

Viabilidade do uso da nanocelulose bacteriana no tratamento de feridas induzidas em ratos wistar

Viability of the use of bacterial nanocellulose in the treatment of wounds induced in wistar rats

Viabilidad del uso de nanocelulosa bacteriana en el tratamiento de heridas inducidas en ratas wistar

Recebido: 28/08/2023 | Revisado: 05/09/2023 | Aceitado: 06/09/2023 | Publicado: 08/09/2023

Rafael Freitas Silva Peralta

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6170-830X>
Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil
E-mail: peraltarfs@gmail.com

Sabrina Devoti Vilela Fernandes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5593-0446>
Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil
E-mail: sabrina.devoti@hotmail.com

Guilherme Nascimento Cunha

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4703-7332>
Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil
E-mail: gncunha@unipam.edu.br

Dulcídio Barros Moreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2813-8987>
Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil
E-mail: dulcidiojr@unipam.edu.br

Resumo

Introdução: Desde a antiguidade, diversas modalidades de tratamento têm sido empregadas no manejo de feridas. Atualmente, curativos com nanocelulose bacteriana (NCB) destacaram como tratamento de lesões teciduais devido sua biocompatibilidade, capacidade de manutenção da umidade, estimulação de queratinócitos, fibroblastos e menores taxas de infecção. **Objetivo:** Analisar macroscopicamente e microscopicamente o processo cicatricial de feridas induzidas em ratos Wistar com uso de curativo com membrana de NCB. **Métodos:** Vinte ratos Wistar foram submetidos a duas incisões no dorso, correspondentes as Feridas Teste (FT), tratadas com o curativo de NCB, e Feridas Controle (FC), tratadas com gaze e solução fisiológica NaCl 0.9%. Os ratos foram distribuídos randômica e igualmente em quatro grupos de cinco ratos, de forma que G1 correspondeu ao grupo biopsiado 3 dias de pós-operatório, G2 em 7 dias, G3 em 14 dias e G4 em 21 dias. O material biopsiado foi utilizado para confeccionar lâminas histológicas coradas com Hematoxilina/Eosina e Tricrômico de Masson. **Resultados:** Não se observou presença de exsudato purulento, hemorragia ou formação de abscessos em ambos os grupos. A contração das bordas das FT se deu de forma estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação às FC. As FT apresentaram menor resposta inflamatória, reepitelização e redução do número de fibroblastos mais precoce, formação e organização antecipada das fibras colágenas. **Conclusão:** O uso de curativo com NBC promoveu uma contração precoce das bordas da ferida, menor resposta inflamatória, maior atração de fibroblastos, formação de colágeno e organização das fibras colágenas, resultando em uma cicatrização mais rápida.

Palavras-chave: Cicatrização; Ferimentos e lesões; Regeneração; Biomaterial.

Abstract

Introduction: Since antiquity, several treatments have been used to manage wounds. Currently, wound dressings with bacterial nanocellulose (BNC) have been used as treatment for tissue injuries, due to its biocompatibility, ability to maintain wound moisture, greater stimulation of keratinocytes, fibroblastos and lower infection rates. **Objective:** To analyze macroscopically and microscopically the healing process of wound induced in Wistar rats using a dressing composed of BNC membrane. **Methods:** Twenty Wistar rats were submitted to two incisions on the back, corresponding to Test Wounds (TW), treated with a dressing composed of BNC membrane, and Control Wounds (CW), treated with gauze and saline solution. The rats were randomly and equally divided into four groups of five rats, so that G1 corresponded to the group biopsied at 3 days postoperatively, G2 at 7 days, G3 at 14 days, G4 at 21 days. The material collected was used to make histological slides stained with Hematoxylin/Eosin and Masson's Trichrome. **Results:** There was no purulent exudate, hemorrhage or abscess formation in either group. The contraction of the TW borders was statistically significant ($p < 0,05$) compared to the CW. The TW showed a lower inflammatory response and an earlier rate of reepithelialization than CW, and exhibited an earlier reduction in the amount of

fibroblastos, as well as an earlier formation and organization of collagen fibers. Conclusion: The use of BNC dressing promoted early contraction of the wound edge, lower inflammatory response, greater attraction of fibroblastos, collagen formation, and organization of collagen fibers, resulting in faster healing.

Keywords: Wound healing; Wounds and injuries; Regeneration; Biomaterial.

Resumen

Introducción: Desde la antigüedad, se han empleado diversos tratamientos en el manejo de las heridas. Actualmente, apósitos con nanocelulosa bacteriana (NCB) han destacado como tratamiento de lesiones tissulares debido a su biocompatibilidad, capacidad para mantener la humedad, mayor estimulación de queratinócitos, fibroblastos, reepitelización y menores tasas de infección. Objetivo: Analizar macroscópica y microscópicamente el proceso de cicatrización de heridas inducidas en ratas Wistar con apósito de membrana de NCB. Métodos: Veinte ratas Wistar recibieron dos incisiones en su región dorsal, correspondientes a Heridas de Prueba (HP), tratadas con apósito de membrana de NCB, y Heridas de Control (HC), tratadas con gasa y solución salina. Las ratas fueron distribuidas de manera aleatoriamente equitativa en cuatro grupos de cinco ratas, de modo que G1 correspondió al grupo biopsiado a los 3 días del postoperatorio, G2 7 días, G3 14 días y G4 21 días. El material recoletado se utilizó para preparar portaobjetos histológicos teñidos con Hematoxilina/Eosina y Tricrómico de Masson. Resultados: No se observó exudado purulento, hemorragia o formación de abscesos en los grupos. La contracción de los bordes de las HP fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en comparación con las HC. Las HP tenía una respuesta inflamatoria menor, reepitelización y reducción de fibroblastos más temprana y una rápida formación y organización del colágeno. Conclusión: El uso de apósito de NCB promovió la contracción temprana de los bordes de la herida, una respuesta inflamatoria reducida, mayor atracción de fibroblastos, formación y organización de las fibras de colágeno, resultando en una cicatrización más rápida.

Palabras clave: Cicatrización de heridas; Heridas y lesiones; Regeneración; Biomaterial.

1. Introdução

Desde a antiguidade, são estudadas diversas tentativas de intervir no processo cicatricial das feridas acidentais, com o intuito de protegê-las e evitar complicações e danos ao reparo tecidual (Mandelbaum et al., 2003).

Ao longo dos anos, diversas modalidades de tratamento, como curativos tópicos de gazes úmidas, pomadas e uso de antissépticos, têm sido empregadas no manejo de feridas. Embora essas abordagens convencionais tenham se mostrado promissoras, elas interferem de maneira limitada na reparação tecidual por não participarem de maneira ativa no processo de cicatrização (Negut et al., 2018).

Atualmente, novas estratégias têm sido exploradas na tentativa de acelerar o reparo tissular atuando na sequência de eventos bioquímicos e fisiológicos desse processo. Dentre elas, destacam-se curativos para proteção contra contaminação externa, óleos essenciais, mel, celulose vegetal, hidrogéis industrializados, laser microcorrente, ultrassom e radiação ultravioleta (Okuni, 2012; Aumeeruddy-Elalfi et al., 2016).

Outra proposta que têm ganhado destaque devido a sua semelhança bioquímica com o tecido nativo são os polímeros naturais, tendo como principal representante a nanocelulose bacteriana (Barud et al., 2016). Trata-se de biocompostos formados por nanofibras produzidas por várias espécies de bactérias, incluindo *Acetobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium* e *Sarcina* (El-Saied et al., 2004).

