCB-PLC e Controle na média do exame de neutrófilos segmentados, onde o valor de p foi de 0,04. Essas células representam os leucócitos mais abundantes na circulação sanguínea periférica de um indivíduo adulto sadio e normalmente apresentam-se elevadas na presença de infecção bacteriana (HONDA et al., 2016). No entanto, os exames que apresentaram discreta alteração fora do padrão de normalidade utilizado como referência pelo laboratório responsável pela coleta dos exames (inferior a 70%), estão relacionados a voluntários do grupo controle.

Os demais exames realizados de PCR e exames de urina de cetonas, proteína, substâncias redutoras, hemácias, leucócitos, microbiota e alterações, realizados em D30 e analisados de forma dicotômica, estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Resultados de exames laboratoriais (avaliação dicotômica) dos voluntários do Teste Clínico Fase I encontrados em D30, entre grupos. Minas Gerais, 2023.

Exame laboratorial	NCB-PLC		Controle		p
	N Sem alteração	%	N Sem alteração	%	
PCR	7	70	10	100	0,21
Bastonete	9	90	10	100	1,00
Cetonas urina	10	100	10	100	-
Substâncias reductoras urina	10	100	10	100	-
Proteína urina	9	90	9	90	1,00
Hemácias urina	9	90	8	80	1,00
Microbiota urina	9	90	10	100	1,00
Alteração urina	7	70	10	100	0,21

N = número de participantes

Teste *Qui-quadrado*, valor de p estatisticamente significativo quando $\leq 0,05$.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

AS Tabelas 8 e 9 apresentam os resultados da análise estatística referente a comparação de resultados dos exames entre D1 e D30 por grupo.

Tabela 8 – Resultados de exames laboratoriais dos voluntários do Teste Clínico Fase I encontrados entre D1 e D30 por grupo. Minas Gerais, 2023.

Exame laboratorial	NCB-PLC				Controle			
	D1		D30		D1		D30	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Hemácia	4,5	0,3	4,7	0,4	4,7	0,4	4,7	0,4
Hemoglobina	13,3	0,9	13,5	0,8	13,7	1,0	13,7	1,0
Hematócrito	40,0	2,7	40,4	2,6	40,8	3,1	40,7	3,1
VCM	87,0	2,8	85,8	5,9	85,8	5,3	86,1	5,8
HCM	28,9	1,0	28,8	2,1	48,9	63,0	49,0	63,0
CHCM	33,2	0,2	33,6	0,5	33,6	0,7	33,6	0,7

Leucócitos	6770,0	1329,2	7321,0	2712,0	6998,0	1270,2	7134,0	1146,9
Segmentados	54,6	9,4	51,9	9,1	60,7	9,6	61,1	9,2
Bastonetes	0,0	0,0	0,1	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0
Eosinófilos	1,7	0,6	3,1	2,0*	1,8	1,2	2,1	1,6
Basófilos	0,0	0,0	0,4	0,4*	0,3	0,2	0,3	0,2
Linfócitos	38,6	9,5	36,8	7,8	31,2	9,3	30,6	8,2
Monócitos	5,1	0,3	7,4	3,4*	5,7	1,2	5,7	1,2
Plaquetas	249700,0	55443,7	306300,0	76353,0	265300,0	67092,0	270400,0	62875,8
Glicemia	87,4	8,4	87,4	7	82,4	6,7	82,0	6,7
Albumina	4,5	0,3	4,5	0,2	4,6	0,1	4,5	0,1
Proteínas	7,3	0,5	6,5	2,2	7,1	0,2	7,1	0,3
totais								
TGO	21,5	17,1	20,4	7,8	20,5	7,9	19,6	8,6
TGP	29,4	40,5	20,7	8,8	19,1	10,2	19,5	9,9
GamaGT	20,6	6,9	28,9	18,0	27,7	18,5	27,7	18,5
Fosfatase	74,8	12,1	75,1	13,8	67,9	9,3	67,0	9,1
Ureia	28,8	5,9	31,1	7,8	29,0	8,6	31,3	7,8
Creatinina	0,8	0,0	0,7	0,1	0,6	0,1	0,6	0,1
Bilirrubina	0,8	0,4	0,3	0,1*	0,5	0,1	0,4	0,1
Cálcio	9,1	0,3	8,9	0,3	8,9	0,2	8,9	0,2
Fósforo	3,5	0,4	3,5	0,4	3,8	0,4	3,9	0,4
Cloreto	103,2	1,3	105,0	1,8*	104,5	1,1	104,9	0,8
Sódio	137,8	1,4	137,5	1,9	137,6	1,0	137,8	0,9
Potássio	5,2	0,8	4,0	0,2*	4,2	0,6	4,0	0,3
pH Urina	5,9	0,5	5,9	0,5	5,7	0,3	5,8	0,2
Densidade	1017,0	8,2	1023,5	7,0	1023,5	5,7	1024,0	6,1
Urina								

* $p \leq 0,05$ teste *t-Student* (dentro de cada grupo D1 vs. D30).

Fonte: Elaborado pela autora (2022)

Tabela 9 – Resultados de exames laboratoriais (avaliação dicotômica) dos voluntários do Teste Clínico Fase I encontrados entre D1 e D30 por grupo. Minas Gerais, 2023.

Exame laboratorial	NCB-PLC				Controle			
	D1		D30		D1		D30	
	N sem alteração	%	N sem alteração	%	N sem alteração	%	N sem alteração	%
PCR	9	90	7	70	10	100	10	100

Cetonas urina	10	100	10	100	10	100	10	100
Substâncias reductoras urina	10	100	10	100	10	100	10	100
Proteína urina	10	100	10	100	10	100	10	100
Hemácias urina	10	100	9	90	9	90	9	90
Leucócitos urina	8	80	9	90	8	80	8	80
Microbiota urina	8	80	9	90	10	100	10	100
Alteração urina	5	50	7	70	10	100	10	100

N = número de participantes.

* $p \leq 0,05$ Teste *Qui-quadrado* (dentro de cada grupo D1 vs. D30).

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Após análise comparativa entre os exames (hemograma, perfil bioquímico e urinálise) antes e após a aplicação das membranas, notou-se em alguns valores laboratoriais no grupo NCB-PLC discreta alteração. Porém nenhum indivíduo apresentou qualquer resultado que representasse relevância clínica.

Os resultados de eosinófilos ($p=0,04$), basófilos ($p=0,007$) e cloreto ($p=0,02$) apresentaram $p \leq 0,05$. Os eosinófilos desempenham papel importante de células tanto efetoras como imunomoduladoras em doenças alérgicas e na defesa contra patógenos (WELLER; SPENCER, 2017); os basófilos estão incluídos nos mecanismos imunológicos de parasitoses e processos alérgicos (KOROSEC et al., 2017); os cloretos possuem papel fundamental na distribuição de água no organismo e penetram na célula para manter o balanço hidroeletrólítico (SILVA JUNIOR et al., 2009). Porém todos os resultados destes exames laboratoriais dos participantes do grupo NCB-PLC, estão incluídos no intervalo de normalidade utilizados como referência pelo laboratório.

