



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102014023801-8 A2

(22) Data do Depósito: 25/09/2014

(43) Data da Publicação: 19/04/2016

(RPI 2363)



(54) Título: PROCESSO DE OBTENÇÃO DE COBERTURA À BASE DE CELULOSE BACTERIANA COM COLÁGENO E PRODUTO OBTIDO

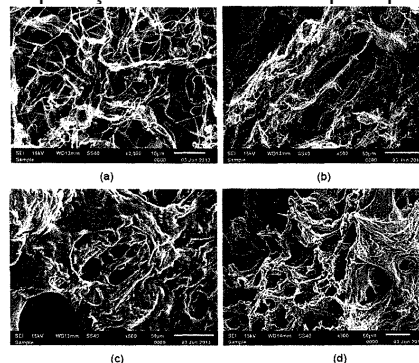
(51) Int. Cl.: A61L 15/28; A61L 15/32

(73) Titular(es): UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO

(72) Inventor(es): ANA MARIA MINARELLI GASPAR, HERNANE DA SILVA BARUD, PAULA RODRIGUES FONTES DE SOUSA MORAES, SIDNEY JOSÉ LIMA RIBEIRO, SYBELLE SASKA SPECIAN, LAIS RONCALHO DE LIMA

(74) Procurador(es): FABIÓLA DE MORAES SPIANDORELLO

(57) Resumo: PROCESSO DE OBTENÇÃO DE COBERTURA À BASE DE CELULOSE BACTERIANA COM COLÁGENO E PRODUTO OBTIDO. É descrita a invenção de um processo de obtenção de cobertura à base de celulose bacteriana com colágeno e o produto obtido para cicatrização de vários tipos de lesões da pele sob a forma de hidrogel que acompanha o processo da cicatrização, sendo biocompatível, atóxico, com propriedades de retenção de água e difusão de proteínas, impermeável a bactérias e que promove condições fisiológicas adequadas para a cicatrização, minimizando a irritação do tecido envolvente e favorecendo uma reparação tecidual mais rápida para feridas.



PROCESSO DE OBTENÇÃO DE COBERTURA À BASE DE CELULOSE BACTERIANA COM COLÁGENO E PRODUTO OBTIDO

CAMPO DA INVENÇÃO

[01] A presente invenção descreve um processo de obtenção de cobertura à base de celulose bacteriana com colágeno e o produto obtido. Mais especificamente compreende uma cobertura para cicatrização de vários tipos de lesões da pele sob a forma de hidrogel que acompanha o processo da cicatrização, sendo biocompatível, atóxico, com propriedade de retenção de água e difusão de proteínas, promovendo condições fisiológicas adequadas para a cicatrização, minimizando a irritação do tecido envolvente e favorecendo uma reparação tecidual mais rápida para feridas crônicas e de difícil cicatrização.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[02] Uma ferida é representada pela interrupção da continuidade de um tecido corpóreo, em maior ou menor extensão, causada por qualquer tipo de trauma físico, químico, mecânico ou desencadeada por uma enfermidade clínica que aciona de imediato as frentes da defesa orgânica para o reparo. O manejo tradicional de ferimentos envolve desinfecção, debridamento e provisão de um ambiente úmido que estimule o estabelecimento do melhor ambiente para que ocorra o processo natural de cura (ARNOLD Jr., H.L; ODOM, R.B.; JAMES, W.D. A pele: estrutura básica e função: doenças básicas da pele de Andrews. Dermatologia Clínica, p.1-14, 1994).

[03] Quando existem ferimentos graves e extensos, sejam eles provocados por queimaduras, abrasão da pele, avulsão de tecidos, úlceras ou perda pós-necrótica de tecidos cutâneos, há necessidade de estabelecer um tratamento adequado até que se produza a cicatrização das lesões mais superficiais e a formação de granulação das áreas mais profundas (HILARIO, A.H.; VASQUEZ, L.A.M. Utilização de um substituto

temporário da pele nas perdas cutâneas de pacientes ambulatoriais. Revista Brasileira de Cirurgia. V. 78, p. 393-398, 1998).

[04] O início da cicatrização promove a coagulação do sangue e é completado com a remodelação das camadas celulares da pele. Quando ocorre uma lesão, a integridade vascular da área lesada é interrompida, levando ao extravasamento de sangue para o tecido circundante ou no plasma, quando o dano é menor (THAKARE, V.M. International standard serial number, promotion of cutaneous wound healing by herbal formulation containing Azadirachta indica and Cynodon dactalon extract in Wistar rats. *International Journal of Pharmaceutical Research & Development*, v.3, n.4, p. 80-86, 2011). O processo de cura é ativado quando as plaquetas entram em contato com o colágeno exposto, levando à agregação de plaquetas e à liberação de fatores de coagulação, resultando em deposição de um coágulo de fibrina no local da lesão (CLARK, R.A.F. *The molecular and cellular biology of wound repaired*. New York: Plenum Press, 611 p., 1996).