Devido sua alta biocompatibilidade, a nanocelulose bacteriana tem sido amplamente utilizada em situações que há perda de tecido, como na regeneração vascular, engenharia de tecidos ósseos, substituição de válvula cardíaca, tratamento de perfuração de membrana timpânica e na cura de feridas (Torres et al., 2012; Pinho et al., 2020).

Dentre as características terapêuticas que favorecem o processo de reparo tissular, o biomaterial favorece controle da dor e da inflamação, aumenta absorção de exsudatos, promove manutenção da umidade da ferida e dos fatores de crescimento, beneficiando a granulação e reepitelização. Além disso, graças à menor necessidade de frequentes trocas do curativo, apresenta menor taxa de contaminação e infecção (Vieira et al., 2007; Coelho et al., 2020).

Essa alternativa terapêutica tem sido amplamente difundida na literatura médica em busca de maior qualidade, eficácia, segurança e acessibilidade de curativos para feridas e queimaduras. No entanto, ainda existem dúvidas a respeito de

suas propriedades, mostrando-se necessários novos estudos sobre sua aplicabilidade. Dessa forma, o presente estudo objetivou avaliar a eficácia terapêutica da membrana de nanocelulose bacteriana no processo de cicatricial de feridas induzidas em ratos Wistar.

2. Metodologia

Tratou-se de um estudo experimental executado após a aprovação do Comitê de Ética de Uso de Animais sob o número de protocolo 123/21. Estudos experimentais realizam intervenções na amostra escolhida e avaliam as repercussões da mesma (Pereira, et al, 2018). Nesse caso, utilizou-se 20 ratos Wistar provenientes de um biotério localizado em uma Instituição de Ensino Superior. Este possui sistema de dois corredores (limpo e sujo) entre as salas de experimentação, com fluxo de pessoas e insumos definido, e são protegidas com barreiras sanitárias (autoclave de barreira, sistema de filtração de ar, diferencial de pressão, air-lock etc.). A temperatura ambiente é controlada à 22°C. Possui um sistema de insuflação, exaustão e filtração do ar das salas, impedindo a dispersão da amônia no ambiente, realizando 15 a 20 trocas de ar/hora e o ciclo de luz é definido 12 horas de claro e 12 horas de escuro.

Os animais foram distribuídos randômica e igualmente em quatro grupos, contendo cinco ratos/grupo. Em cada um dos ratos, indiferente ao grupo que pertencer, foi realizado duas incisões no dorso. Uma delas recebeu o tratamento com a membrana de nanocelulose bacteriana e a outra recebeu uma solução placebo com gaze e solução fisiológica NaCl 0,9%. Dessa forma, os animais de cada grupo pertenceram tanto ao grupo teste quanto ao grupo controle.

Após contenção manual, por apreensão digital da região dorsal, os animais foram submetidos a anestesia dissociativa injetável, utilizando a associação de Midazolam na dose de 2mg/kg, Cloridrato de Xilazina na dose de 10mg/kg e Cloridrato de Cetamina na dose de 70mg/Kg, todos por via intraperitoneal. Foi realizada a analgesia com Tramadol, utilizando-se 8mg/kg por via subcutânea. Em seguida, os animais foram posicionados em decúbito ventral e submetidos a ampla tricotomia na região torácica dorsal, iniciando-se nas escápulas até o último par de costelas. Posteriormente a tricotomia, foi realizada antisepsia com campo cirúrgico e iodo povidona a 0,2%.

Após a anestesia, as áreas das incisões circulares foram demarcadas no dorso dos animais utilizando-se um punch keys metálico de biópsia de 1cm de diâmetro, que foi introduzido em dois locais na linha sagital mediana torácica dorsal, sendo a primeira no terço proximal e a segunda no terço distal. Após a demarcação, foram realizadas as incisões circulares nas áreas delimitadas transpassando a pele e a tela subcutânea com auxílio de bisturi (cabo nº 3 e lâmina nº 15), tesoura metzenbaum reta e pinça anatômica, realizando desta forma a exérese do fragmento da pele e conseqüentemente expondo a fáscia muscular dorsal. A hemostasia foi realizada, quando necessária, através de tamponamento compressivo com gaze por dois minutos. Em seguida, os animais foram devidamente identificados com uso de pincel de diferentes cores e colocados em minis isoladores individuais (Silva, 2006).

O curativo tópico na Ferida Teste de todos os grupos foi realizado com uso de membrana regeneradora porosa composta por nanocelulose bacteriana previamente ajustada às dimensões de 3 cm² precedida da limpeza da lesão com soro fisiológico 0,9%. A Ferida Controle também foi tratada por via tópica, porém com curativo de gaze e solução fisiológica NaCl a 0,9%. Nos três primeiros dias do pós-operatório, Dipirona Sódica foi administrado nos animais na dose de 300mg/kg, por via subcutânea, uma vez ao dia, para analgesia e controle da dor.

Os ratos divididos nos quatro grupos formaram os grupps: Grupo 1 (G1) - cinco ratos submetidos a biópsia após três dias de pós-operatório; Grupo 2 (G2) - cinco ratos submetidos a biópsia após sete dias de pós-operatório; Grupo 3 (G3) - cinco ratos submetidos a biópsia após 14 dias de pós-operatório; Grupo 4 (G4) - cinco ratos submetidos a biópsia no 21º dia do pós-operatório.

Os animais foram acondicionados em mini isoladores, contendo um rato cada, acoplados a uma rack ventilada durante

os três primeiros dias de cicatrização. Após este período os animais do mesmo grupo serão alocados em mini isoladores com até cinco ratos. A alimentação e água serão fornecidas ad libidum. A cama será de maravalha de pinus. Todo o sistema é ligado a um gerador, que garante a manutenção em caso de falta de energia elétrica.

A avaliação macroscópica das feridas foi realizada no dia da incisão e no dia da biópsia, utilizando um paquímetro digital. Os valores encontrados foram adicionados em uma planilha e analisados de forma estatística. Foram também avaliados o aspecto, coloração do leito da ferida, presença de crostas, exsudação e prurido, sendo todas as lesões fotografadas.

Findado os 3^o, 7^o, 14^o e 21^o dias após-incisão, os animais foram anestesiados com o mesmo protocolo acima descrito e então realizado a biópsia da cicatriz, utilizando-se bisturi n^o3 para realizar incisão elíptica e retirando-se todo o tecido cicatricial. A amostra foi armazenada em frascos devidamente identificados e fixada em solução de formaldeído a 10% tamponada. Os fragmentos de biópsias foram encaminhados ao Laboratório de Histopatologia do Centro Clínico Veterinário da cidade.

Imediatamente após a biópsia e com os animais ainda sob anestesia, foi realizada a eutanásia com dose letal, três vezes a dose para anestesia, de Cetamina (210 mg/kg) associada a Xilazina (30 mg/kg) e Midazolam (6 mg/kg) administrados por via intraperitoneal.

Os animais que apresentaram sinais clínicos de dor foram tratados com Tramadol, utilizando-se 8mg/kg por via subcutânea (SC). Não houve necessidade de eutanásia por quadro clínico desfavorável.

No laboratório de histopatologia, amostras foram fixadas, desidratadas e emblocadas em parafina. Em seguida, foram realizados os cortes histológicos com 5µm de espessura e fixados dois cortes por amostra em cada lâmina para leitura dupla. Após, as lâminas foram coradas com Hematoxilina Eosina (HE) para avaliar globalmente os cortes de tecido, e pelo Tricrômico de Masson (TM) para avaliação das fibras colágenas.