Quanto aos monócitos ($p=0,04$) o único indivíduo do grupo NCB-PLC que apresentou elevação discreta no resultado do exame em D30 quando comparado ao valor de referência utilizado pelo laboratório responsável pela coleta (entre 4 e 10%), relatou condições clínicas de saúde não relacionadas ao estudo.

Os valores de bilirrubina ($p=0,003$) e potássio ($p=0,004$) referem-se a alguns resultados de exames laboratoriais de participantes do grupo NCB-PLC discretamente elevados de acordo com o valor de referência utilizado pelo laboratório (bilirrubina 0,3

a 1,2% e potássio 3,5 a 5,1 %). A bilirrubina é um produto do catabolismo da hemoglobina e demais hemoproteínas, alterações laboratoriais envolvendo este marcador estão relacionadas a disfunções hepáticas (MUNHOZ et al., 2012); o potássio é um mineral presente no sangue e está relacionado a funcionalidade muscular normal de um indivíduo, seu excesso pode ocasionar problemas cardíacos, vasculares e hipercalemia (GALLARDO; GUTIERREZ, 2016). Porém estes resultados ocorreram na coleta de exames de D1, que antecedeu a aplicação das membranas e, portanto, não estão relacionados a aplicação da membrana de NCB-PLC.

Os resultados encontrados estão de acordo com Mirastschijski et al. (2020) que em um ensaio clínico fase I envolvendo um curativo inovador à base de surfactante pulmonar bovino, relatou ausência de efeitos adversos em pele íntegra e sistêmicos. No desenvolvimento desta pesquisa houve descrição de um indivíduo com alteração no valor de transaminase glutâmico-oxalacética (TGO), porém não relacionado ao teste clínico; além da ocorrência de evento adverso de alergia relacionada ao uso do adesivo no local de fixação do curativo. Ambos achados classificados como não relacionados ao desenvolvimento do estudo.

6 CONCLUSÕES

A primeira etapa para a comprovação da segurança da aplicação de um produto tópico em seres humanos é realizada através de um teste clínico fase I. A pesquisa desenvolvida comprova a possibilidade da aplicação das membranas de nanocelulose bacteriana (NCB) incorporadas com Poli-L-Lisina-Colesterol (PLC) de forma segura e o seu potencial uso como uma cobertura inovadora para o tratamento de feridas. A NCB-PLC vem sendo estudada de forma inédita na literatura e apresenta características que a tornam uma membrana cicatrizante promissora e com baixos custos.

As membranas de NCB foram preparadas, incorporadas com PLC e aplicadas pelo período de 30 dias em indivíduos saudáveis. Nenhum voluntário desenvolveu qualquer sinal ou sintoma de alergia relacionado a NCB-PLC. A pele no local de aplicação manteve-se íntegra. A evidência de reação alérgica nos indivíduos na fase inicial do teste clínico está relacionada ao uso do filme de poliuretano, utilizado a princípio na aplicação das membranas e foi comprovada pela resolução dos sinais e sintomas a partir da alteração da cobertura adesiva. Os resultados de análise das variáveis de efeitos adversos da aplicação das membranas de NCB-PLC, evidenciam ausência de relevância estatística.

Os exames laboratoriais foram coletados antes da aplicação das membranas e 30 dias após. Quanto a análise estatística dos resultados dos exames de hemograma, testes bioquímicos e urinálise, os casos em que foram observados valores alterados, não apresentam relevância clínica pois enquadram-se nos valores de referência. As alterações dos resultados dos exames que se encontram fora dos parâmetros de referência, estão relacionadas à sintomas relatados pelo voluntário no dia da coleta dos exames não relacionados à pesquisa ou resultados de exames alterados na coleta que antecedeu a aplicação de NCB-PLC, portanto não há correlação com a aplicação da membrana.

Nenhum voluntário apresentou reação cutânea ou alteração de exames laboratoriais que indicasse atendimento médico.

Durante o desenvolvimento da pesquisa e análise da literatura disponível, observou-se a escassez de estudos de teste clínico de fase I com membranas de NCB modificadas.

Torna-se necessário dar continuidade ao desenvolvimento do estudo com a realização do teste clínico fase II com a aplicação da membrana em indivíduos com lesão de pele. Com as aplicações clínicas positivamente comprovadas, uma parcela da nossa população poderá ser beneficiada pela disponibilidade de uma forma terapêutica inovadora para lesões cutâneas.

REFERÊNCIAS

- ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução da diretoria colegiada- RDC Nº 9 de 20 de fevereiro de 2015**. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3503972/RDC_09_2015_COMP.pdf. Acesso em: 01 ago. 2022.
- ALTMAN, D.G., et al. The revised CONSORT statement for reporting randomized trials: explanation and elaboration. *Ann. intern. Med*, 134: 663-94, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11304107/>. Acesso em: 02 ago. 2022.
- BADIN, A. Z. D. *et al.* Membrana porosa de celulose no tratamento de queimaduras. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, Curitiba, v. 36, n. 1, p.94-97, dez. 2007. Disponível em: <http://www.acm.org.br/revista/pdf/artigos/436.pdf>. Acesso em: 28 jul. 2022.
- BEDOYA, J. G. M. **Biomaterial a base de celulose bacteriana com aplicação na regeneração de tecido cutâneo**. 2019. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Faculdade de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2019. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/181141/bedoya_jgm_me_araiq_int.pdf?sequence=3&isAllowed=y. Acesso em: 28 jun. 2022.
- BELDA JÚNIOR, W.; CHIACCHIO, N. di.; CRIADO, P. R. **Tratado de Dermatologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2014.
- BOTELHO, G. S. V. et al. **Tradução, adaptação transcultural e validação do checklist SPIRIT® para a língua portuguesa falada no Brasil: um estudo qualitativo**. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/31271/4/Tradu%c3%a7%c3%a3oAdapta%c3%a7%c3%a3oTranscultural.pdf>. Acesso em: 28 jun. 2022.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos**. Brasília, 1997. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2013/res0466_12_12_2012.html. Acesso em: 10 out. 2021.
- BRASIL. Resolução CNS nº 466, de 12 de dezembro de 2012. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 12, p. 59, 13 de jun. 2013. Disponível em: <https://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>. Acesso em: 10 out. 2021.
- BROWN, A. J. XLIII - On an acetic ferment which forms cellulose. **Journal of the Chemical Society, Transactions**, v. 49, n. 0, p. 432-439, 1886. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/1886/ct/ct8864900432>. Acesso em: 12 ago. 2022.

CACICEDO, M. L. et al. Progress in bacterial cellulose matrices for biotechnological applications. **Bioresource Technology**, v. 213, p. 172-180, ago. 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26927233>. Acesso em: 27 mai. 2022.

COFEN – Conselho Federal de Enfermagem. **Resolução COFEN 358-2009**. Dispõe sobre a Sistematização da Assistência de Enfermagem e a Implementação do Processo de Enfermagem em ambientes, públicos ou privados, em que ocorre o cuidado profissional de Enfermagem, e dá outras providências. Brasília-DF, 2009. Disponível em: http://www.cofen.gov.br/resoluo-cofen-3582009_4384.html. Acesso em: 02 jun. 2022.

COLLI, T. C. **Modificações na nanocelulose bacteriana para aplicação no tratamento de feridas**: uma revisão integrativa. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Enfermagem) – Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2022.