[05] O processo de reparação residual compreende dois mecanismos de restauração dos tecidos: a regeneração e a cicatrização. A regeneração ocorre com a reposição residual "original". O trauma inicial gera uma resposta inflamatória aguda que se manifesta através de edema e formação de exsudado seroso, rico em leucócitos, que cessa em torno de 72 horas. As células epidérmicas das margens da ferida e das invaginações epidérmicas dos folículos pilosos e glândulas (sudoríparas e sebáceas) começam a proliferar e migrar sobre o leito da ferida, ocluindo sua superfície, promovendo, assim, a cicatrização (SANTOS, V.L.C.G. Avanços tecnológicos no tratamento de feridas e algumas aplicações em domicílio. In: DUARTE, Y.A.O.; DIOGO, M.J.D. Atendimento domiciliar: um enfoque gerontológico. São Paulo: Atheneu, 2000, p. 265-306).

[06] A cicatrização é dividida em três fases fundamentais: inflamatória (três a quatro dias), proliferativa (três a quatro semanas) e maturação (a partir de então) (MAIA, M.B.S. Estudo da atividade anti-

inflamatória e outros efeitos farmacológicos de *Orbignya phalerata*. 1987. 57p. Dissertação (mestrado) – Departamento de Fisiologia e Farmacologia. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 1987). Na fase inflamatória ocorrem fenômenos vasculares e químicos, destacando-se o aumento da permeabilidade vascular causada pela liberação local de histamina e serotonina que atuam por cerca de 30 minutos sobre as vênulas. Segue-se a formação de bradicinina e prostagladina a partir de globulinas plasmáticas que levam à prorrogação do processo e permite a chegada de glanulócitos e monócitos. Os primeiros desempenham importante papel na remoção de resíduos celulares no local da lesão. Essa fase também consiste no recrutamento de leucócitos para o local da lesão. Na ferida limpa, o pico da resposta inflamatória pode aparecer em cerca de três a quatro dias (BANKS, W.J. Histologia veterinária aplicada. 2 ed. São Paulo: Manole. 1992. Cap. 20, p.391-424).

[07] Na fase proliferativa, a lesão é recoberta por tecido epitelial. É nesta fase que aparecem os fibroblastos que apresentam intensa capacidade de síntese proteica e multiplicação celular, produzindo mucopolissacarídeos, glico e mucoproteínas e colágeno, bem como de macrófagos e de vasos sanguíneos, além da proliferação e migração de queratinócitos, células endoteliais e reepitelização, formando tecido de granulação com uma grande quantidade de colágeno do tipo III (THAKARE, V.M. International standard serial number, prmotion of cutaneous wound healing by herbal formulation containing Azadirachta indica and Cynodon dactalon extract in Wistar rats. *International Journal of Pharmaceutical Research & Development*, v.3, n.4, p. 80-86, 2011).

[08] Na última fase, a maturação, a maioria das fibras de colágeno do tipo III é substituída por fibras tipo I, e o excesso de colágeno é degradado por enzimas proteolíticas que promovem a remodelação do tecido (MESTER, E; MESTER, A.F.; MESTER, A. The biomedical effects of laser application. *Lasers in surgery and medicine*, v.5, PP.31-39, 1985).

Nessa mesma fase, na medida em que o colágeno vai sendo produzido, ocorre a oclusão da ferida, e os capilares se organizam, os fibroblastos diminuem em número e observa-se a queda da produção de substância fundamental.

[09] A cicatrização da ferida normal é um processo cuidadosamente equilibrado entre os fatores destrutivos necessários para remover o tecido necrosado e a atividade que conduz à formação de tecido novo (CULLEN, B.; WATT, P.W.; LUNDGYST, C. ET AL. The role of oxidised regenerated cellulose/collagen in chronic repair and its potential mechanism of action. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, v. 34, n.12, p.1544-1556, 2002). As proteases e fatores de crescimento possuem um papel regulador essencial nesse equilíbrio que, se rompido, pode favorecer a degradação tecidual e retardar a cicatrização.

[010] Na fase final da cicatrização, as feridas podem apresentar colegendases que atuam na posterior absorção da parte do colágeno. A colegendase age especificamente quando ainda há inflamação aguda, realizando a degradação do colágeno instável com maior eficácia, contribuindo para a transformação do tecido inflamatório em tecido conjuntivo jovem (LAZARUS, G.S.; BROWN, R.S.; DANIELS, J.R. *et al.* Human granulocyte collagenase. *Science*, v. 159, p. 1483-1485, 1968.).

[011] O conhecimento dos mecanismos envolvidos na cicatrização de feridas é muito importante para a compreensão dos possíveis efeitos de métodos terapêuticos que podem auxiliar o processo de cura. A cura de feridas da pele requer a participação de várias linhagens celulares e cada uma dessas células pode se comportar de forma diferente com base na terapia utilizada (PINHEIRO, A.L.B.; MEIRELES, G. C.S.; CARVALHO, C.M., ET AL. Biomodulative effects of polarized light on the healing of cutaneous wounds on nourished and undernourished wistar rats. *Photomedicine and Laser Surgery*. V.24, n.5, p.616-624, 2006).