Findado os processos de coloração e secagem, as lâminas foram analisadas em microscopia de luz em objetiva de 20 e 100X, observando-se: presença de células inflamatórias, neovascularização, proliferação fibroblástica, colagenização e reepitelização tecidual.

Foi realizada análise estatística descritiva da frequência absoluta (n) e relativa (%) das variáveis macro e microscópicas avaliadas no estudo. Para as variáveis Macroscópicas e das fibras colágenas, foi aplicado o teste de normalidade Shapiro- Wilk. Nos casos de normalidade e variâncias, foram aplicados os testes de ANOVA e post hoc de para Ferida Teste e Ferida Controle separadamente. Para comparação entre FC e FT, foi aplicado teste ANOVA Two Way post hoc Tukey, e posteriormente os testes não paramétricos qui-quadrado e regressão logística. Para todos os testes foi utilizada a significância de 5%.

3. Resultados e Discussão

3.1 Cicatrização

Agressões teciduais de qualquer natureza desencadeiam de imediato uma série de respostas fisiológicas resultantes de ativação de células estromais, nervosas, vasculares e circulatórias e liberação de fatores inflamatórios e de crescimento. (Goodarzi et al., 2018) Esses eventos fazem parte de uma cascata de reparação tecidual, que pode ser dividida em fases sobrepostas: hemostasia, inflamação, proliferação celular e remodelação. (Wang et al., 2018).

A hemostasia se inicia imediatamente após a formação da ferida, caracterizada pela ativação de plaquetas, da cascata de coagulação e liberação de mediadores inflamatórios (Garraud et al., 2017), formando um coágulo composto por fibrina e colágeno (Kumar et al., 2010).

É observado grande concentração de neutrófilos, que realizam a destruição bacteriana, e de macrófagos, que realizam função fagocitária e secretam fatores quimiotáticos, fatores de crescimento e prostaglandinas (Han & Ceilley, 2017).

A fase proliferativa é importante para o fechamento da ferida, com reparação do tecido conjuntivo e epitelial. É caracterizada pela reepitelização, angiogênese, formação de tecido de granulação e deposição de colágeno (Wang et al., 2018).

O tecido de granulação é produzido por volta de quatro dias após a lesão, constituído por vasos sanguíneos neoformados, fibroblastos, elastina, colágeno, entre outros. (Gonzales et al., 2016). A diferenciação dos fibroblastos em miofibroblastos, dá início a fase de contração das paredes da lesão, reduzindo a área de sangramento (Asai et al., 2018).

Para que ocorra a reepitelização, é preciso que haja atração de queratinócitos às margens da ferida. Ocorre aumento de tamanho, divisão e migração das células da camada basal da epiderme sobre a área de reparação (Koike et al., 2020).

Na fase de remodelação há deposição, organização e maturação do colágeno, que se torna mais espesso e resistente, e dos elementos da matriz extracelular. Há diminuição da atividade celular e do número de vasos sanguíneos (Asai et al., 2018). Mesmo após um ano de cicatrização da ferida, o colágeno produzido não tem as mesmas propriedades e força tênsil da pele sã, atingindo um máximo de 80% após três meses (Medeiros & Filho, 2016).

3.2 Celulose Bacteriana

A nanocelulose bacteriana é um biopolímero produzido por bactérias de várias espécies, como *Acetobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium* e *Sarcina* (El-Saied et al., 2004). Por sua biocompatibilidade, maleabilidade, elasticidade, capacidade de manter o ambiente úmido e de absorver exsudatos inflamatórios, é amplamente utilizada na área médica, destacando-se na engenharia de tecido ósseo, no reparo de vasos sanguíneos e tecidos, em prótese valvar cardíaca, na síntese de lentes de contato e no tratamento de perfuração de membrana timpânica (Torres et al., 2012; Pinho et al., 2020).

Dentre as diversas opções terapêuticas, a nanocelulose bacteriana tem sido comercializada como a opção ideal para feridas e queimaduras. Por mérito de sua alta biocompatibilidade *in vivo*, promove uma cicatrização mais eficiente que outros polímeros disponíveis, tais como colágeno, quitosana e gelatina (Ullah et al., 2016).

Seu uso empregado com a incorporação outros componentes, como drogas, (Napavichayanun et al., 2016) nanopartículas (Khalid et al., 2017), biopolímeros (Moraes et al., 2016) e células com atividade antimicrobiana ou indutoras da regeneração tecidual (Loh et al., 2018), demonstrou resultados promissores.

3.3 Análise Macroscópica

Ao analisar macroscopicamente as Feridas Teste e Controle, não se observou presença de exsudato purulento, hemorragia ou formação de abscesso em ambos os grupos, resultados semelhantes aos relatados por Fu, Zhang, Yang (2012) e Hakkarainen et al. (2016). Coelho et al. (2020) obteve em seu estudo com feridas em ratos causadas por queimaduras uma diferença maior no aspecto macroscópico nas feridas tratadas com celulose bacteriana em relação ao grupo controle composto por curativo contendo apenas gaze.

Conforme Abruzeze (2013), ratos Wistar são naturalmente resistentes a infecções devido a várias características imunológicas intrínsecas. Tizard (2019) descreve que as condições genéticas destes animais, como a expressão de glicoproteínas, conferem proteção a vários patógenos, evitando a propagação de infecções e conseqüentemente formação de exsudato ou abscessos. Este fato justifica a ausência de exsudato observado no presente estudo.

Foi evidenciado que as feridas tratadas com a membrana de nanocelulose bacteriana apresentaram uma contração (Figura 1) estatisticamente significativa ($p < 0,05$) no diâmetro das Feridas Teste quando comparada com o diâmetro das Feridas Controle, conforme pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1 - Média do diâmetro (mm) das feridas Controle e Teste em ratos Wistar ao 3º, 7º, 14º e 21º dia pós-operatório, Patos de Minas, MG, 2023.

