



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

ESTUDO CLÍNICO PILOTO DO EFEITO DE MEMBRANAS CONTENDO
ÁCIDO ÚSNICO INCORPORADO EM LIPOSSOMAS NO TRATAMENTO
DE QUEIMADOS

ANNY KELLY TAVARES DE JESUS

SÃO CRISTÓVÃO - SE

2016

ANNY KELLY TAVARES DE JESUS

ESTUDO CLÍNICO PILOTO DO EFEITO DE MEMBRANAS CONTENDO
ÁCIDO ÚSNICO INCORPORADO EM LIPOSSOMAS NO TRATAMENTO
DE QUEIMADOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Departamento de Farmácia da
Universidade Federal de Sergipe como
exigência à obtenção do título de bacharel
em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Antunes de Souza Araújo

SÃO CRISTÓVÃO - SE

2016

RESUMO

As queimaduras são feridas traumáticas que causam destruição parcial ou total da pele, podendo atingir camadas mais profundas. O processo de cicatrização pode ser favorecido por uma matriz de gelatina combinado com lipossoma, que permite a incorporação de fármacos sintéticos, como o ácido úsnico, por ter atividade antimicrobiana e antiinflamatória, sendo liberado de forma controlada no tecido lesado. Nessa perspectiva, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito da membrana de gelatina contendo ácido úsnico incorporado em lipossomas (P1QLS08) em comparação com a pomada de sulfadiazina de prata, produto de referência utilizado na prática clínica do hospital para o processo de cicatrização de queimadura em seres humanos. Esse estudo é um ensaio clínico piloto, controlado e randomizado, desenvolvido na Unidade de Tratamento de Queimados (UTQ) do Hospital de Urgência de Sergipe (HUSE). Foram estudados 30 pacientes, sendo o paciente seu próprio controle. As áreas para análise foram selecionadas de forma aleatória, sendo uma área denominada teste (administração da membrana) e outra denominada controle (tratada com pomada de sulfadiazina de prata). Inicialmente, realizou-se uma análise em 15 pacientes para avaliação microbiológica, observação macroscópica para acompanhamento das lesões, como alterações cutâneas e possíveis queixas dos pacientes durante 7, 14 e 21 dias após a administração dos produtos. Nos tempos determinados, foram feitos registros fotográficos padronizados tanto da área teste quanto do controle. A segunda etapa do estudo correspondeu à avaliação de 15 pacientes, seguindo os mesmos critérios metodológicos, utilizando a análise pelo *ImageJ*[®], a fim de se obter uma avaliação quantitativa. Com a execução desta pesquisa, comprovou-se a eficácia da membrana bioativa P1QLS08 em humanos, por apresentar evidente ação antimicrobiana e melhor qualidade da cicatrização. A avaliação pela escala de Vancouver evidenciou diferença entre os grupos, observando melhor aspecto da cicatriz nas áreas testes. O equipamento courage demonstrou maior elasticidade, menor dano tecidual e menor nível de eritema nas áreas testes em comparação com a área controle. Assim, a membrana P1QLS08 contribui efetivamente para o desenvolvimento de um novo produto de importância clínica na aceleração dos eventos biológicos associados à cicatrização em pacientes queimados.

Palavras-chave: ácido úsnico, cicatrização, colágeno, queimaduras na pele, gelatina, biomateriais.