[012] A melhor conduta para favorecer a cicatrização de uma ferida é a remoção de fatores inibitórios, bem como a correção de deficiências nutricionais (JOHNSTON, D.E. Wound healing in skin: the veterinary clinics of North America. *Small Animal Practice*, v. 20, n.1, p. 1-25, 1990). No entanto, é importante lembrar que uma série de agentes tópicos, tais como antissépticos, antibióticos e coberturas exercem algum efeito no local da ferida, sendo em alguns casos tão adversos que prejudicam a cicatrização. Antissépticos e determinadas substâncias químicas destroem bactérias, mas também lesam as células corporais. Os principais fatores que podem favorecer a cicatrização são: programas de controle de infecções, combate ao estresse devido a sua má interferência no equilíbrio hormonal orgânico; uso de substâncias farmacológicas que comprovadamente apresentam favorecimento do processo cicatricial (MARTINS, N.L.P.; MALAFAIA, O.; RIBAS-FILHO, J.M. ET AL. Análise comparativa da cicatrização da pele com o uso intraperitoneal de extrato aquoso de *orbignya phalerata* (babaçu): estudo controlado em ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v.21, p. 66-75, 2006. Suplemento 3).

[013] Estudos recentes asseguram que o avanço no campo da cicatrização reside no equilíbrio entre a síntese e o fracionamento do colágeno. Uma cicatrização mais efetiva pode ser conseguida com a introdução de aceleradores da cicatrização das feridas no local da sutura (THORNTON, P.R. *Scanning electron microscopy: applications to materials and device science*. London: Chapman and Hall, 1968. 368p.).

[014] Curativo é o ato de limpar, desbridar e cobrir lesões (BORGES, E.L. Feridas: úlceras dos membros inferiores. 1. Ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan Ltda., 2012. V.1. 203p). Os materiais desenvolvidos para o curativos das feridas são denominados coberturas. Estas, antes de 1960, eram consideradas apenas como produtos passivos que tinham um mínimo papel no processo de cura das lesões. No entanto, em 1962, com a pesquisa de Winter (WINTER, G.D. Formation of the scab

and the rate of epithelialization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. *Nature*, v. 193, p. 293-294, 1962), as coberturas passaram a ser consideradas um ambiente ideal para a cicatrização das feridas, com o desenvolvimento de coberturas funcionalmente ativas, que através da interação com as feridas que recobrem, criam e mantêm a umidade no campo de cicatrização.

[015] Uma cobertura ideal previne a cicatrização exagerada, não promove reação de corpo estranho, sem necessidade de realizar sua obtenção em outro sítio corpóreo e nem efetuar a sua retirada posterior do local onde foi implantada (PANERARI, A. C.D; COSTA, H.O.; SOUZA, F.C. ET AL. Avaliação da resposta inflamatória traqueal ao curativo de celulose bacteriana após escarificação cirúrgica em coelhos. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*, v.74, n.4, p.512-22, 2008).

[016] O estado da técnica descreve diversos métodos para a cobertura de feridas e queimaduras, como uso de extratos de plantas, antibióticos, enxertos de tecidos e enzimas proteolíticas. Estas coberturas, no entanto, apresentam limitações na aplicação em ferimentos com grande perda de tecido.

[017] O colágeno tem sido um dos materiais mais utilizados na medicina para reparação do dano ou trauma químico-mecânico da pele ou mucosas devido a sua biocompatibilidade, excelente quimiotaxia e capacidade de promover cicatrização de feridas.

[018] Assim, são disponíveis coberturas mais avançadas, sintéticas (derivadas de produtos manufaturados ou desenvolvidos em laboratório) ou biológicas (derivadas de tecidos naturais, ou derivadas de várias formulações e combinações com colágeno, elastina e lipídeos) (BARLETT, R.H. Skin substitutes. *Journal of Trauma*, Baltimore, v.21, 731 p. 1981).

[019] O uso de um curativo biologicamente inerte, não associado a uma resposta inflamatória e infecciosa, pode ser de grande utilidade no tratamento e cicatrização de feridas na pele, corroborando a estudos

realizados com a cobertura de celulose em outras áreas corpóreas, os quais demonstraram que a membrana de celulose favorece o processo cicatricial das lesões (COSTA, H.O.; SOUZA, F.C. Avaliação da regeneração tecidual da pele de porco submetida à lesão térmica seguida de colocação de Biotissue. *Acta ORL – Técnicas em Otorrinolaringologia*, v.23, n. 3, p.23-27, 2005).