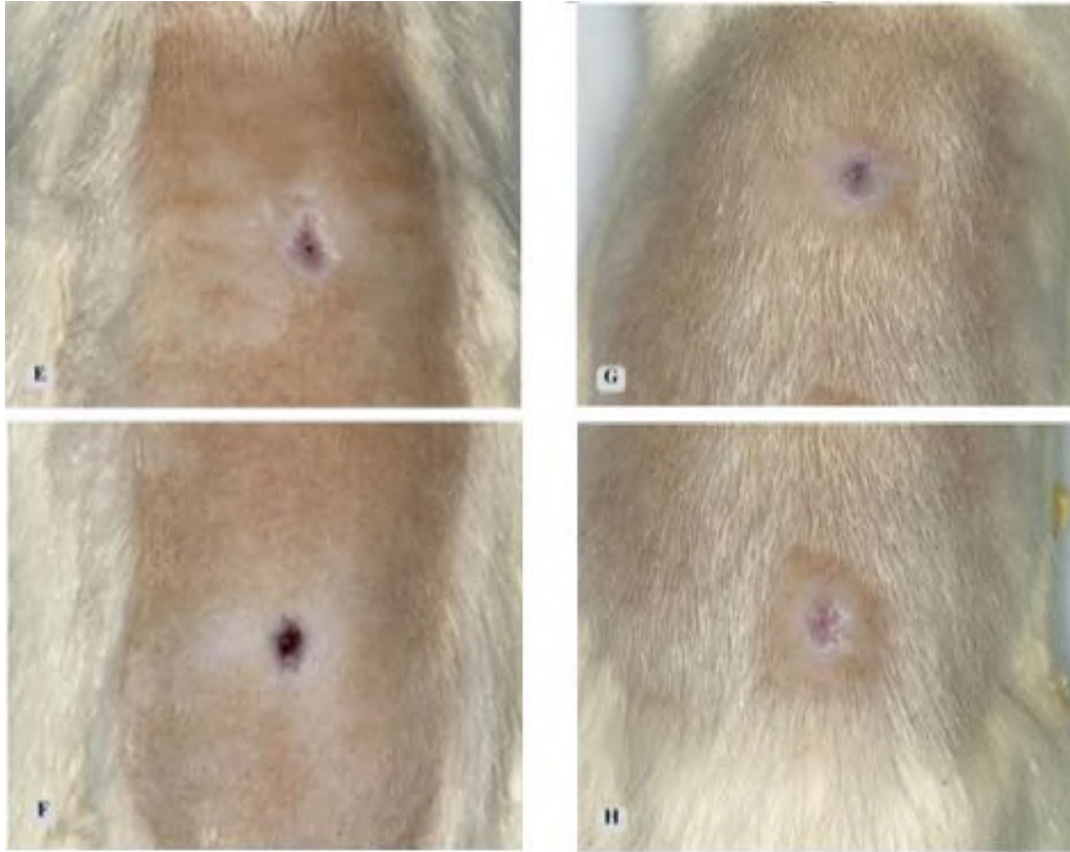
| Média dos diâmetros (mm) | | | | | | | | P |
|--------------------------|-------|-----------|------|------------|------|------------|------|---------|
| 3º dia PO* | | 7º dia PO | | 14º dia PO | | 21º dia PO | | |
| FC** | FT*** | FC | FT | FC | FT | FC | FT | |
| 4,54 | 3,67 | 3,69 | 2,74 | 9,59 | 7,44 | 10,07 | 7,09 | 0,00047 |

*PO – Pós-Operatório; ** FC – Ferida Controle; ***FT – Ferida Teste. Fonte: Autoria própria.

Resultados similares a esses foram relatados por Napavichayanun et al. (2018), que descreveram que o curativo composto por celulose bacteriana apresentou maior redução do diâmetro da ferida quando comparado ao grupo controle tratado com algodão, clorexidina e parafina. Moraes (2016) também encontrou em seu estudo com hidrogel constituído por celulose bacteriana uma redução de forma mais evidente do diâmetro das feridas em relação ao grupo controle. De forma semelhante, Coelho et al. (2020) obtiveram também efeito benéfico nas feridas causadas por queimaduras em ratos tratadas com celulose bacteriana em comparação ao grupo tratado com apenas gaze. Importante destacar que a redução do diâmetro das Feridas Teste se deu de forma mais expressiva após o 14º dia, fato este também relatado por Coelho et al. (2020).

Figura 1 - Fotografia das Feridas Teste (FT) e Controle (FC). A) diâmetro da FT aos 3 dias de tratamento (G1); B) diâmetro da FC em G1; C) diâmetro da FT aos 7 dias de tratamento (G2); D) diâmetro da FC em G2: 13,64 mm; E) diâmetro da FT aos 14 dias de tratamento (G3); F) diâmetro da FC em G3; G) diâmetro da FT aos 21 dias de tratamento (G4); H) diâmetro da FC em G4.





Fonte: Autoria própria.

Meyer, Reis e Porto (2017) e Asai et al. (2018) justificaram esses achados devido ao potencial da membrana feita com nanocelulose estimular o crescimento e deslocamentos das células, promovendo a defesa das margens em direção ao centro da lesão e facilitando a cicatrização.

3.4 Análise Microscópica

Ao avaliar histologicamente os tecidos biopsiados, observou-se que, tanto no Grupo Teste como no Controle, houve uma diminuição progressiva da resposta inflamatória ao longo do tempo (Tab. 2), correspondendo ao processo fisiológico da cicatrização demonstrado por Leal e Carvalho (2014) e Souza et al. (2023).

No entanto, as Feridas Teste apresentaram menor resposta inflamatória quando comparadas às FC. Essa diferença ficou ainda mais evidente no G2 (7º dia pós-operatório) e G3 (14º dia pós-operatório), em que se notou redução mais expressiva do número de células inflamatórias, de forma que a nanocelulose bacteriana mostrou-se mais eficiente após o 7º dia de cicatrização conforme a Tabela 2 e Figura 2.

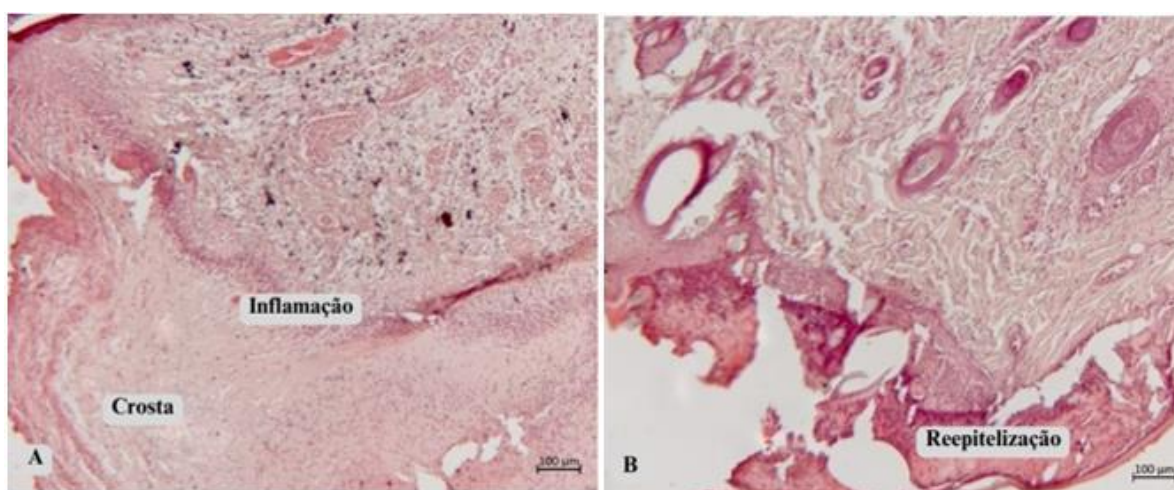
Tabela 2 – Frequência absoluta (n) e relativa (%) da intensidade do processo inflamatório observado nas Feridas Controle e Teste de ratos Wistar de acordo com o período pós-operatório, Patos de Minas, MG, 2023.

| Tempo | Ferida | Intensidade de Inflamação | | | | | | | | | |
|---------|----------|---------------------------|----|------|-----|----------|----|---------------------|-----|-------|-----|
| | | Ausente | | Leve | | Moderado | | Acentuado ou Severo | | Total | |
| | | N | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| 3 dias | Controle | 0 | 00 | 0 | 00 | 0 | 00 | 5 | 100 | 5 | 100 |
| | Teste | 0 | 00 | 0 | 00 | 0 | 00 | 5 | 100 | 5 | 100 |
| 7 dias | Controle | 0 | 00 | 0 | 00 | 1 | 20 | 4 | 80 | 5 | 100 |
| | Teste | 2 | 40 | 0 | 00 | 2 | 40 | 1 | 20 | 5 | 100 |
| 14 dias | Controle | 0 | 00 | 1 | 20 | 0 | 00 | 4 | 80 | 5 | 100 |
| | Teste | 0 | 00 | 4 | 80 | 0 | 00 | 1 | 20 | 5 | 100 |
| 21 dias | Controle | 0 | 00 | 5 | 100 | 0 | 00 | 0 | 00 | 5 | 100 |
| | Teste | 4 | 80 | 1 | 20 | 0 | 00 | 0 | 00 | 5 | 100 |

Fonte: Autoria própria.