ABSTRACT

Burns are traumatic wounds that cause partial or total destruction of the skin, and can reach deeper layers. The healing process can be favored by a matrix of gelatin combined with liposome, which allows the incorporation of synthetic drugs, such as usnic acid, to have antimicrobial and anti-inflammatory activity, being released in a controlled way in the damaged tissue. In this perspective, the objective of this research was to evaluate the effect of the liposome-embedded gelic membrane containing liposomes (P1QLS08) compared to the silver sulfadiazine ointment, a reference product used in the hospital's clinical practice for the burn healing process in humans. This study is a pilot, controlled and randomized clinical trial developed at the Burn Treatment Unit (UTQ) of Sergipe Emergency Hospital (HUSE). Thirty patients were studied, being the patient his own control. The areas for analysis were randomly selected, one area called test (membrane administration) and another called control (treated with silver sulfadiazine ointment). Initially, an analysis was performed in 15 patients for microbiological evaluation, macroscopic observation to follow the lesions, such as skin changes and possible complaints of patients during 7, 14 and 21 days after administration of the products. At the determined times, standardized photographic records were made of both the test area and the control area. The second stage of the study corresponded to the evaluation of 15 patients, following the same methodological criteria, using the analysis by *ImageJ*[®], in order to obtain a quantitative evaluation. With the execution of this research, the efficacy of the bioactive membrane P1QLS08 was verified in humans, because it presented evident antimicrobial action and better quality of the cicatrization. The Vancouver scale assessment showed a difference between the groups, observing a better aspect of the scar in the test areas. The courage equipment showed greater elasticity, lower tissue damage and lower level of erythema in the test areas compared to the control area. Thus, the P1QLS08 membrane effectively contributes to the development of a new product of clinical importance in accelerating the biological events associated with healing in burn patients.

Keywords: acid usnic, healing, collagen, skin burns, gelatin, biomaterials.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	6
2. CASO E MÉTODO	8
2.1 Delineamento da pesquisa	8
2.2 Amostra	9
2.3 Estudo microbiológico	9
2.4 Aplicação da membrana bioativa P1QLS08	10
2.5 Avaliação qualitativa e descrição macroscópica das lesões dérmicas	10
2.6 Captação das imagens	11
2.7 Características do programa <i>ImageJ</i>[®]	11
2.7.1 Segmentação e cálculo da área queimada	12
2.8 Escala de cicatrização de Vancouver	13
2.9 Courage	14
2.9.1 Mensuração da elasticidade da cicatriz	15
2.9.2 Medição do nível de melanina cicatricial e eritema	15
2.9.3 Medição da perda de água transepidérmica	16
2.10 Aspectos éticos	16
2.11 Análise estatística	16
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
3.1 Dados gerais da amostra e características das queimaduras	17
3.2 Análise microbiológica	18
3.3 Análise qualitativa e descrição macroscópica das lesões	18
3.4 Análise quantitativa através do programa <i>ImageJ</i>[®]	19
3.5 Avaliação da cicatrização através da escala de Vancouver	21
3.6 Avaliação da cicatrização através do courage	22
4. CONCLUSÃO	25
5. LIMITAÇÕES DO ESTUDO	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

1. INTRODUÇÃO

As queimaduras são um grande problema de saúde pública no Brasil, uma vez que, além de causar um elevado número de mortes a cada ano, provocam consequências físicas e psicológicas que marcam suas vítimas e o tratamento é dispendioso (Takejima et al., 2011; Reis et al., 2011; Santana., 2012). Trata-se de uma lesão traumática causada principalmente por agentes térmicos, químicos, elétricos ou radioativos. Acontece nos tecidos que revestem o corpo humano e pode destruir parcialmente ou totalmente a pele e seus anexos, bem como as camadas mais profundas, tais como tecidos subcutâneos, músculos, tendões e ossos (Who, 2012; Nascimento et al., 2013).

No Brasil, apesar de não determinarem um forte impacto no perfil da mortalidade da população, apresenta alta relevância na morbidade (Gawryszewski et al., 2012). Estima-se que a cada ano cerca de 1 milhão de pessoas sofra algum grau de queimaduras no Brasil, sendo que 100 mil pacientes procuram atendimento hospitalar e, destes, cerca de 2,5 mil morrem por razão direta ou indireta de suas lesões (Mendes Júnior et al., 2007). Tal fato desencadeia forte impacto econômico, levando-se em consideração o tempo prolongado de tratamento (Silva et al., 2008).

O tecido danificado fornece um ambiente úmido, rico em nutrientes e temperatura adequada para o desenvolvimento de um potente meio de cultura para crescimento bacteriano (Miyazaki et al., 2012). Pouco tempo depois de uma mudança da integridade da pele, começa o processo de cicatrização. Esse processo de cicatrização é uma seqüência contínua de eventos complexos que levam à regeneração, reconstituição e restauração proporcional das estruturas lesadas, sendo dividido em três fases principais: inflamatória, proliferativa e maturação da cicatriz (Serra., 2006).