[020] No entanto, a literatura técnica descreve inconvenientes no uso de membranas de celulose para reparação tecidual, tais como a necessidade de remoção de bolhas de ar entre a interface membrana e leito receptor para que haja adequada aderência ao leito receptor, remoção de exsudato, a dificuldade de adesão à área receptora, enrugamento e desprendimento (PITANGUY, I. Utilização de película de celulose (biofil) como curativo biológico. *Revista Brasileira de Cirurgia*, v.78, n.5, p. 317-26, 1988) e (MAYALL, R.C. Tratamento das úlceras tróficas dos membros com um novo substituto de pele. *Revista Brasileira de Cirurgia*, v.80, p.41-7, 1990).

[021] O documento PI1005849-4 refere-se a novos métodos de obtenção de compósitos reabsorvíveis, com base em celulose bacteriana e colágeno, para aplicação em reparação de tecidos, particularmente tecido ósseo. Esta invenção refere-se também aos compósitos obtidos pelos métodos descritos e seus usos. A membrana descrita no documento PI1005849-4 apresenta boa adaptação sobre o leito de feridas teciduais, mas ao longo do tratamento ocorre o ressecamento gradual dessa membrana o que a torna parcialmente rígida, dificultando sua adesão à área receptora, com consequentes enrugamento e desprendimento do leito receptor. Desta forma, há necessidade de hidratação desta membrana ao longo do período de tratamento da ferida em questão para que não ocorra o seu ressecamento. A cobertura à base de celulose bacteriana descrita na presente invenção, diferentemente da membrana descrita em PI1005849-4, apresenta-se na forma de gel (hidrogel), possui como propriedades elevada

retenção de água e difusão de proteínas, não danifica tecido de granulação, sendo de fácil aplicação, com melhor aderência ao leito de feridas teciduais que a membrana anteriormente descrita. A incorporação de colágeno ao hidrogel confere à cobertura ótima quimiotaxia e capacidade de acelerar a cicatrização de feridas, tendo em vista que o colágeno é o maior componente natural do tecido conjuntivo.

[022] Dessa forma, é objeto da presente invenção uma cobertura sob a forma de hidrogel à base de celulose bacteriana e colágeno, provendo um prático e efetivo curativo de fácil aplicação nas lesões de pele, apresentando a vantagem de formar uma barreira protetora no ferimento e oferecer uma quantidade maior de agente ativo ao ferimento pelo fato de estar associado a outras substâncias que contêm propriedades farmacêuticas e permite uma aplicação fácil e homogênea e confere conforto ao paciente quando aplicado, permite a remoção espontânea ou estimulada da secreção de lesões, provendo vantagens sobre os tratamentos convencionais, traduzidos na prática diária como facilidade de aplicação, excelente adesão aos tecidos, diminuição da dor, visualização adequada do leito da lesão, drenagem espontânea, diminuição ou ausência de trocas de coberturas e aumento no intervalo do acompanhamento médico.

SUMÁRIO

[023] A invenção descreve uma cobertura à base de celulose bacteriana com colágeno que minimiza a irritação do tecido envolvente, evita a troca de curativos que retiram células epiteliais, evita repetidos procedimentos anestésicos, impede a entrada de bactérias que favorecem uma inflamação crônica e não deixa que a cicatrização seja um processo muito demorado.

[024] A invenção descreve uma cobertura à base de celulose bacteriana com colágeno capaz de acompanhar o processo da cicatrização.

[025] A invenção descreve uma cobertura à base de celulose bacteriana com colágeno na forma de hidrogel biocompatível, atóxico, que apresenta propriedades de retenção de água e difusão de proteínas, é impermeável a bactérias e promove condições fisiológicas adequadas para a cicatrização, sendo de fácil fixação e não danificando o tecido de granulação.

[026] A invenção descreve uma cobertura à base de celulose bacteriana com colágeno que minimiza a irritação do tecido envolvente e favorece uma reparação tecidual mais rápida para feridas crônicas e de difícil cicatrização.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[027] A figura 1 apresenta imagens de microscopia eletrônica de varredura, sendo (a) e (b) as imagens do colágeno puro e (c) e (d) as imagens das micropartículas de celulose bacteriana com colágeno.

[028] A figura 2 apresenta a representação gráfica das curvas termogravimétricas obtidas na razão 10 °C/min de aquecimento para o colágeno puro (a), hidrogel de celulose bacteriana com colágeno (b) e celulose bacteriana (c), onde I compreende a etapa de perda de água, II a etapa de perda por decomposição e III a etapa de carbonização.

[029] A figura 3 apresenta a representação gráfica da espectroscopia vibracional na região de infravermelho de (a) hidrogel de celulose bacteriana com colágeno, (b) colágeno puro e (c) celulose bacteriana.

[030] A figura 4 apresenta a representação gráfica dos padrões de difração de DRX do hidrogel de celulose bacteriana com colágeno (a), colágeno puro (b) e celulose bacteriana (c), com os seus respectivos picos assinalados.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[031] A cobertura à base de celulose bacteriana com colágeno, objeto da presente invenção, é potencialmente útil para ferimentos graves e

extensos, sejam eles provocados por queimaduras, abrasão da pele, avulsão de tecidos, úlcera ou perda pós-necrótica de tecidos cutâneos, onde há necessidade de estabelecer um tratamento adequado até que se produza a cicatrização das lesões mais superficiais e a formação de tecido de granulação das áreas mais profundas.