Moraes (2016) encontrou resultado similar em seu estudo com curativo à base de hidrogel de celulose bacteriana, pomada de colagenase e ferida não tratada em dorso de ratos. De forma semelhante, tanto o estudo de Nepavichayanun et al. (2018) envolvendo enxerto de pele quanto o de Mao et al. (2021) relacionado a feridas causadas por queimadura, também descreveram que as feridas tratadas com celulose bacteriana evoluíram com diminuição mais expressiva da resposta inflamatória, principalmente a partir do 7º dia, quando comparadas aos grupos controle.

Figura 2 - Fotografia da análise microscópicas das lâminas coradas em hematoxilina e eosina das Feridas Teste (FT) e Controle (FC). A) Fotomicrografia da FC após 7 dias de tratamento (G4) demonstrando presença de inflamação intensa e ausência de epitelização. B) Fotomicrografia da FT após 7 dias de tratamento (G4) demonstrando presença de inflamação leve e reepitelização. Microscopia de luz. Aumento de 100x.



Fonte: Autoria própria.

Colli et al. (2023) relataram que a estrutura porosa do curativo de nanocelulose bacteriana é capaz de melhorar a circulação de ar e umidade e remover fluidos em excesso, além de que sua biocompatibilidade com o tecido evita reações imunológicas exageradas, interferindo, possivelmente, na liberação de mediadores inflamatórios. Essas propriedades fornecem benefícios na reparação de tecidos lesados como descritas nos estudos de Moraes (2016) e de Pinho et al. (2020), os quais

destacaram seu uso envolvendo reparação vascular, tecido ósseo, válvulas cardíacas, como curativo para úlceras crônicas, queimaduras, dermoabrasão e áreas doadoras de pele.

Referente ao processo de reepitelização, este mostrou-se presente a partir do 7º dia, sendo que a Ferida Teste se mostrou mais precoce do que a Controle, uma vez que esta última apenas apresentou reepitelização após o 14º dia, conforme expresso na Tabela 3 e Figura 2.

Estes achados sugerem que a aplicação da nanocelulose bacteriana pode estar associada a uma maior taxa de reepitelização, especialmente após a fase inflamatória (após o 7º dia), em que foi possível observar variações biológicas entre as Feridas Controle e Teste.

Tabela 3 – Frequência absoluta (n) e relativa (%) da reepitelização observada nas Feridas Controle e Teste de ratos Wistar de acordo com o período pós-operatório, Patos de Minas, MG, 2023.

| Tempo | Ferida | Reepitelização | | | | | |
|---------|----------|----------------|----|---------|-----|-------|-----|
| | | Presente | | Ausente | | Total | |
| | | n | % | n | % | n | % |
| 3 dias | Controle | 0 | 00 | 5 | 100 | 5 | 100 |
| | Teste | 0 | 00 | 5 | 100 | 5 | 100 |
| 7 dias | Controle | 0 | 00 | 5 | 100 | 5 | 100 |
| | Teste | 2 | 40 | 3 | 60 | 5 | 100 |
| 14 dias | Controle | 1 | 20 | 4 | 80 | 5 | 100 |
| | Teste | 4 | 80 | 1 | 20 | 5 | 100 |
| 21 dias | Controle | 4 | 80 | 1 | 20 | 5 | 100 |
| | Teste | 4 | 80 | 1 | 20 | 5 | 100 |

*Letras minúsculas iguais não apresentam diferença estatística entre si. Fonte: Autoria própria.

Esse resultado foi compatível com o encontrado por Moraes (2016), que mostrou que o curativo de hidrogel constituído por celulose bacteriana promoveu uma reepitelização mais rápida e melhor em 7-15 dias de pós-operatório em relação a outros grupos estudados.

Swingler et al. (2021) e Bayazidi et al. (2018) descreveram que o processo de reepitelização sofre grande influência das propriedades biocompatíveis intrínsecas da nanocelulose e que sua capacidade de reduzir o dano citotóxico, estimular a angiogênese e manter a hidratação do leito da ferida facilita o processo de reepitelização.

Sabe-se que a presença de fibroblastos é essencial para o processo de contração das bordas da ferida, de forma a reduzir a área de sangramento e facilitar a cicatrização (Asai et al., 2018). Ao avaliar as feridas, encontrou-se no atual estudo padrões variados na presença e distribuição de fibroblastos, conforme Tabela 4. Notou-se também diferença biológica na quantidade de fibroblastos entre as feridas, observando que as FT apresentaram uma redução mais precoce na quantidade destas células em relação às FC com o aumento no tempo de tratamento (do 3º ao 21º dia pós-operatório), conforme pode ser evidenciado na Tabela 4 e Figura 3.

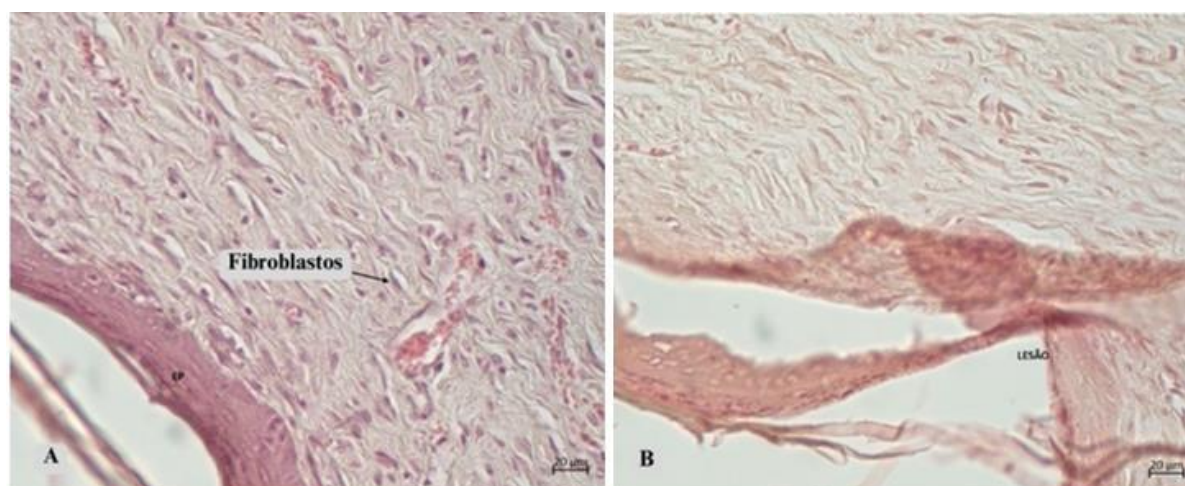
Tabela 4 – Frequência absoluta (n) e relativa (%) da presença e distribuição de fibroblastos observados nas Feridas Controle e Teste de ratos Wistar de acordo com o período pós-operatório, Patos de Minas, MG, 2023.

| Tempo | Ferida | Nível de Fibroblastos | | | | | | | | Total | |
|---------|----------|-----------------------|----|------|----|----------|---------------------|---|-----|-------|-----|
| | | Ausente | | Leve | | Moderado | Acentuado ou Severo | | | | |
| | | n | % | n | % | % | n | % | n | % | |
| 3 dias | Controle | 0 | 00 | 0 | 00 | 0 | 0 | 5 | 100 | 5 | 100 |
| | Teste | 0 | 00 | 0 | 00 | 0 | 0 | 5 | 100 | 5 | 100 |
| 7 dias | Controle | 1 | 20 | 1 | 20 | 2 | 40 | 1 | 20 | 5 | 100 |
| | Teste | 2 | 40 | 1 | 20 | 2 | 20 | 0 | 00 | 5 | 100 |
| 14 dias | Controle | 0 | 00 | 0 | 00 | 1 | 20 | 4 | 80 | 5 | 100 |
| | Teste | 0 | 00 | 0 | 00 | 4 | 80 | 1 | 20 | 5 | 100 |
| 21 dias | Controle | 0 | 00 | 1 | 20 | 2 | 40 | 2 | 40 | 5 | 100 |
| | Teste | 3 | 60 | 0 | 00 | 1 | 20 | 1 | 20 | 5 | 100 |

Fonte: Autoria própria.