Vários estudos têm focado em promover a incorporação de compostos bioativos em biomateriais implantáveis, favorecendo o processo de cicatrização. A gelatina é uma macromolécula natural com propriedades funcionais, produzida em larga escala e baixo custo, que vem sendo utilizada em diversos trabalhos na produção de filmes biodegradáveis (Cao et al., 2009). Além disso, a gelatina possui vantagens relacionadas com a aceleração do processo de granulação e epitelização, e a possibilidade de incorporação de fármacos sintéticos ou produtos naturais para a posterior liberação controlada diretamente no tecido danificado (Albuquerque Junior et al., 2009; Dantas et al., 2011). A utilização de compostos à base de gelatina associada a substâncias com atividade anti-inflamatória, antioxidante e

antimicrobiana tem sido bastante promissora no tratamento de lesões cutâneas (Dias et al., 2011).

Um metabólito liquênico com essas atividades citadas acima é o ácido úsnico, proveniente da associação entre fungos e algas, que apresenta atividade cicatricial (Nunes et al., 2011), efeito antimicrobiano (Segatore et al., 2012) e antibiótico (Honda et al., 2010) comprovados. Porém, essas atividades terapêuticas tornam-se limitadas, pois o metabólito liquênico apresenta baixa solubilidade em água, sendo necessário um sistema de liberação que possibilite a administração do ácido úsnico em uma formulação que melhore sua solubilidade. O uso do complexo ácido úsnico/lipossoma pode ser uma estratégia alternativa para superar a baixa solubilidade do ácido em água e manter a sua atividade antimicrobiana (Lira et al., 2009). Os lipossomas são biodegradáveis, biocompatíveis, não imunogênicos e altamente versáteis para a utilização em pesquisa e na terapêutica (Fan et al., 2013; Huang et al., 2014).

O produto padrão-ouro utilizado atualmente na prática clínica para tratamento de queimaduras é a sulfadiazina de prata, que age na primeira fase da cicatrização. A prata é um potente princípio ativo que atua na inibição da atividade microbiana, previne infecção e inflamação, tornando o local da ferida pronta para a proliferação de células, vasos e reconstrução epitelial, porém, traz algumas desvantagens (Sehn et al., 2009; Khundkar et al., 2010). A pomada de sulfadiazina de prata não é biodegradável e o processo de limpeza e remoção torna-se agressivo, sendo realizado em muitos casos um processo cirúrgico para uma limpeza adequada, causando lesões e remoção de tecidos saudáveis. Além disso, a pasta de gordura utilizada na sua composição não é adequada para a proliferação de células e vasos sanguíneos (Boateng et al., 2008; Chen et al., 2013; Rigo et al., 2012).

Dada a falta de estudos que relatam o uso de substâncias ativas no processo de reparação tecidual em queimaduras em seres humanos, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da membrana de gelatina contendo ácido úsnico incorporado em lipossomas (P1QLS08) em comparação com a pomada de sulfadiazina de prata, produto de referência utilizado na prática clínica do hospital no processo de cicatrização de queimadura em seres humanos.

2. CASO E MÉTODO

2.1 Delineamento da pesquisa

Trata-se de um ensaio clínico piloto, controlado e randomizado, com abordagem quantitativa desenvolvido na Unidade de Tratamento de Queimados (UTQ) do Hospital de Urgência de Sergipe (HUSE). A UTQ atende adultos e pacientes pediátricos e tem 14 leitos, 2 enfermarias para adultos, 1 enfermaria pediátrica, 1 unidade de terapia intensiva (UTI) e 1 centro cirúrgico, com rotação variável, dependendo da gravidade de cada caso.

A amostra consistiu de 30 indivíduos internados, no qual o paciente era controle de si mesmo. Foram coletados dados sociais, demográficos e clínicos de todos os pacientes internados na UTQ-HUSE em fase de queimadura aguda. As áreas de intervenção foram selecionadas e definidas de forma aleatória simples para serem alocadas diretamente nos grupos de teste ou controle sem etapas intermediárias, utilizando uma tabela de números aleatórios, onde os números ímpares foram selecionados para o tratamento e os números pares para o controle.