[032] O método de obtenção da cobertura à base de celulose bacteriana e colágeno sob a forma de hidrogel compreende em uma primeira etapa a trituração em meio aquoso da manta de celulose bacteriana *in natura*, obtendo-se uma suspensão formada de partículas de celulose bacteriana. Essa suspensão é então peneirada para extração da água, mantendo-se apenas as micropartículas de celulose bacteriana.

[033] As micropartículas de celulose bacteriana são mantidas sob agitação mecânica. Separadamente, é realizada a solubilização a quente em agitação manual de um conservante, como metilparabeno, em propilenoglicol, sendo tal mistura adicionada às micropartículas de celulose bacteriana. Posteriormente, adiciona-se hidroxietilcelulose em quantidade suficiente para atingir a consistência de gel. Finalmente, adicionam-se colágeno e água.

[034] O produto obtido compreende um hidrogel à base de micropartículas de celulose bacteriana que compreende entre 5,0 a 15,0% de pasta de micropartículas de celulose bacteriana, entre 6,0 a 10,0% de colágeno, particularmente colágeno bovino, entre 1,0 a 5,0% de hidroxietilcelulose, entre 2,0 a 10,0% de um solvente, preferentemente propilenoglicol, entre 0,10 a 0,30% de um conservante e água deionizada em q.s.p.

TESTES

[035] Através de microscopia eletrônica de varredura foi verificado que o conteúdo de colágeno incorporado à celulose bacteriana.

[036] Conforme apresentado nas figuras 1 (c) e (d), é revelado um material com poros interconectados em todo o material em três dimensões,

o que é extremamente importante na engenharia tecidual, como por exemplo, para o crescimento de fibroblastos (O'BRIEN, F.J.; HARLEY, B.A.; YANNAS, I.V. et al. The effect of pore size on cell adhesion in collagen-GAG scaffolds. *Biomaterials*, v. 26, p.433-441, 2005).

[037] Na análise termogravimétrica, a variação de massa de uma amostra em atmosfera controlada é continuamente acompanhada em função do tempo ou temperatura. Para as amostras, são observados três estágios: (I) perda de água, (II) perda por decomposição e (III) carbonização.

[038] Conforme apresentado na figura 2, as curvas termogravimétricas das amostras de colágeno (a) e do hidrogel de celulose bacteriana com colágeno (b) mostram que no estágio II, a perda de massa ocorre na mesma temperatura (325 °C). É também observado que ao final do estágio I, as curvas que representam o hidrogel de celulose bacteriana e colágeno (b) e a celulose bacteriana (c) apresentam uma menor perda de massa nesse estágio se comparado à curva referente ao colágeno (a).

[039] O estágio III, referente à carbonização das amostras, se deu em torno de 370 °C.

[040] A curva DTG representa a primeira derivada da curva TG. O pico corresponde ao evento de maior perda de massa que ocorreu durante todo o processo de aquecimento de cada amostra.

[041] As curvas TG/DTG indicam que as amostras apresentam excelentes propriedades térmicas e que não houve mudança significativa na estabilidade térmica entre elas.

[042] A integridade da estrutura do colágeno pode ser verificada quando a razão entre os valores das absorvâncias relativos aos números de onda 1235 e 1450 cm^{-1} , respectivamente, for próximo ou igual a um (GEORGE, A.V. A. FTIRS in H₂O demonstrates that collagen monomers under go a conformational transition prior to thermal self-assembly in vitro. *Biochemistry*, v.30, pp. 2372-2377, 1991).

[043] Conforme a tabela 1, a relação obtida para o hidrogel de celulose bacteriana com colágeno foi igual a 0,995 [razão das absorvâncias obtidas na tabela 1], mostrando que a estrutura secundária (hélice tripla) foi preservada durante o processo de extração do colágeno e quando adicionada a celulose bacteriana.

[044] TABELA 1: valores das absorvâncias associadas aos números de onda 1450 e 1235 cm^{-1} do hidrogel de celulose bacteriana com colágeno.

Número de onda (cm^{-1})	Valores das absorvâncias (A)
1450	1,1755
1235	1,1690

[045] Conforme a figura 3, foi observado na amostra de hidrogel de celulose bacteriana com colágeno (a) e do colágeno puro (b) que as bandas em 1450 and 1235 cm^{-1} apresentaram-se deslocadas na amostra do hidrogel. No espectro do hidrogel a banda localizada em 1439 cm^{-1} apresentou um deslocamento para região de maior energia de 11 cm^{-1} , e a banda em 1260 cm^{-1} apresentou um deslocamento para região de menor energia de 20 cm^{-1} ; ambos deslocamentos observados em relação ao espectro de colágeno puro, cujo resultado sugere que houve interações moleculares entre a celulose bacteriana e o colágeno.