Esse resultado se mostrou similar ao descrito por Loh et al. (2018), que trabalhou com curativo de hidrogel contendo celulose bacteriana em ferida causada por queimadura e obtiveram adesão mais rápida de queratinócitos e fibroblastos pelo curativo empregado. De forma semelhante, Mao et al. (2021) relataram que hidrogéis constituídos por celulose bacteriana demonstraram excelente desempenho de cicatrização de feridas cutâneas em ratos e relacionou esse achado a uma maior deposição de colágeno, angiogênese e ativação e diferenciação de fibroblastos em relação a outros grupos testados com curativo com gaze.

Figura 3 - Fotografia da análise microscópicas das lâminas coradas em hematoxilina e eosina das Feridas Teste (FT) e Controle (FC). A) Fotomicrografia da FC após 21 dias de tratamento (G4) demonstrando presença de fibroblastos. B) Fotomicrografia da FT após 21 dias de tratamento (G4) demonstrando ausência de fibroblastos. Microscopia de luz. Aumento de 400x.



Fonte: Autoria própria.

A maior presença de fibroblastos na Ferida Teste quando comparada a Controle sugere um efeito de tropismo positivo para fibroblastos, o que poderia justificar sua presença precoce na ferida tratada com a membrana de nanocelulose. Conforme Mohamed et al. (2018), esses achados se relacionam aos benefícios da sua biocompatibilidade, da sua capacidade de manter o

ambiente hidratado e de controlar a inflamação, estimulando a propagação, migração e expressão de fibroblastos e linhas celulares endoteliais. Mao et al. (2021) descreveram que a formação de tecido de granulação, deposição de colágeno, angiogênese e ativação e diferenciação de fibroblastos é facilitada com o emprego da celulose bacteriana.

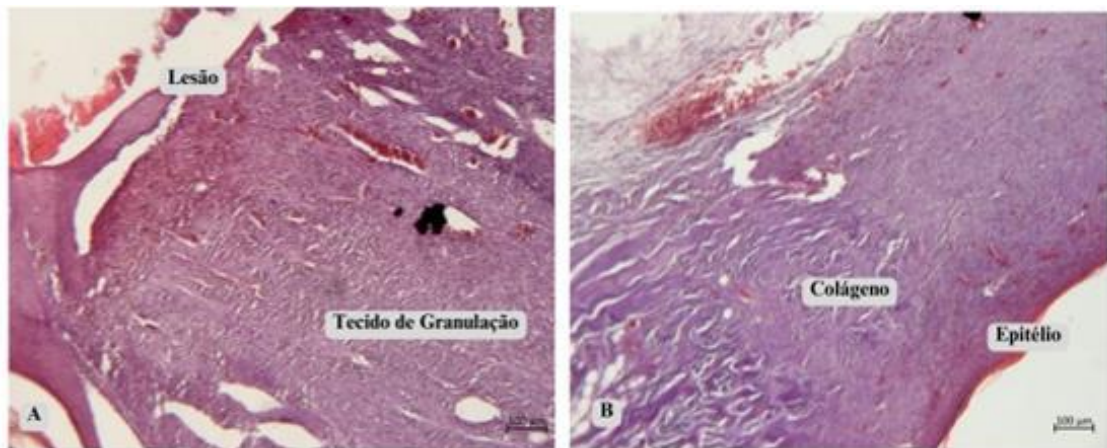
A análise do colágeno foi feita cruzando-se os dados histopatológicos obtidos a partir das lâminas coradas por HE e por Tricrômico de Masson. De acordo com os dados da Tabela 5, notou-se que as FT mostraram 100% de presença de colágeno de maneira mais precoce que as FC ao 14º dia (Figura 4).

Tabela 5 – Frequência absoluta (n) e relativa (%) da presença de fibras colágenas observados nas Feridas Controle e Teste de ratos Wistar de acordo com o período pós-operatório, Patos de Minas, MG, 2023.

| Tempo | Ferida | Fibras colágenas | | | | | | P Valor |
|---------|----------|------------------|----|----------|-----|-------|-----|---------|
| | | Ausente | | Presente | | Total | | |
| | | n | % | n | % | n | % | |
| 3 dias | Controle | 3 | 60 | 2 | 40 | 5 | 100 | 0,524 |
| | Teste | 1 | 20 | 4 | 80 | 5 | 100 | |
| 7 dias | Controle | 2 | 40 | 3 | 60 | 5 | 100 | 1,00 |
| | Teste | 2 | 40 | 3 | 60 | 5 | 100 | |
| 14 dias | Controle | 2 | 40 | 3 | 60 | 5 | 100 | 0,44 |
| | Teste | 0 | 0 | 5 | 100 | 5 | 100 | |
| 21 dias | Controle | 0 | 0 | 5 | 100 | 5 | 100 | 1,00 |
| | Teste | 0 | 0 | 5 | 100 | 5 | 100 | |

Fonte: Autoria própria.

Figura 4 – Fotografia da análise microscópicas das lâminas coradas em Tricrômico de Masson das Feridas Teste (FT) e Controle (FC). A) Fotomicrografia da FC após 14 dias de tratamento (G4) demonstrando ausência de colágeno. B) Fotomicrografia da FT após 14 dias de tratamento (G4) demonstrando presença de colágeno. Microscopia de luz. Aumento de 100x.



Fonte: Autoria própria.

Evidenciou-se também uma organização antecipada de fibras colágenas nas FT (Tabela 6), contrapondo as FC que ao final de 21 dias ainda era possível encontrar fibras desorganizadas.