De acordo com o Ministério da Saúde (2012), a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece pesquisas sobre a eficácia em pequena escala e a segurança do tratamento para o estudo terapêutico piloto, com monitoramento cuidadoso de cada paciente, correspondendo primeiro aos ensaios controlados para demonstrar a eficácia potencial do fármaco. Com base nestes critérios, justifica-se o tamanho da amostra para realizar esta pesquisa.

Assim, 30 indivíduos constituíram a área teste (administração da membrana PIQLS08) e estes mesmos 30 indivíduos eram seu próprio controle (administração da pomada de sulfadiazina de prata). Desde então, procedeu-se ao estudo comparativo dos dois produtos em relação à sua eficácia, segurança e qualidade no processo de cicatrização, seguindo os critérios de inclusão e exclusão descritos abaixo.

Os critérios de inclusão foram: pacientes com idade acima de 10 anos (período de início da puberdade e aspecto dermatológico semelhante ao de indivíduos adultos), de ambos os sexos, admitidos na UTQ de 2014 a 2016, com queimaduras de segundo grau (superficial e/ou profunda), resultantes de qualquer agente causal e estável hemodinamicamente. Foram observados fatores interferentes na cicatrização de feridas, tais como o estado nutricional do paciente, presença de doença subjacente como diabetes, alterações cardiovasculares e de coagulação, aterosclerose, insuficiência renal e doenças infecciosas sistêmicas. Assim, foram

excluídos os pacientes diabéticos ou hipertensos, os indivíduos com nível de consciência diminuído, queimaduras especiais, como face e genitália, bem como à desnutrição antes da ocorrência da queimadura.

Todas as áreas estudadas foram submetidas a anamnese com análise de variáveis sociais e demográficas e exame físico. As duas áreas foram acompanhadas por seus resultados (taxa de cicatrização de queimadura) ou censurado devido a infecção, isolamento de microorganismos e efeitos adversos nos dias 7, 14 e 21 após a aplicação da membrana bioativa P1QLS08 ou sulfadiazina de prata, porque a maioria dos eventos que acompanham o processo de reparação da pele estão concentrados nesses períodos (Carvalho, 2001).

2.2 Amostra

As queimaduras cutâneas dos pacientes foram divididas em duas áreas: áreas UAM, que receberam o tratamento com a aplicação da membrana bioativa e áreas SDZ, que utilizaram a pomada à base de sulfadiazina de prata. As membranas bioativas de gelatina/ácido úsnico foram substituídas diariamente, bem como a aplicação de sulfadiazina de prata, sendo feitas em ambas as áreas um curativo secundário nas lesões, com gaze e bandagem estéril. O protocolo de avaliação foi estabelecido durante o período de 21 dias, que foi encurtado se o paciente recebeu alta hospitalar ou teve epitelização completa da área estudada. A análise fotográfica das queimaduras foram realizadas nos dias 0, 7, 14 e 21.

2.3 Estudo Microbiológico

Para identificar a carga microbiana, uma biópsia de tecido viável é considerada o padrão-ouro no diagnóstico microbiológico quantitativo, mas é traumática e requer mais tempo para ser realizada. Em geral, a maioria das amostras é realizada através de *swab*, mostrando resultados semelhantes aos da biópsia (Gonella et al., 2014).

A avaliação microbiológica foi realizada em áreas de teste e controle em duas etapas: na admissão do paciente à pesquisa e sete dias após o início da terapia, pois correspondia à época em que a maioria das lesões ainda apresentavam exsudato.

Para a análise microbiológica da lesão de queimadura, procedeu-se inicialmente com a limpeza da ferida aberta com solução salina (solução salina estéril a 0,9%). Em seguida, o exame microbiológico foi feito coletando a secreção da ferida para cultura, utilizando *swab* através da técnica de Levine, que consiste em pressionar e rodar o *swab* em seu próprio eixo,

sobre 1 cm² do tecido de granulação durante cinco segundos, a fim de expressar o fluído do tecido que provavelmente abriga os microrganismos (Gardner et al., 2006). Posteriormente, foi colocado em meio de cultura e enviado imediatamente ao laboratório do hospital.