DONINI, Í. A. N. et al. Biossíntese e recentes avanços na produção de celulose bacteriana. **Eclética Química**, [s.l.], v. 35, n. 4, p. 165-178, dez. 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-46702010000400021>. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-46702010000400021. Acesso em: 27 maio 2022.

DWIVEDI, C.; PANDEY, H. C.; PANDEY, A. W.; RAMTEKE, P. Nanofibrebased smart pharmaceutical scaffolds for wound repair and regenerations. **Current pharmaceutical design**, v. 22, n. 11, p. 1460-1471, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26666999/>. Acesso em: 01 ago. 2022.

FISCHER, M. R. et al. Biossíntese e caracterização de nanocelulose bacteriana para engenharia de tecidos. **Matéria**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 1, p.1-17, jan. 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rmat/v22s1/1517-7076-rmat-22-suppl-e11934.pdf>. Acesso em: 28 jul. 2022.

FOHN, M. E.; BANNASCH, H. Artificial skin. **Methods Mol Med**, v. 140, p. 167-182, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18085209/>. Acesso em: 01 jul. 2022.

FORESTI, M.I.; VÁZQUEZ, A.; BOURY, B. Applications of bacterial cellulose as precursor of carbon and composites with metal oxide, metal sulfide and metal nanoparticles: a review of recent advances. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 447-467, fev. 2017. Disponível em: https://journals.scholarsportal.info/details/01448617/v157icomplete/447_aobcapnarora.xml&sub=all. Acesso em: 01 ago. 2022.

FU, L. et al. Evaluation of bacterial nanocellulose-based uniform wound dressing for large area skin transplantation. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl**, v. 33, n. 5, p. 2995-3000, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23623124/>. Acesso em: 01 jul. 2022.

FU, L.; ZHANG, J.; YANG, G. Present status and applications of bacterial cellulose-based materials for skin tissue repair. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p.1432-

1442, fev. 2013. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861712010995>. Acesso em: 10 ago. 2022.

GALLARDO, C. E. T.; GUTIERREZ, F. E. C. **Comportamiento de urea, creatinina, sodio y potasio en pacientes con enfermedad renal pre-post hemodiálisis en el Hospital General Enrique Garcés en el período de Octubre-Diciembre del 2016.**

2018. Dissertação - Quito: Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Médicas, Carrera de Laboratorio Clínico e Histotecnológico. 2018. Disponível em: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/15899>. Acesso em: 2 jun. 2023.

GUIMARÃES, L. S. P. et al. Os principais delineamentos na Epidemiologia – Ensaio Clínicos (Parte II). **Clin Biomed Res**. v. 33, n. 3/4, p. 295 – 302, 2014. Disponível em: <https://www.seer.ufrgs.br/index.php/hcpa/article/view/44657>. Acesso em: 5 ago. 2022.

HONDA, T. et al. Neutrophil left shift and white blood cell count as markers of bacterial infection. **Clin Chim Acta**. v. 547, n. 1, p. 46-53, jun. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009898116301024>. Acesso em: 1 jun. 2023.

JUNQUEIRA, L.; CARNEIRO, J. Pele e anexos. **Histologia Básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 359-370.

KHALID, A. et al. Bacterial cellulose-zinc oxide nanocomposites as a novel dressing system for burn wounds. **Carbohydrate Polymers**. v. 164, p. 214-221, mai. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861717300723>. Acesso em: 20 mai. 2022.

KOROSEC, P. et al. Basophils, high-affinity IgE receptors, and CCL2 in human anaphylaxis. **J Allergy Clin Immunol**. v. 140, n. 3, p. 750-758, mar. 2017. Disponível em: [https://www.jacionline.org/article/S0091-6749\(17\)30423-2/fulltext](https://www.jacionline.org/article/S0091-6749(17)30423-2/fulltext). Acesso em: 2 jun. 2023.

LAI-CHEONG, J. E.; MCGRATH, J. A. Structure and function of skin, hair and nails. **Medicine**, v. 45, n. 6, p. 347-351, jun. 2017. Disponível em: [https://www.medicinejournal.co.uk/article/S1357-3039\(17\)30069-5/abstract](https://www.medicinejournal.co.uk/article/S1357-3039(17)30069-5/abstract). Acesso em: 20 mai. 2022.

LEE, K. Y. et al. More Than Meets the Eye in Bacterial Cellulose: biosynthesis, bioprocessing, and applications in advanced fiber composites: Biosynthesis, Bioprocessing, and Applications in Advanced Fiber Composites. **Macromolecular Bioscience**, v. 14, n. 1, p. 10-32, jul. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23897676>. Acesso em: 27 jun. 2022.

MCNICHOL, L.; LUND, C.; ROSEN, T.; GRAY, M. Medical adhesives and patient safety: state of the science. **Jornaul of Wound Ostomy & Continence Nurs.**,

vol.32, n. 5, p. 267-281, set./out. 2013. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24792978>. Acesso em: 28 mai. 2022.

MEDBURY, H. J. et al. Monocytes contribute to the atherosclerotic cap by transformation into fibrocytes. **Int Angiol.** v. 27, n. 14, p. 114-123, apr. 2008.

Disponível em:

<https://www.proquest.com/openview/8ee7e17b724adbaf86df332c5b273776/1?pq-origsite=gscholar&cbl=46530>. Acesso em: 01 jun. 2023.

MIRASTSCHIJSKI, U. et al. Lung Surfactant Accelerates Skin Wound Healing: A Translational Study with a Randomized Clinical Phase I Study. **Sci Rep**, v. 10, n. 1, fev. 2020. Disponível em:

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7018835/pdf/41598_2020_Article_59394.pdf. Acesso em: 1 jun. 2023.

MORITZ, S. *et al.* Active wound dressings based on bacterial nanocellulose as drug delivery system for octenidine. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 471, n. 2, p.45-55, ago. 2014. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24792978>. Acesso em: 28 mai. 2022.

MUNHOZ, B. Z. et al. Investigação de icterícia. **Acta méd**, v. 33, n. 1, dez. 2012.

Disponível em: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/03/881609/investigacao-de-ictericia.pdf>. Acesso em: 1 jun. 2023.

NAPAVICHAYANUN, S.; YAMDECH, R.; ARAMWIT, P. The safety and efficacy of bacterial nanocellulose wound dressing incorporating sericin and polyhexamethylene biguanide: in vitro, in vivo and clinical studies. **Archives Of Dermatological Research**, v. 308, n. 2, p. 123-132, jan. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00403-016-1621-3>. Acesso em: 30 mai. 2023.

OSÓRIO, M. *et al.* Development of novel three-dimensional scaffolds based on bacterial nanocellulose for tissue engineering and regenerative medicine: Effect of processing methods, pore size, and surface area. **Journal Of Biomedical Materials Research Part A**, [s.l.], v. 107, n. 2, p.348-359, nov. 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jbm.a.36532>. Acesso em: 28 jul. 2022.

PEDROZA, T. M. **Aplicação da membrana de biocelulose embebida em ciprofloxacina na ceratoplastia lamelar**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2019. Disponível em:

https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/183353/pedroza_tm_me_araca_int.pdf?sequence=13&isAllowed=y. Acesso em: 20 maio 2022.