[046] Conforme apresentado na figura 4, o difratograma de raios-X do hidrogel de celulose bacteriana com colágeno mostrou um pico largo na faixa de $2\theta = 10 - 25^\circ$ e picos em $2\theta = 15^\circ$, 17° e 25° relacionados à celulose bacteriana. Estes resultados confirmam a incorporação do colágeno ao hidrogel de celulose bacteriana, conferindo um perfil mais amorfo em relação à membrana de celulose bacteriana somente. Além disso, houve uma diminuição na intensidade dos picos de celulose bacteriana que pode estar associada à presença do colágeno inserido na estrutura da celulose bacteriana (Saska, S. *et al.*, BC-collagen

nanocomposite for bone tissue engineering. *J. Mater. Chem.*, 2012. 22: p. 22102-22112).

[047] Coberturas de hidrogel de celulose bacteriana contendo colágeno foram aplicados em feridas criadas cirurgicamente em dorso de ratos e sua biocompatibilidade in vivo também foi avaliada. As lesões foram realizadas no dorso de ratos, por ser uma região relativamente protegida de contaminação, pelo menor contato com fezes e com a saliva do animal, o que diminui o risco de infecções. Foi produzida uma lesão cutânea total, ou seja, foi removida toda a espessura da pele até a fáscia, com o objetivo de se retirar toda e qualquer camada proliferativa central que pudesse propiciar uma cicatrização espontânea rápida, de modo que a ferida teria o estímulo máximo das respostas fisiológicas, inclusive com a contração da cicatriz e epitelização central.

[048] O Grupo I recebeu a cobertura de membrana de celulose bacteriana com colágeno, o Grupo II (controle negativo) teve a ferida preenchida com coágulo sanguíneo, o Grupo III recebeu o hidrogel de celulose bacteriana com colágeno e no Grupo IV (controle positivo) foi aplicada uma pomada à base de collagenase.

[049] Os implantes de celulose bacteriana não causaram reação de corpo estranho, não apresentaram formação de fibrose ou encapsulamento e o tecido conjuntivo dos ratos apresentou-se muito bem integrado às estruturas de celulose bacteriana. Após semanas do implante, o processo de remodelamento prosseguiu e os fibroblastos estavam completamente integrados, onde se observou a síntese do colágeno.

[050] O hidrogel de celulose bacteriana com colágeno foi de fácil aplicação e aderiu sem dificuldades o leito da lesão.

[051] A membrana mostrou ser bastante resistente à tensão dos pontos. No contato com os líquidos corpóreos (exsudato e sangue), a membrana começava a absorvê-los, embebendo-se e tornando a aparência de um plástico transparente aderido à lesão.

[052] Não houve sinal de resposta inflamatória aguda nos animais operados que receberam as coberturas dos Grupos I e III, comparadas aos dos grupos controle (II e IV). O fato da presença da cobertura de celulose não promover uma exacerbação e prolongamento do processo inflamatório deve-se às suas características físicas e de biocompatibilidade, como sua porosidade, textura da superfície, consistência e propriedades químicas, que promovem uma melhor reação tecidual, não perpetuando o processo inflamatório (HART, J.; SILCOCK, D.; GUNNIGLE, S. *et al.* The role of oxidised regenerated cellulose/collagen in wound repair: effects in vitro on fibroblast biology and in vivo in a model of compromised healing. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, v. 34, n. 12, p. 1557-1570, 2002).

[053] Um dos aspectos importantes observados foi a capacidade da cobertura em conter exsudato em seu interior, formando dessa maneira um hidrogel aderente que é efetivo para encapsular e imobilizar populações bacterianas potencialmente patogênicas, que promoveriam um processo infeccioso e consequente exacerbação e prolongamento da infecção.

[054] Todos os grupos apresentaram uma crosta rígida, escura e espessa. A queda antecipada dos coágulos das feridas tratadas no Grupo I pode sugerir que os processos celulares e químicos que influenciaram a presença do coágulo foram facilitados pela membrana de celulose bacteriana com colágeno.