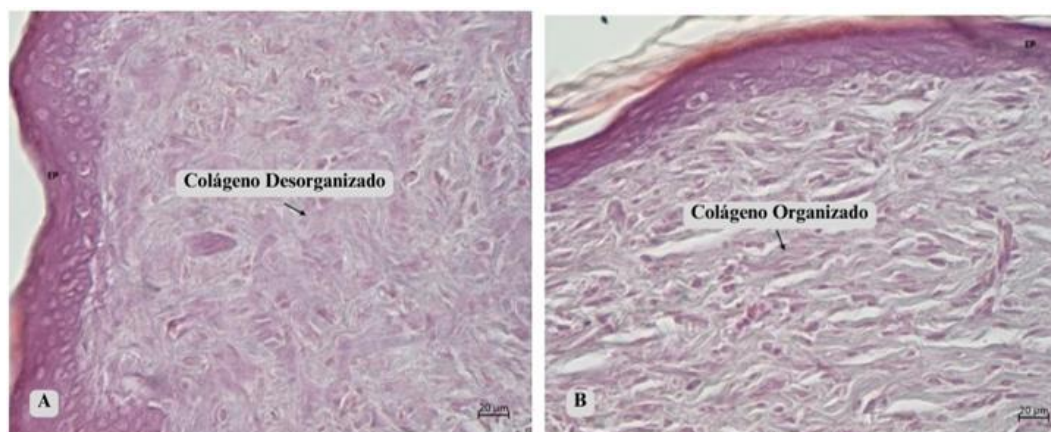
Tabela 6 – Frequência absoluta (n) e relativa (%) da organização das fibras colágenas observados nas Feridas Controle e Teste de ratos Wistar de acordo com o período pós-operatório, Patos de Minas, MG, 2023.

| Tempo | Ferida | Fibras colágenas | | | | | | P Valor |
|---------|----------|------------------|-----|----------------|-----|-------|-----|---------|
| | | Organizadas | | Desorganizadas | | Total | | |
| | | N | % | n | % | n | % | |
| 3 dias | Controle | 0 | 0 | 2 | 100 | 2 | 100 | 0,467 |
| | Teste | 2 | 50 | 2 | 50 | 4 | 100 | |
| 7 dias | Controle | 1 | 33 | 2 | 66 | 3 | 100 | 0,400 |
| | Teste | 3 | 100 | 0 | 0 | 3 | 100 | |
| 14 dias | Controle | 2 | 66 | 1 | 33 | 3 | 100 | 0,375 |
| | Teste | 5 | 100 | 0 | 0 | 5 | 100 | |
| 21 dias | Controle | 3 | 60 | 2 | 40 | 5 | 100 | 0,444 |
| | Teste | 5 | 100 | 0 | 0 | 5 | 100 | |

Fonte: Autoria própria.

Mao et al. (2021) relataram que o grupo tratado por curativos de celulose bacteriana mostrou maior deposição de colágeno em relação ao grupo controle contendo curativos com gaze, principalmente após o 7º e 14º dia de cicatrização, além de que o grupo teste apresentou melhor organização das fibras de colágeno quando comparadas ao grupo controle. Loh et al. (2018) e Napavichayanun et al. (2018) demonstraram também uma maior deposição de colágeno nas feridas tratadas com a nanocelulose em comparação ao grupo controle, ferida não tratada e curativo de clorexidina e parafina, respectivamente.

Figura 5 – Fotografia da análise microscópicas das lâminas coradas em Tricrômico de Masson das Feridas Teste (FT) e Controle (FC). A) Fotomicrografia da FC após 21 dias de tratamento (G4) demonstrando colágeno desorganizado. B) Fotomicrografia da FT após 21 dias de tratamento (G4) demonstrando presença de colágeno organizado. Aumento de 400x.



Fonte: Autoria própria.

A maior presença de colágeno a partir do 14º dia de cicatrização corresponde ao processo fisiológico de cicatrização demonstrados por Leal e Carvalho (2014), Medeiros e Filho (2016) e Souza et al. (2023). Medeiros e Filho (2016), afirmam que o colágeno desempenha um papel fundamental ao conferir resistência e coesão aos tecidos saudáveis, de forma que, quando ocorrem lesões, sua deposição é essencial para corrigir imperfeições, restaurar a integridade estrutural e apoiar as funções naturais na ferida.

4. Conclusão

Concluiu-se que as lesões tratadas com curativo contendo membrana de nanocelulose bacteriana resultaram em uma

contração mais rápida das bordas da ferida, além de que a hidratação do leito da ferida conferiu maior atração e migração de fibroblastos. Observou-se ação potencializadora na formação do colágeno ao se considerar o efeito precoce tanto no desaparecimento dos fibroblastos como na produção e organização das fibras colágenas nas Feridas Teste em comparação à Controle, com redução do tempo de cicatrização.

Apesar de a literatura atual relatar benefícios do uso da nanocelulose bacteriana para a cicatrização, ressalta-se a necessidade da realização de estudos posteriores com amostras maiores e com acompanhamento longitudinal dos casos, para avaliação de possíveis efeitos colaterais e maior disseminação do seu uso como reparador tecidual de lesões de pele, principalmente de forma comparativa a outros tipos de curativos empregados na atualidade.

Referências

- Asai, E., Yamamoto, M., Ueda, K., & Waguri, S. (2018). Spatiotemporal alterations of autophagy marker LC3 in rat skin fibroblasts during wound healing process. *Fukushima Journal of Medical Science*, 64(1), 15-22. <https://doi.org/10.5387/fms.2016-13>
- Aumeeruddy-Elalfi, Z., Gurib-Fakim, A., & Mahomoodally, M. F. (2016). Chemical composition, antimicrobial and antibiotic potentiating activity of essential oils from 10 tropical medicinal plants from Mauritius. *Journal of Herbal Medicine*, 6(2), 88-95. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2016.02.002>
- Bayazidi, P., Almasi, H., & Khosrowshahi Asl, A. (2018). Immobilization of lysozyme on bacterial cellulose nanofibers: Characteristics, antimicrobial activity and morphological properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107(Part B), 2544-2551. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.137>
- Coelho, G. A., Magalhães, M. A. B., Matioski, A., Ribas-Filho, J. M., Magalhães, W., Ceccon Claro, F., Ramos, R. K., de Camargo, T., & Malafaia, O. (2020). Pine nanocellulose and bacterial nanocellulose dressings are similar in the treatment of second-degree burn? Experimental study in rats. *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*, 33(2), e1533. <https://doi.org/10.1590/0102-672020200002e1533>
- Coelho, M. S., et al. (2020). Avaliação do estresse oxidativo em pacientes com diabetes tipo 2. *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva*, 33(3), e1517. <https://doi.org/10.1590/0102-672020190001e1517>
- Colli, T. C., Rodrigues, A. E., Xavier Junior, G. F., Pittella, C. Q. P., & Nascimento, T. C. (2023). Modificações na nanocelulose bacteriana para aplicação no tratamento de feridas: uma revisão integrativa. *Revista Enfermagem Atual In Derme*, 97(2), e023111. <https://doi.org/10.31011/read-2023-v.97-n.2-art.1537>
- Czaja, W., Krystynowicz, A., Bielecki, S., & Brown Jr., R. M. (2006). Microbial cellulose - the natural power to heal wounds. *Biomaterials*, 27(2), 145-151. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.07.035>
- de Oliveira Barud, H. G., da Silva, R. R., da Silva Barud, H., Tercjak, A., Gutierrez, J., Lustrí, W. R., de Oliveira, O. B. Jr., & Ribeiro, S. J. L. (2016). A multipurpose natural and renewable polymer in medical applications: Bacterial cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 153, 406-420. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.059>
- El-Saied, H., Basta, A. H., & Gobran, R. H. (2004). Research Progress in Friendly Environmental Technology for the Production of Cellulose Products (Bacterial Cellulose and Its Application). *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 43(3), 797-820. <https://doi.org/10.1081/PPT-120038065>
- Fu, X., Zhang, H., & Yang, G. (2012). Research on the relationship between cross-border M&A performance and corporate culture integration: An empirical analysis of Chinese cross-border M&As. *International Business Review*, 21(2), 245-259. <https://doi.org/10.1016/j.ibusrev.2011.03.003>
- Garraud, O., Hozzein, W. N., & Badr, G. (2017). Wound healing: time to look for intelligent, 'natural' immunological approaches? *BMC Immunology*, 18(Suppl 1), 23. <https://doi.org/10.1186/s12865-017-0207-y>
- Gonzalez, A. C., Costa, T. F., Andrade, Z. A., & Medrado, A. R. (2016). Wound healing - A literature review. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 91(5), 614-620. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20164741>
- Goodarzi, P., Falahzadeh, K., Nematizadeh, M., Farazandeh, P., Payab, M., Larijani, B., Tayanloo Beik, A., & Arjmand, B. (2018). Tissue Engineered Skin Substitutes. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1107, 143-188. https://doi.org/10.1007/5584_2018_226
- Han, G., & Ceilley, R. (2017). Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. *Advances in Therapy*, 34(3), 599-610. <https://doi.org/10.1007/s12325-017-0478-y>
- Hakkarainen, T., Koivuniemi, R., Kosonen, M., Escobedo-Lucea, C., Sanz-Garcia, A., Vuola, J., Valtonen, J., Tammela, P., Mäkitie, A., Luukko, K., Yliperttula, M., & Kavola, H. (2016). Nanofibrillar cellulose wound dressing in skin graft donor site treatment. *Journal of Controlled Release*, 244(Pt B), 292-301. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.07.053>
- Khalid, A., Khan, R., Ul-Islam, M., Khan, T., & Wahid, F. (2017). Bacterial cellulose-zinc oxide nanocomposites as a novel dressing system for burn wounds. *Carbohydrate Polymers*, 164, 214-221. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.01.061>
- Koike, Y., Yozaki, M., Utani, A., & Murota, H. (2020). Fibroblast growth factor 2 accelerates the epithelial-mesenchymal transition in keratinocytes during the wound healing process. *Scientific Reports*, 10, 18545. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75584-7>
- Kumar, V., Abbas, A. K., & Fausto, N. (2010). *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease* (8th ed.). Elsevier.