PEIXOTO, R. S.; SANTOS, D. L. N. Biofill: uso e avaliação clínica de uma película celulósica em lesões cutâneas. **Rev Bras Cir**, v. 78, n. 2, p. 141-145, 1988.

PINTO, A. M. C. **Modificação in situ e ex situ da celulose bacteriana: efeito da composição do meio de cultura no seu rendimento e propriedades**. 2013. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biológica) - Faculdade de Engenharia

Biológica, Universidade do Minho, Guimarães, 2013. Disponível em: <http://repositorium.sdum.uminho.pt/handle/1822/35315>. Acesso em: 27 abr. 2020.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, A. M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, v. 38, n. 7, p. 957-971, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150094>. Acesso em: 28 ago. 2022.

PITANGUY, I.; SALGADO, F.; MARACAJÁ, P. F. Utilização de película de celulose (Biofill) como curativo biológico. **Rev Bras Cir**, v. 78, n. 5, p. 317-326, 1988.

PITTELLA, C. Q. P. **Desenvolvimento de scaffold de nanocelulose bacteriana com modificação de superfície para aplicações tópicas**. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2017.

PITTELLA, C. Q. P.; PORTO, L. M. Application of bacterial nanocellulose membranes for epithelial tissue repair. **Revista de Enfermagem da UFJF**, Juiz de Fora, v. 1, n. 2, p. 223-232, dez. 2016. Disponível em: <https://periodicos.ufjf.br/index.php/enfermagem/article/view/3809/1582>. Acesso em: 02 maio 2022.

PORTELA, R. et al. Bacterial cellulose: a versatile biopolymer for wound dressing applications. **Microbial Biotechnology**, v. 12, n. 4, p. 586-610, mar. 2019. Disponível em: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1751-7915.13392>. Acesso em: 20 jun 2022.

RECOUVREUX, D. O. S.; RAMBO, C. R.; BERTI, F. V.; CARMINATTI, C. A.; ANTÔNIO, R. V.; PORTO, L. M. Novel three-dimensional cocoon-like hydrogels for soft tissue regeneration. **Materials Science and Engineering: C**, v. 31, n. 2, p.151-157, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493110001852>. Acesso em: 01 jul. 2022.

SAIBUATONG, O. A.; PHISALAPHONG, M. Novo aloe vera–bacterial cellulose composite film from biosynthesis. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 2, p. 455-460, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861709004949>. Acesso em: 01 jul. 2022.

SAMPAIO, W. C.; CARVALHO, L. A. N.; CARNEIRO, M. L. B. Avanços no desenvolvimento de biomateriais visando tratamento de feridas crônicas. **Hegemonia**, n. 25 (especial), p. 70 – 105, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.47695/hegemonia.vi25.252>. Acesso em: 05 jun. 2022.

SILVA, M. M. P. *et al.* The use of nanoparticles in wound treatment: a systematic review. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 51, p.1-10, jan. 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0080-62342017000100804. Acesso em: 28 jun. 2022.

SILVA JUNIOR, J. M. et al. Importância da hiperclotemia no intraoperatório. **Rev Bras Anestesiol**, v. 59, n. 3, p. 304-313, mai. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0034-70942009000300005>. Acesso em: 29 mai. 2023.

SILVEIRA, R. C. C. P. et al. O uso do filme transparente de poliuretano no cateter venoso central de longa permanência. **Rev. Latino-Am. Enfermagem**, v.18, n. 6, nov.-dez. 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rlae/a/nvxTLXgfnxQMm3whC6JDYtd/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 29 jun. 2023.

SOUSA, C. R. S. et al. Nanotecnologia e Nanociência: considerações histórica e interdisciplinar. **Hegemonia**, n. 25, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.47695/hegemonia.vi25.255>. Acesso em: 23 jul. 2022
SAIBUATONG, O.-A.; PHISALAPHONG, M. Novo aloe vera–bacterial cellulose composite film from biosynthesis. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 2, p. 455-460, 2010.

STUMPF, T. R. et al. In situ and ex situ modifications of bacterial cellulose for applications in tissue engineering. **Materials Science and Engineering: C**. v. 82, p. 372–383, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493116323748>. Acesso em: 01 jul. 2022.

TEIXEIRA, D. I. E. **Produção e caracterização de Nanocelulose Bacteriana extraída de Rhizobium leguminosarum**. 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade de Trás os montes e Alto Douro, Vila Real, 2016. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/6f66/0b0517086a64d8feef3e089e53a0d2725507>. Acesso em: 27 jun. 2022.

VASSALO, N. M. C. P. C. **Aplicações Biomédicas da Celulose Bacteriana**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2019. Disponível em: <http://recil.grupolusofona.pt/handle/10437/10072>. Acesso em: 20 maio 2022.

VITÓRIA, E. M. **Análise de atividade cicatrizante de membranas de nanocelulose bacteriana modificadas com Poli-L-Lisina-Colesterol**: teste pré-clínico in vivo. 2023. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) - Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2023.

WELLER, P. F.; SPENCER, L. A. Functions of tissue-resident eosinophils. **Nat Rev Immunol**, v. 17, n. 12, p. 746-760, dez. 2017. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/53211/10/Tese_BonjourK2019_Final.pdf. Acesso em: 1 jun. 2023.

ZANOTI, M. D. U. **Membranas de Celulose Bacteriana com anti-inflamatório Ibuprofeno para o tratamento de feridas crônicas**. 2017. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Faculdade de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara,

2017. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/148880>. Acesso em: 20 mai. 2022.

ZUCCHETI, C.; MORRONE, F. B. Perfil da pesquisa clínica no Brasil. **Rev HCPA**, Rio Grande do Sul, v. 32, n. 3, p. 340 – 347, 2012. Disponível em: <https://seer.ufrgs.br/index.php/hcpa/article/view/25263/22046>. Acesso em: 01. jul. 2022.

APÊNDICE A - Protocolo de Cegamento do Estudo

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM

Juiz de Fora, 08 de julho de 2022

Avaliação da segurança de aplicação de membranas de Nanocelulose bacteriana modificadas: ensaio clínico fase 1

PROTOCOLO DE CEGAMENTO DO ESTUDO

O mascaramento ou cegamento serve para minimizar o viés de informação – quando os sujeitos sabem a intervenção tendem a registrar melhores desfechos para a intervenção nova. O presente estudo trata-se de um ensaio triplo cego – nem os pesquisadores, nem os voluntários e nem o estatístico saberão qual tipo de membrana (controle ou BNC-PLC) foi aplicada dos respectivos voluntários.

Desta forma, você foi escolhido para colaborar com esta pesquisa clínica fazendo o seu cegamento, ou seja, atribuindo códigos (grupo A ou grupo B) aos grupos de tratamento. Esta informação deve ser sigilosa e você só poderá revelar os grupos mediante solicitação dos pesquisadores responsáveis pela pesquisa.

Os dois grupos de tratamento são: Membranas de Nanocelulose bacteriana pura (BNC) e membranas de Nanocelulose incorporadas com Poli-L-Lisina-Colesterol (BNC-PLC).

<u>Grupo de tratamento</u>	<u>Código</u>
<u>BNC (controle)</u>	
<u>BNC-PLC (tratamento)</u>	

Muito obrigada pela sua colaboração.