2.4 Aplicação da membrana bioativa P1QLS08

As membranas bioativas foram produzidas no Laboratório de Ensaio Farmacêuticos e Toxicidade (LeFT) da Universidade Federal de Sergipe (UFS). O método para a preparação da mesma foi descrito por Nunes et al. (2010).

Os pacientes foram submetidos a procedimentos médicos apresentados pela unidade de serviço (UTQ/HUSE), sendo eleitas áreas mais evidentes de queimadura para o estudo (controle e teste). O paciente foi colocado funcionalmente no leito para a aplicação da membrana P1QLS08 (área de teste), bem como para a utilização de 1% da pomada de sulfadiazina de prata (área de controle).

Inicialmente, 15 pacientes foram submetidos a intervenção na área teste e área controle, para posterior análise qualitativa e descrição macroscópica das lesões em ambas as áreas nos dias 7, 14 e 21 após o início da terapia. Em seguida, mais 15 pacientes foram recrutados usando os mesmos procedimentos metodológicos para posterior análise quantitativa por software de imagem (ImageJ[®]).

2.5 Avaliação qualitativa e descrição macroscópica das lesões dérmicas

A avaliação e descrição da ferida é uma prática indispensável para o cuidado de pacientes queimados, permitindo um acompanhamento preciso da evolução da lesão, servindo como parâmetro para caracterizar o aspecto da cicatrização.

Neste estudo, foram observadas algumas características das lesões por queimaduras no período de 21 dias de acompanhamento diário de cada paciente e as lesões foram fotografadas aos 0, 7^o, 14^o e 21^o dias para registro e apresentação da macroscopia.

Entre os aspectos avaliados estavam o grau de queimadura apresentado pelo paciente, o agente causador, o local, o tipo de tecido presente no local da ferida, epitelização da borda, pigmentação da cicatriz, quantidade e tipo de exsudado, inchaço perilesional e a frequência de alteração do curativo.

2.6 Captação das imagens

Ao comparar técnicas invasivas e não invasivas para mensurar lesões, observou-se que o processo de digitalização através do registro fotográfico tem menos variabilidade e, portanto, maior confiabilidade (Eberhardta et al., 2015).

Os pacientes foram avaliados macroscopicamente para ensaio clínico do processo de cicatrização. A captura de imagem foi feita de forma padronizada aos 0, 7°, 14° e 21° dias com uma câmera digital Cyber-shot 5.1 MP-Sony® posicionada a 40 cm de distância da lesão, perpendicularmente à sua superfície usando uma escala de referência ao lado da ferida com uma marcação de 2 cm², a fim de ser utilizada como uma régua durante o processo de avaliação das imagens de queimaduras, utilizando-os para a padronização de escala sem tirar suas bordas.

Antes de capturar as imagens, foi utilizado um tecido branco estéril sob o segmento a ser fotografado para delimitar a lesão, a fim de manter o membro na mesma posição. A iluminação durante o registro fotográfico foi obtida por fonte de luz cirúrgica (lâmpadas de halogênio) existente no hospital, que foi direcionada para a lesão a ser avaliada.

Em seguida, as imagens digitalizadas no formato JPG foram analisadas para a taxa de cicatrização por um software de análise de imagem chamado *ImageJ*®, que é um processador de domínio público e analisador de imagem Java. Assim, ele pode ser executado em vários ambientes operacionais, desde que eles tenham uma máquina virtual Java apropriada (Miot et al., 2009).

2.7 Características do programa *Image J*®

O método de mensuração de imagens por programas computacionais vem ganhando cada vez mais destaque. Neste método, as imagens são analisadas em um programa que permite a obtenção da medida inicial da cicatrização, podendo ser comparada com as outras mensurações no decorrer do tempo para avaliação da evolução cicatricial.

Um dos problemas para o acompanhamento da evolução das queimaduras na pele é a padronização das medidas de extensão da lesão e reparo tecidual. Até recentemente, outro obstáculo costumava ser o custo de programas de análise de imagem, que são encontrados com baixo custo ou mesmo gratuitamente hoje em dia.

O *ImageJ*®, desenvolvido por Wayne Rasband do Research Services Branch, National Institute of Mental Health (Bethesda, Maryland, EUA), é um software processador e

analisador de imagens em Java, inspirado no NIH ImageJ para Apple Macintosh. Assim, ele pode ser executado em vários ambientes operacionais, desde que tenham uma máquina virtual Java adequada.