REIVINDICAÇÕES

1. PROCESSO DE OBTENÇÃO DE COBERTURA À BASE DE CELULOSE BACTERIANA COM COLÁGENO caracterizado por compreender as etapas de:
 - a) trituração em meio aquoso de manta de celulose bacteriana *in natura*, com obtenção de suspensão de partículas de celulose bacteriana;
 - b) extração da água da suspensão de partículas de celulose bacteriana, preferentemente por meio de peneiramento;
 - c) manutenção das micropartículas de celulose bacteriana sob agitação mecânica;
 - d) em separado, solubilização a quente e sob agitação manual de um conservante, como metilparabeno, em propilenoglicol;
 - e) adição da mistura solubilizada às micropartículas de celulose bacteriana sob agitação;
 - f) adição hidroxietilcelulose, em quantidade suficiente para atingir a consistência de gel;
 - g) adição de colágeno e água.
2. PROCESSO DE OBTENÇÃO DE COBERTURA À BASE DE CELULOSE BACTERIANA COM COLÁGENO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por compreender entre 5,0 a 15,0% de pasta de micropartículas de celulose bacteriana misturada a colágeno entre 6,0 a 10,0%, entre 1,0 a 5,0% de hidroxietilcelulose, entre 2,0 a 10,0% de um solvente, preferentemente propilenoglicol, entre 0,10 a 0,30% de um conservante, preferentemente metilparabeno, e água deionizada em q.s.p.
3. COBERTURA À BASE DE CELULOSE BACTERIANA COM COLÁGENO caracterizado por compreender uma formulação de hidrogel que compreende entre 5,0 a 15,0% de pasta de micropartículas de celulose bacteriana, entre 6,0 a 10,0% de colágeno,

entre 1,0 a 5,0% de hidroxietilcelulose, entre 2,0 a 10,0% de um solvente, preferentemente propilenoglicol, entre 0,10 a 0,30% de um conservante e água deionizada em q.s.p.