Camila Quinetti Paes Pittella e Thiago César Nascimento
(Pesquisadores responsáveis pelo estudo)

APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO/BIORREPOSITÓRIO

O Sr. (a) está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa “ESTUDO DA SEGURANÇA DE APLICAÇÃO TÓPICA DE MEMBRANAS DE NANOCELULOSE BACTERIANA MODIFICADAS COM POLI-L-LISINA-COLESTEROL: TESTE CLÍNICO FASE 1”. Este estudo clínico de fase I está sendo realizado para avaliar um novo tratamento de feridas de pele, desenvolvido por pesquisadores da Universidade Federal de Juiz de Fora/MG. O material em teste é uma membrana temporária potencializadora da cicatrização, formada por um hidrogel de nanocelulose bacteriana compósito com Poli-l-lisina-colesterol, um polímero adesivo. Trata-se de um estudo duplo cego randomizado de fase 1, o qual irá investigar se a membrana em estudo possui ou não a capacidade de desencadear reações inflamatórias no paciente, indicando assim, a sua segurança de aplicação. Para tanto, pedimos a sua autorização para a coleta, o armazenamento, a utilização e o descarte de amostras de sangue e urina que serão utilizados exclusivamente neste projeto de pesquisa.

Caso você concorde em participar deste estudo, lhe será solicitado que responda à entrevista e posteriormente proceda à coleta de suas amostras de sangue e urina. As amostras de sangue serão coletadas em local, data e horário a serem definidas pelo pesquisador, utilizando agulhas e seringas descartáveis, por profissional técnico capacitado. A urina será coletada por você mesmo(a), após instruções de como realizá-la, que deverá ser entregue no dia e local da coleta de sangue. Serão realizados os seguintes exames laboratoriais: hemograma completo, plaquetas, urina de rotina, proteína C reativa, glicemia de jejum, tempo de coagulação, tempo de protrombina, tempo de tromboplastina, albumina sérica, proteínas totais, TGO, TGP, Gama GT, fosfatase alcalina, uréia, creatinina, bilirrubina total cálcio, fósforo, cloro, sódio, potássio. Os resultados obtidos serão disponibilizados de forma impressa a todos os participantes e o pesquisador fornecerá orientações quanto a suas implicações. O material coletado não será armazenado a longo prazo, sendo mantido em biorrepositório somente até o momento de liberação e disponibilização dos resultados das amostras coletadas. Após análise dos resultados, as amostras serão descartadas. O descarte será realizado seguindo as orientações da RDC nº 222 de 28 de março de 2018, que regulamenta as boas práticas de gerenciamento dos resíduos de serviços de saúde, sendo as amostras previamente tratadas antes de serem descartadas no sistema de coletas de esgoto.

Após a análise do resultado das amostras laboratoriais, você deverá comparecer para aplicação do material a ser testado em local, data e horário também a serem definidos, sua pele do antebraço será examinada e seu estado de saúde será avaliado pelo exame físico e por suas respostas colhidas pela pesquisadora. Uma amostra do hidrogel de nanocelulose bacteriana compósito com Poli-l-lisina-colesterol será aplicado 3 vezes por semana (segunda, quarta e sexta-feira), durante 1 mês, no seu antebraço direito, em área circular correspondente a 4 cm² e protegido com um filme transparente, impermeável a água, microrganismos e sujidades. O tempo estimado para esse procedimento é de 20 minutos. A data e horário para estes procedimentos serão definidas pelo pesquisador com consentimento do participante da pesquisa.

Esta pesquisa tem alguns riscos associados aos possíveis efeitos colaterais da coleta de sangue, incluindo: dor, hematoma, ou outro desconforto no local da coleta. Raramente desmaio ou infecções no local de punção podem ocorrer. Cuidados em relação à execução correta da técnica serão tomados para minimizar esses riscos. Não foram encontrados na literatura registros de efeitos adversos relacionados à aplicação dos hidrogéis de nanocelulose bacteriana. Ademais, a amostra em teste não provocou efeitos indesejados, de qualquer natureza, em testes com animais e *in vitro* (com células). Contudo, será analisada e avaliada a ocorrência das seguintes reações no local da aplicação da membrana: dor, eritema, ressecamento e descamação, edema, calor, prurido, vesículas ou bolhas. Embora você possa não perceber benefício da aplicação dessa substância em sua pele pois não será aplicada para fins de tratamento, existem evidências experimentais benéficas deste novo biomaterial relacionadas à promoção da cicatrização, quando utilizada como curativos em úlceras e queimaduras. Desta forma, uma parcela da nossa população poderá ser beneficiada pela disponibilidade de um novo tratamento para estas lesões.

Para evitar e/ou minimizar os riscos associados à pesquisa serão adotadas as seguintes medidas: todos os profissionais envolvidos no estudo são treinados e capacitados para atender quaisquer problemas que

possam vir a ocorrer em consequência do procedimento; será utilizado material descartável em todas as coletas de material e aplicação de membranas; o profissional fará uso de EPI para sua proteção e do participante. Caso ocorra algum efeito indesejado você deverá entrar em contato com o pesquisador responsável por este estudo. Ao perceber algum risco ou dano à saúde do sujeito participante da pesquisa, conseqüente à mesma, não previsto no termo de consentimento, o estudo será imediatamente interrompido. Será prestada assistência médica especializada integral e imediata, de forma gratuita, pelo tempo que for necessário.

Caso ocorram prejuízos financeiros decorrentes da sua participação, será realizado o ressarcimento de todos os gastos do participante e seu(s) acompanhante(s). Por fim, o Sr. (a) tem assegurado o direito à indenização se forem identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa. Para participar deste estudo você não terá nenhum custo, também não receberá qualquer vantagem financeira. As despesas relacionadas à locomoção para o local da coleta de exames e aplicação das membranas serão de responsabilidade do pesquisador.

O Sr. (a) será esclarecido (a) sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Mesmo que você queira participar agora, você pode voltar atrás ou parar de participar a qualquer momento. Pode retirar o consentimento de guarda e utilização de suas amostras de sangue e urina, valendo a desistência a partir da data de formalização desta. A sua participação é voluntária e o fato de não querer participar não vai trazer qualquer penalidade ou mudança na forma em que você é atendido (a). O pesquisador não vai divulgar seu nome. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão. Você não será identificado (a) em nenhuma publicação que possa resultar.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável e a outra será fornecida a você. Os dados coletados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos. Decorrido este tempo, o pesquisador avaliará os documentos com para a sua destinação final, de acordo com a legislação vigente. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo às legislações brasileiras (Resoluções N° 466/12 e N° 441/11 e a portaria 2.2011 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para os fins acadêmicos e científicos.

Declaro que concordo em participar da pesquisa, e que me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Juiz de Fora, _____ de _____ de 2022.