- Leal, E. C., & Carvalho, E. (2014). Cicatrização de Feridas: O Fisiológico e o Patológico [Wound Healing: The Physiologic and the Pathologic]. I, 9(3), 133-143. <http://www.revportdiabetes.com/wp-content/uploads/2017/10/RPD-Vol-9-n-n%C2%BA-3-Setembro-2014-Artigo-de-Revis%C3%A3o-p%C3%A1gs-133-143.pdf>
- Loh, E. Y. X., Mohamad, N., Fauzi, M. B., Ng, M. H., Ng, S. F., & Mohd Amin, M. C. I. (2018). Development of a bacterial cellulose-based hydrogel cell carrier containing keratinocytes and fibroblasts for full-thickness wound healing. *Scientific Reports*, 8, 2875. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21174-7>
- Mandelbaum, S., di Santis, E., & Mandelbaum, M. (2003). Cicatrization: Current concepts and auxiliary resources - Part II. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 78, 521-522. <https://doi.org/10.1590/S0365-05962003000500002>
- Mao, L., Wang, L., Zhang, M., Ullah, M. W., Liu, L., Zhao, W., Li, Y., Ahmed, A. Q., Cheng, H., Shi, Z., & Yang, G. (2021). Engineered adipose tissue constructs for localized cell-based therapy. *Advanced Healthcare Materials*, 10(5), 2100402. <https://doi.org/10.1002/adhm.202100402>
- Medeiros, A. C., & Dantas-Filho, A. M. (2017). Cicatrização das feridas cirúrgicas. *Journal of Surgical and Clinical Research*, 7(2), 87-102. <https://doi.org/10.20398/jscr.v7i2.11438>
- De Sousa Moraes, P. R. F., Saska, S., Barud, H., De Lima, L. R., Da Conceicao Amaro Martins, V., De Guzzi Plepis, A. M., Ribeiro, S. J. L., & Gaspar, A. M. M. (2016). Bacterial cellulose/collagen hydrogel for wound healing. *Materials Research*, 19(1), 106-116. <http://hdl.handle.net/11449/176915>
- Mohamad, N., Loh, E. Y. X., Fauzi, M. B., Ng, M. H., & Mohd Amin, M. C. I. (2019). Avaliação in vivo de hidrogel de curativo bacteriano de celulose/ácido acrílico contendo queratinócitos e fibroblastos para queimaduras. *Droga Delivery e Terapêutica Translacional*, 9, 444-452. <https://doi.org/10.1007/s13346-017-0475-3>
- Napavichayanun, S., Yamdech, R., & Aramwit, P. (2016). 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*, 308(2), 123-132. <https://doi.org/10.1007/s00403-016-1621-3>
- Negut, I., Grumezescu, V., & Grumezescu, A. M. (2018). Treatment Strategies for Infected Wounds. *Molecules*, 23(9), 2392. <https://doi.org/10.3390/molecules23092392>
- Napavichayanun, S., Ampawong, S., Harnsilpong, T., Angspatt, A., & Aramwit, P. (2018). Inflammatory reaction, clinical efficacy, and safety of bacterial cellulose wound dressing containing silk sericin and polyhexamethylene biguanide for wound treatment. *Archives of Dermatological Research*, 310(10), 795-805. <https://doi.org/10.1007/s00403-018-1871-3>
- Okuni, I. (2012). Phototherapy in rehabilitation medicine. *The Japanese Journal of Anesthesiology*, Masui, 61(7), 700-705. https://www.researchgate.net/publication/230617166_Phototherapy_in_rehabilitation_medicine
- Pereira A. S. et al. (2018). Metodologia da pesquisa científica. UFSM.
- Pinho, A. M. D. M. R., Kencis, C. C. S., Miranda, D. R. P., Neto, O. M. D. S. (2020). Traumatic perforations of the tympanic membrane: Immediate clinical recovery with the use of bacterial cellulose film. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 86(6), 727-733. <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2019.05.001>
- Swingler, S., Gupta, A., Gibson, H., Kowalczyk, M., Heaselgrave, W., & Radecka, I. (2021). Avanços recentes e aplicações de celulose bacteriana em biomedicina. *Polímeros*, 13, 412. <https://doi.org/10.3390/polym13030412>
- Souza, M., Campos de Araujo, C. K., Alves de Araújo, L., Rodrigues Castelo Branco, C. E., & Filgueiras, M. (2023). Modelos experimentais de cicatrização de feridas: uma revisão integrativa. *Peer Review*, 5(17), 1-11. <https://doi.org/10.53660/651.prw2203>
- Tizard, I. R. (2023). *Veterinary Immunology: An Introduction* (10th ed.). Grupo GEN.
- Torres, F., Commaux, S., & Troncoso, O. (2012). Biocompatibility of Bacterial Cellulose Based Biomaterials. *Journal of Functional Biomaterials*, 3(4), 864-878. <https://doi.org/10.3390/jfb3040864>
- Ullah, H., Wahid, F., Santos, H. A., & Khan, T. (2016). Advances in biomedical and pharmaceutical applications of functional bacterial cellulose-based nanocomposites. *Carbohydrate Polymers*, 150, 330-352. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.029>
- Vieira, J. C., Badin, A. Z. D., Calomeno, L. H. A., Teixeira, V., Ottoboni, E., Bailak, M., & Salles Jr, G. (2007). Membrana porosa de celulose no tratamento de queimaduras. *Arquivos Catarinenses de Medicina*, 36(1), 94-97. <https://www.acm.org.br/revista/pdf/artigos/436.pdf>
- Wang, P. H., Huang, B. S., Homg, H. C., Yeh, C. C., & Chen, Y. J. (2018). Wound healing. *Journal of the Chinese Medical Association*, 81(2), 94-101. <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.11.002>