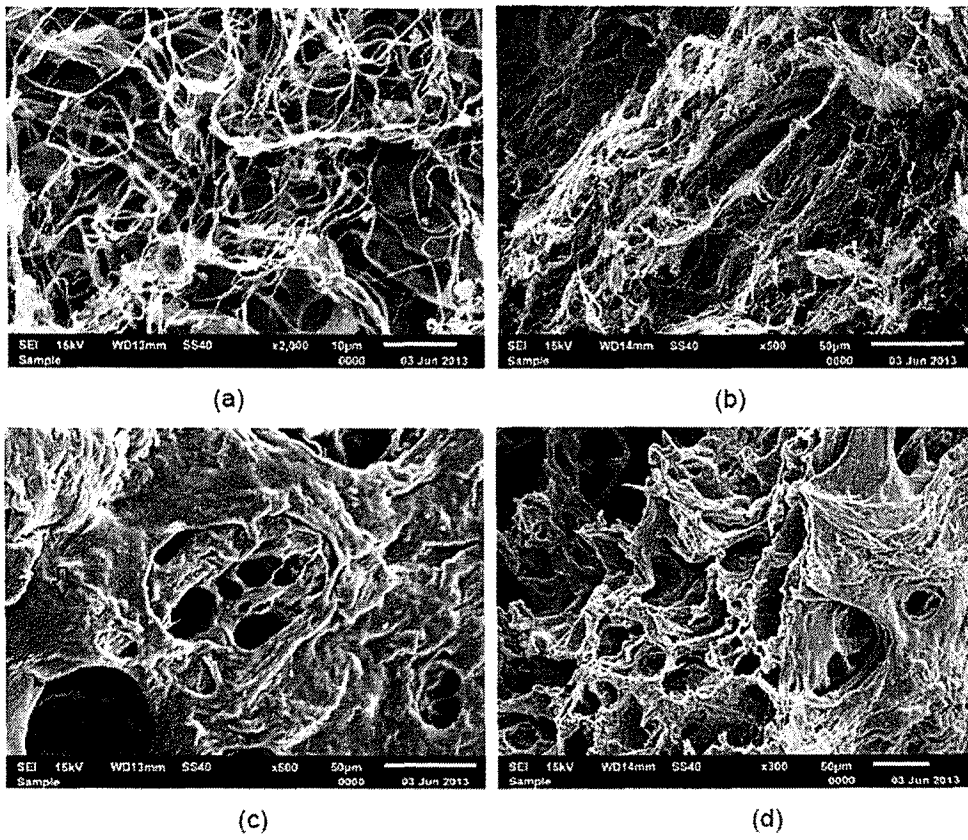
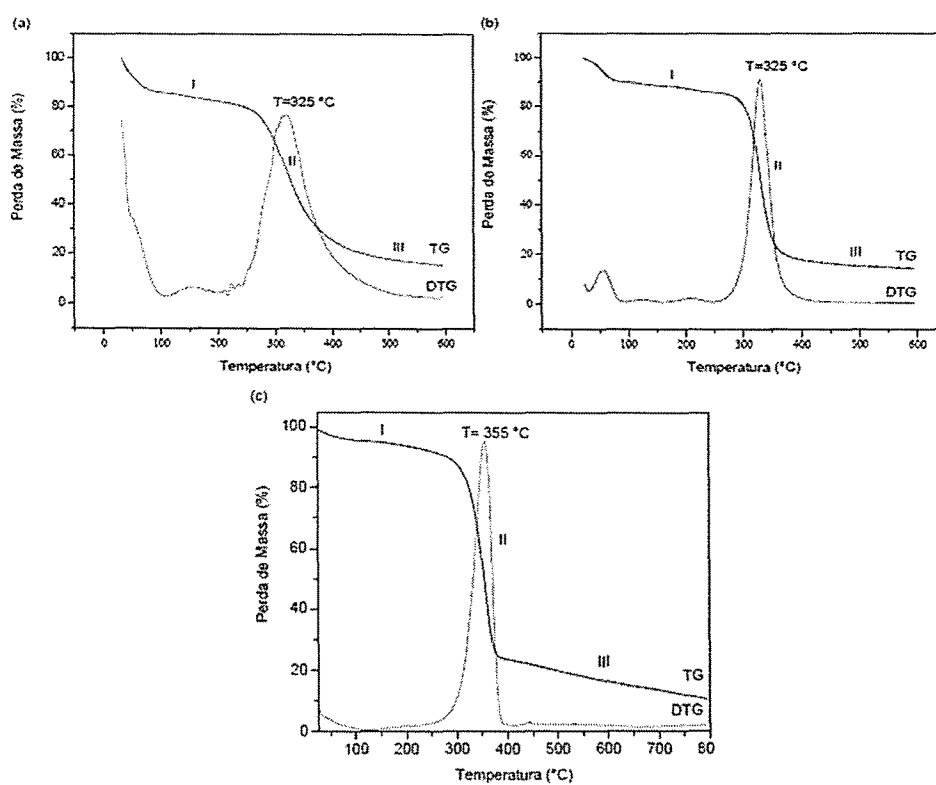
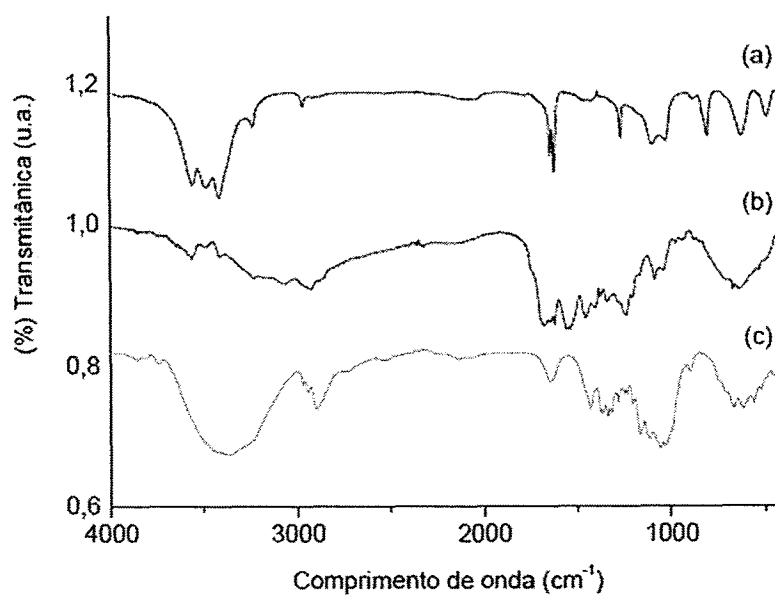
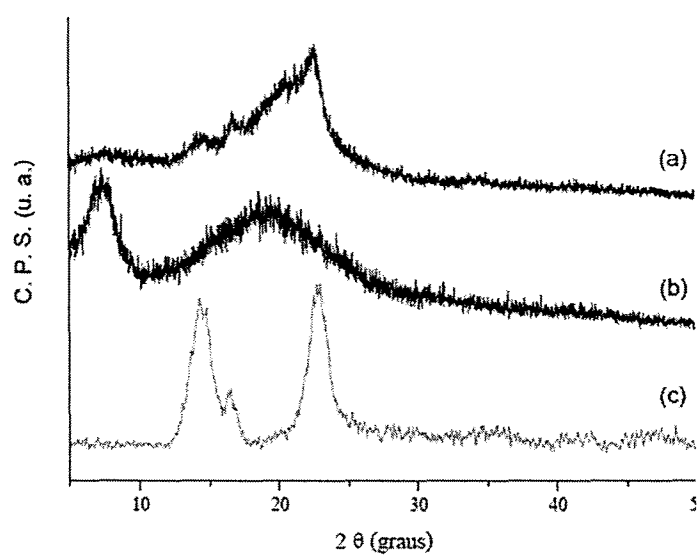


Figura 1

**Figura 2****Figura 3**

**Figura 4**

RESUMO**PROCESSO DE OBTENÇÃO DE COBERTURA À BASE DE CELULOSE BACTERIANA COM COLÁGENO E PRODUTO OBTIDO**

É descrita a invenção de um processo de obtenção de cobertura à base de celulose bacteriana com colágeno e o produto obtido para cicatrização de vários tipos de lesões da pele sob a forma de hidrogel que acompanha o processo da cicatrização, sendo biocompatível, atóxico, com propriedades de retenção de água e difusão de proteínas, impermeável a bactérias e que promove condições fisiológicas adequadas para a cicatrização, minimizando a irritação do tecido envolvente e favorecendo uma reparação tecidual mais rápida para feridas.