Assinatura do Participante

Assinatura do (a) Pesquisador (a)

Nome do Pesquisador Responsável: Prof. Dr.: Thiago César
Nascimento Campus Universitário da UFJF
Faculdade de Enfermagem da
UFJF CEP: 36036-900
Fone: (032) 2102-3821
E-mail: nascimento.tc@gmail.com

APÊNDICE C – Instrumento de Coleta de Dados

INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS - TESTE CLÍNICO FASE I	
1. DADOS DEMOGRÁFICOS	
Data da avaliação: / /	Código de identificação:
1 Nome completo:	
2 Endereço completo:	
Bairro:	Cidade:
UF:	CEP:
Telefone: ()	
3 Data de nascimento: / /	
4 Idade (anos completos):	
5 Sexo: <input type="checkbox"/> 1. Masculino <input type="checkbox"/> 2. Feminino	
6 Naturalidade (UF):	
7 Cor (observação do entrevistador):	
<input type="checkbox"/> 1. Branca	<input type="checkbox"/> 2. Parda / mulata / morena / cabocla
<input type="checkbox"/> 3. Negra	<input type="checkbox"/> 4. Indígena
<input type="checkbox"/> 5. Amarela/oriental	
2. SITUAÇÃO CONJUGAL	
1 Qual o seu estado civil atual?	
<input type="checkbox"/> 1. Solteiro	<input type="checkbox"/> 2. Casado
<input type="checkbox"/> 3. Em união	<input type="checkbox"/> 4. Separado ou divorciado
<input type="checkbox"/> 5. Viúvo	
3. ESCOLARIDADE	
1 Qual sua escolaridade?	
<input type="checkbox"/> 1. Ensino fundamental incompleto	<input type="checkbox"/> 2. Ensino fundamental completo
<input type="checkbox"/> 3. Ensino médio incompleto	<input type="checkbox"/> 4. Ensino médio completo
<input type="checkbox"/> 5. Ensino superior incompleto	<input type="checkbox"/> 6. Ensino superior completo
<input type="checkbox"/> 7. Especialização incompleta	<input type="checkbox"/> 8. Especialização completa
<input type="checkbox"/> 9. Mestrado incompleto	<input type="checkbox"/> 10. Mestrado completo
<input type="checkbox"/> 11. Doutorado incompleto	<input type="checkbox"/> 12. Doutorado completo
4. FUMO	
1 Você fuma atualmente?	
<input type="checkbox"/> 1. Não → siga 5	<input type="checkbox"/> 2. Sim
<input type="checkbox"/> 3. Ex-fumante → siga 5	
2 Quantos cigarros fuma por dia?	
3 Há quanto tempo você fuma?	
4 Sempre fumou a mesma quantidade?	
<input type="checkbox"/> 1. Não	<input type="checkbox"/> 2. Sim <input type="checkbox"/> 3. Sem dadc <input type="checkbox"/> 4. NA
5 Há quanto tempo que parou de fumar?	
6 Quantos cigarros fumava por dia?	

7 Durante quanto tempo você fumou?			
5. FREQUÊNCIA DE CONSUMO DE ÁLCOOL			
		FREQUÊNCIA	
		Todo dia	Pelo menos 1vez por semana
BEBIDA	QUANTIDADE		
Cachaça			
Cerveja			
Vinho			
Whisky			
Outras:			
6. HISTÓRIA OBSTÉTRICA			
1 Você está grávida atualmente?			
<input type="checkbox"/> 1. Não		<input type="checkbox"/> 2. Sim	<input type="checkbox"/> 3. NA → siga 7
2 Você está em período de amamentação?			
<input type="checkbox"/> 1. Não		<input type="checkbox"/> 2. Sim	
7. MORBIDADE			
1 Você está atualmente com algum problema de saúde?			
<input type="checkbox"/> 1. Não		<input type="checkbox"/> 2. Sim	
2 Qual?			
3 Você foi internado por algum problema de saúde nos últimos 12 meses?			
<input type="checkbox"/> 1. Não		<input type="checkbox"/> 2. Sim	
4 Qual?			
5 Algum médico já lhe disse que você teve alguma dessas doenças?			
<input type="checkbox"/> 1. Hipertensão arterial		<input type="checkbox"/> 2. Diabetes mellitus	
<input type="checkbox"/> 3. Lúpus eritematoso		<input type="checkbox"/> 4. Insuficiência renal	
<input type="checkbox"/> 5. Insuficiência cardíaca		<input type="checkbox"/> 6. AIDS	
<input type="checkbox"/> 7. Infarto do miocárdio		<input type="checkbox"/> 8. Esquistossomose	
<input type="checkbox"/> 9. Doença de Chagas		<input type="checkbox"/> 10. Sífilis	
<input type="checkbox"/> 11. Cisticercose		<input type="checkbox"/> 12. Estrongilóide	
<input type="checkbox"/> 13. Malária		<input type="checkbox"/> 14. Angina	
<input type="checkbox"/> 15. Câncer		<input type="checkbox"/> 16. Febre reumática	
<input type="checkbox"/> 17. Trombose periférica		<input type="checkbox"/> 18. Embolia pulmonar	
<input type="checkbox"/> 19. Tuberculose		<input type="checkbox"/> 20. Meningite	
<input type="checkbox"/> 21. Doença hepática (cirrose, hepatite)			
<input type="checkbox"/> 22. Outras/alergias:			
6 Você faz uso de algum medicamento?			
<input type="checkbox"/> 1. Não		<input type="checkbox"/> 2. Sim	<input type="checkbox"/> 3. Não sabe
7 Qual?			
8 Alguma vez, um profissional da saúde já aferiu sua pressão arterial?			
<input type="checkbox"/> 1. Não		<input type="checkbox"/> 2. Sim	<input type="checkbox"/> 3. Não sabe
9 Alguma vez, você foi diagnosticado com pressão arterial alta?			
<input type="checkbox"/> 1. Não		<input type="checkbox"/> 2. Sim	<input type="checkbox"/> 3. Não sabe
8. ANTROPOMETRIA			

1 Peso medido (kg)
2 Estatura (m)

9. EXAMES LABORATORIAIS		
Resultados de:	1º dia	30º dia
Hemograma: Hemácias		
Hemoglobina		
Hematócrito		
VCM		
HCM		
CHCM		
Global de leucócitos		
Neutrófilos segmentados		
Neutrófilos bastonetes		
Eosinófilos		
Basófilos		
Linfócitos		
Monócitos		
Plaquetas		
Glicemia jejum		
Tempo de coagulação		
Tempo de protrombina		
Tempo de tromboplastina		
Albumina sérica		
Proteínas totais		
TGO		
TGP		
Gama GT		
Fosfatase alcalina		
Uréia		
Creatinina		
Bilirrubina total		
Cálcio		
Fósforo		
Cloro		
Sódio		
Potássio		
Proteína C Reativa		
Urina rotina: pH		
Densidade		
Volume		
Cetonas		
Proteínas		
Nitrato		
Hemácias		

Leucócitos		
Cilindros		
Sedimentos		
Flora		

10. EVOLUÇÃO									
Data	Circunf. Anteb.	Edema	Eritema	Calor	Dermatite	Prurido	Lesão	Dor	Observações
1.		não sim	não sim	não sim	Não sim	não sim	não sim	não sim	
2.		não sim	não sim	não sim	Não sim	não sim	não sim	não sim	
3.		não sim	não sim	não sim	Não sim	não sim	não sim	não sim	
4.		não sim	não sim	não sim	Não sim	não sim	não sim	não sim	
5.		não sim	não sim	não sim	Não sim	não sim	não sim	não sim	
6.		não sim	não sim	não sim	Não sim	não sim	não sim	não sim	
7.		não sim	não sim	não sim	Não sim	não sim	não sim	não sim	
8.		não sim	não sim	não sim	Não sim	não sim	não sim	não sim	
9.		não sim	não sim	não sim	Não sim	não sim	não sim	não sim	
10.		não sim	não sim	não sim	Não sim	não sim	não sim	não sim	
11.		não sim	não sim	não sim	Não sim	não sim	não sim	não sim	
12.		não sim	não sim	não sim	Não sim	não sim	não sim	não sim	
13.		não sim	não sim	não sim	Não sim	não sim	não sim	não sim	
14.		não sim	não sim	não sim	Não sim	não sim	não sim	não sim	

11. REGISTRO FOTOGRÁFICO		
Registro Fotográfico Iniciais: _____ Momento: 1ª semana 1Data: __/__/__	Registro Fotográfico Iniciais: _____ Momento: 1ª semana 2Data: __/__/__	Registro Fotográfico Iniciais: _____ Momento: 1ª semana 3Data: __/__/__
Registro Fotográfico Iniciais: _____ Momento: 2ª semana 1Data: __/__/__	Registro Fotográfico Iniciais: _____ Momento: 2ª semana 2Data: __/__/__	Registro Fotográfico Iniciais: _____ Momento: 2ª semana 3Data: __/__/__

Registro Fotográfico Iniciais: _____ Momento: 3ª semana 1Data: __/__/__	Registro Fotográfico Iniciais: _____ Momento: 3ª semana 2Data: __/__/__	Registro Fotográfico Iniciais: _____ Momento: 3ª semana 3Data: __/__/__
Registro Fotográfico Iniciais: _____ Momento: 4ª semana 1Data: __/__/__	Registro Fotográfico Iniciais: _____ Momento: 4ª semana 2Data: __/__/__	Registro Fotográfico Iniciais: _____ Momento: 4ª semana 3Data: __/__/__

ANEXO A – Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: ESTUDO DA SEGURANÇA DE APLICAÇÃO TÓPICA DE MEMBRANAS DE NANOCELULOSE BACTERIANA COM MODIFICAÇÃO DE SUPERFÍCIE: TESTE CLÍNICO FASE 1

Pesquisador: THIAGO CESAR NASCIMENTO

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 54853421.6.0000.5147

Instituição Proponente: Faculdade de Enfermagem

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.448.480

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa.

"Trata-se de um estudo clínico experimental de fase I, duplo-cego, randomizado. Desta forma, será avaliada a evolução de um grupo de voluntários, que serão submetidos à aplicação tópica de hidrogéis de nanocelulose bacteriana incorporadas com poli-L-lisina-colesterol (BNC-PLC) pelo período de um mês. A população alvo deste estudo será constituída de indivíduos saudáveis, com idade entre 18 e 60 anos, de ambos os sexos, que se enquadrarem nos critérios de inclusão e que aceitem os termos para participar voluntariamente da pesquisa. Antes do início da aplicação tópica, será realizada uma avaliação física para certificar se a pele da pessoa voluntária está isenta de quaisquer sinais alérgicos, inflamatórios ou de infecção. Os indivíduos serão aleatoriamente divididos em dois grupos de tratamento que receberão as membranas BNC-controle e BNC-PLC. Eles serão, então, encaminhados ao laboratório de Enfermagem da UFJF para coleta de material para exames a ser realizada pela equipe profissional do laboratório Neolab. Serão solicitados exames laboratoriais antes da aplicação das membranas e 30 dias após. As membranas serão aplicadas no antebraço direito, 3 vezes por semana (segunda, quarta e sexta-feira) durante 1 mês, em área circular correspondente a 4 cm² e posteriormente um filme de poliuretano será colocado sobre o local, para que o hidrogel não seja removido durante o

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N
Bairro: SAO PEDRO **CEP:** 36.036-900
UF: MG **Município:** JUIZ DE FORA
Telefone: (32)2102-3788 **E-mail:** cep.propp@ufjf.edu.br



Continuação do Parecer: 5.448.480

banho, locomoção ou utilização de vestuário. formulário elaborado para identificação do paciente voluntário e das condições de sua pele. As informações referentes à identificação pessoal, perfil socioeconômico, características da pele e registro fotográfico antes e após aplicação das membranas e avaliação dos efeitos colaterais serão registrados no formulário de coleta de dados."

Objetivo da Pesquisa:

"Objetivo Primário: Avaliar a segurança da aplicação tópica do hidrogel de nanocelulose bacteriana compósito com Poli-L-Lisina-Colesterol (BNC-PLC)."

"Objetivo Secundário: - Preparar hidrogéis de nanocelulose bacteriana incorporados com Poli-L-Lisina-Colesterol para a finalidade de aplicação tópica;- Avaliar a ocorrência de efeitos adversos e sinais inflamatórios da aplicação tópica do hidrogel BNC-PLC aplicado em pele íntegra de pessoas saudas, através da execução do teste clínico fase 1."

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

"Não foram encontrados na literatura registros de efeitos adversos relacionados à aplicação de hidrogéis de nanocelulose bacteriana em nenhum modelo experimental e clínico. Nos testes in vivo, a aplicação dos hidrogéis BNC e BNC-PLC se mostrou eficaz no tratamento das lesões quando comparados ao controle. Foram considerados satisfatórios os efeitos na absorção de exsudado e manutenção da umidade da ferida, bem como promoção do isolamento térmico, proteção mecânica do local da lesão cutânea e proteção contra microrganismos patogênicos. Os hidrogéis em teste não desencadearam nos animais sinais de irritação, edema, descamação ou prurido, indicando a ausência de sinais alérgicos ao biomaterial.

Contudo, será analisada e avaliada a ocorrência das seguintes reações no local da aplicação da membrana, caso o participante venha apresentar:

dor, eritema, ressecamento e descamação, edema, calor, prurido, vesículas ou bolhas. Os participantes serão orientados que na ocorrência de

reação inflamatória, alérgica ou lesão cutânea, a aplicação será imediatamente interrompida e eles serão encaminhados ao serviço médico especializado. Benefícios: Embora os participantes da pesquisa possam não perceber o benefício da aplicação desta membrana em sua pele, pois não será aplicada para fins de tratamento, espera-se que este novo biomaterial gere benefícios para a sociedade em geral através da sua disponibilização como forma terapêutica inovadora para feridas."

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto está bem estruturado, delineado e fundamentado, sustenta os objetivos do estudo em

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N
Bairro: SAO PEDRO **CEP:** 36.036-900
UF: MG **Município:** JUIZ DE FORA
Telefone: (32)2102-3788 **E-mail:** cep.propp@ufjf.edu.br



Continuação do Parecer: 5.448.480

sua metodologia de forma clara e objetiva, e se apresenta em consonância com os princípios éticos norteadores da ética na pesquisa científica envolvendo seres humanos elencados na resolução 466/12 do CNS e com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo de pesquisa está em configuração adequada, apresenta FOLHA DE ROSTO devidamente preenchida, com o título em português, identifica o patrocinador pela pesquisa, estando de acordo com as atribuições definidas na Norma Operacional CNS 001 de 2013 item 3.3 letra a; e 3.4.1 item 16. Apresenta o TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO em linguagem clara para compreensão dos participantes, apresenta justificativa e objetivo, campo para identificação do participante, descreve de forma suficiente os procedimentos, informa que uma das vias do TCLE será entregue aos participantes, assegura a liberdade do participante recusar ou retirar o consentimento sem penalidades, garante sigilo e anonimato, explicita riscos e desconfortos esperados, indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa, contato do pesquisador e do CEP e informa que os dados da pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador pelo período de cinco anos, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466 de 2012, itens: IV letra b; IV.3 letras a, b, d, e, f, g e h; IV. 5 letra d e XI.2 letra f. Apresenta o INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS de forma pertinente aos objetivos delineados e preserva os participantes da pesquisa. O Pesquisador apresenta titulação e experiência compatível com o projeto de pesquisa, estando de acordo com as atribuições definidas no Manual Operacional para CPEs. Apresenta DECLARAÇÃO de infraestrutura e de concordância com a realização da pesquisa de acordo com as atribuições definidas na Norma Operacional CNS 001 de 2013 item 3.3 letra h.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto, a emenda ao projeto está aprovada, pois está de acordo com os princípios éticos norteadores da ética em pesquisa estabelecido na Res. 466/12 CNS e com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS. Data prevista para o término da pesquisa: 31 de Julho de 2023.

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa CEP/UFJF, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 466/12 e com a Norma Operacional Nº001/2013 CNS, manifesta-se pela APROVAÇÃO a emenda ao protocolo de pesquisa proposto, considerando a justificativa de emenda apresentada pelo pesquisador: "Esta emenda foi elaborada considerando a necessidade de ajuste

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N	CEP: 36.036-900
Bairro: SAO PEDRO	
UF: MG	Município: JUIZ DE FORA
Telefone: (32)2102-3788	E-mail: cep.propp@ufjf.edu.br



Continuação do Parecer: 5.448.480

do cronograma de execução da pesquisa, devido à falta de disponibilidade de insumos para o teste clínico e também à possibilidade de atendimento ao edital de bolsas de iniciação científica da UFJF.". Vale lembrar ao pesquisador responsável pelo projeto, o compromisso de envio ao CEP de relatórios parciais e/ou total de sua pesquisa informando o andamento da mesma, comunicando também eventos adversos e eventuais modificações no protocolo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1959347_E1.pdf	03/06/2022 16:01:25		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_CEP_UFJF_TESTECLINICO_V3_alteracoesemamarelo.docx	02/06/2022 15:27:19	Camila Quinetti Paes Pittella	Aceito
Outros	Lista_inadequacoes.pdf	17/02/2022 15:41:13	ANA ELISA RODRIGUES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_teste_clinico_V2_correcoesemamarelo.pdf	17/02/2022 15:39:45	ANA ELISA RODRIGUES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_V2_correcoesemamarelo.pdf	17/02/2022 15:38:07	ANA ELISA RODRIGUES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_CEP_UFJF_TESTECLINICO.pdf	06/01/2022 14:34:43	Camila Quinetti Paes Pittella	Aceito
Outros	apendice_A_instrumento_coleta_de_dados.pdf	05/11/2021 23:14:45	THIAGO CESAR NASCIMENTO	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_assinada.pdf	09/09/2021 14:18:50	THIAGO CESAR NASCIMENTO	Aceito
Outros	Termo_confidencialidade_sigilo.pdf	09/09/2021 10:53:37	THIAGO CESAR NASCIMENTO	Aceito
Outros	Lattes_Frederico.pdf	09/09/2021 10:50:21	THIAGO CESAR NASCIMENTO	Aceito
Outros	Lattes_Kelli.pdf	09/09/2021 10:50:04	THIAGO CESAR NASCIMENTO	Aceito
Outros	Lattes_Edney.pdf	09/09/2021 10:49:36	THIAGO CESAR NASCIMENTO	Aceito
Outros	Lattes_Ana_Elisa.pdf	09/09/2021 10:49:05	THIAGO CESAR NASCIMENTO	Aceito
Outros	Lattes_Thiago.pdf	09/09/2021 10:48:42	THIAGO CESAR NASCIMENTO	Aceito
Outros	Lattes_Camila.pdf	09/09/2021	THIAGO CESAR	Aceito

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N
Bairro: SAO PEDRO **CEP:** 36.036-900
UF: MG **Município:** JUIZ DE FORA
Telefone: (32)2102-3788 **E-mail:** cep.propp@ufjf.edu.br



Continuação do Parecer: 5.448.480

Outros	Lattes_Camila.pdf	10:48:10	NASCIMENTO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_de_infraestrutura.pdf	06/09/2021 17:27:12	THIAGO CESAR NASCIMENTO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JUIZ DE FORA, 03 de Junho de 2022

Assinado por:
Jubel Barreto
(Coordenador(a))

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N
Bairro: SAO PEDRO **CEP:** 36.036-900
UF: MG **Município:** JUIZ DE FORA
Telefone: (32)2102-3788 **E-mail:** cep.propp@ufjf.edu.br

ANEXO B – Referência para análise dos exames laboratoriais

Valores de Referência para os Exames Laboratoriais (Adulto)	
HEMOGRAMA	
Hemácias (milhões/mm ³)	Masc. 4,5 a 6,0 Fem. 4,2 a 5,4
Hemoglobina (g/dl)	Masc. 13,0 a 18,0 Fem. 11,0 a 17,0
Hematócrito (%)	Masc. 38,0 a 52,0 Fem. 36,0 a 46,0
VCM (u2fl)	80,0 a 100,0
HCM (pg)	26,0 a 34,0
CHCM (g/dl)	31,0 a 37,0
Global de leucócitos (p/mm ³)	4.000 a 10.000
Neutrófilos segmentados (%)	50 a 70
Neutrófilos bastonetes (%)	0 a 6
Eosinófilos (%)	1 a 6
Basófilos (%)	0 a 2
Linfócitos (%)	20 a 40
Monócitos (%)	4 a 10
Plaquetas (p/mm ³)	450.00
TESTES BIOQUÍMICOS	
Glicemia de jejum (mg/dl)	60 a 99
Tempo de protrombina	12,7
Proteína C reativa (mg/dl)	até 1,00 mg/dl
Albumina sérica (g/dl)	3,7 a 5,2
Proteínas totais (g/dl)	6,5 a 8,2
TGO (U/l)	Masc. < ou = 40 Fem. < ou = 36
TGP (U/l)	Masc. < ou = 58 Fem. < ou = 41
GamaGT (U/l)	Masc. < 73 Fem. < 38
Fosfatase alcalina (U/l)	36 a 110
Uréia (mg/dl)	19 a 49
Creatinina (mg/dl)	Masc. 0,70 a 1,30 Fem. 0,55 a 1,02
Bilirrubina total (mg/dl)	0,3 a 1,2
Cálcio (mg/dl)	8,3 a 10,6
Fósforo (mg/dl)	2,5 a 4,8
Cloretos (mEq/l)	98 a 110
Sódio (mEq/l)	136 a 145
Potássio (mEq/l)	3,5 a 5,1
URINÁLISE	
Ph	4,5 a 7,8
Densidade	1.010 a 1.025
Hemácias	< ou = 10.000 células/ml
Leucócitos	< ou = 10.000 células/ml