A pesquisa através do *ImageJ*[®] tem como objetivo quantificar a área queimada e analisar seus tecidos através do programa de análise das imagens de domínio público durante o monitoramento da evolução de queimaduras tratadas com aplicação da membrana bioativa em comparação com a aplicação da pomada sulfadiazina de prata.

A análise de imagem através do software permitiu a quantificação da taxa de cicatrização das feridas. Para calcular a razão de cicatrização, utilizou-se uma equação descrita por Robson *apud* Caetano et al. (2009) nos seus estudos, mencionando que a razão de cicatrização (HR) representa a subtração da área inicial da ferida (IA) pela área final (FA), dividida pela área inicial (IA), obtendo-se os resultados em percentagem e a equação : $HR = [(IA - FA) / IA]$.

2.7.1 Segmentação e cálculo da área queimada

Para facilitar a análise das duas formas de lesões cutâneas (lesão extensa e lesão com borda definida), foram utilizados dois métodos de análise pelos quais classificamos a análise de lesões extensas como "membrana" e a análise com bordas definidas foram classificadas como "ilha", cuja diferença é apenas a segmentação inicial. A segmentação foi realizada manualmente, utilizando o mouse (Figura 1A). Na avaliação do método "membrana" antes da segmentação manual, a área a ser avaliada é destacada por um simulador de membrana utilizado no experimento com o mesmo tamanho (14 cm de diâmetro) a fim de tornar as áreas extensas equivalentes, ressaltando que essa forma de "membrana" não é a mais adequada (Figura 1B). Para a seleção, foram usadas as áreas de granulação (vermelho), que são tecidos benéficos para a cicatrização. Para definir o ajuste adequado da escala da imagem utilizou-se o método "ilha", no qual a área de referência conhecida (Figura 1C) foi selecionada através da função *Straight Line Selection* e calibrada em "centímetros" através da função *Set Scale*.

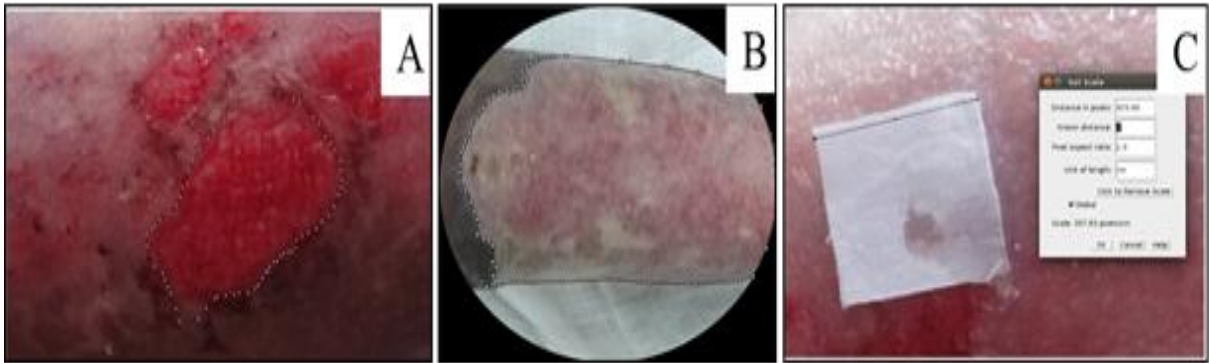


Figura 1. Seleção manual feita através do mouse (A), membrana virtual com a mesma dimensão da usada no experimento (B), tecido estéril padronizado com 2 cm² utilizado como referência para ajuste da escala.

Através do *plugin de Threshold*, disponível no software utilizado, a seleção da imagem foi realizada, fazendo com que as áreas de análise se tornassem pretas (áreas de tecido avermelhado) e fazendo com que as outras áreas se tornassem brancas (Figura 2A). Para a quantificação das superfícies de área queimada e seus tecidos de granulação relacionados, foram medidos os seguintes parâmetros: tempo e área de superfície da lesão por meio do *Analyze Particles* (Figura 2B).

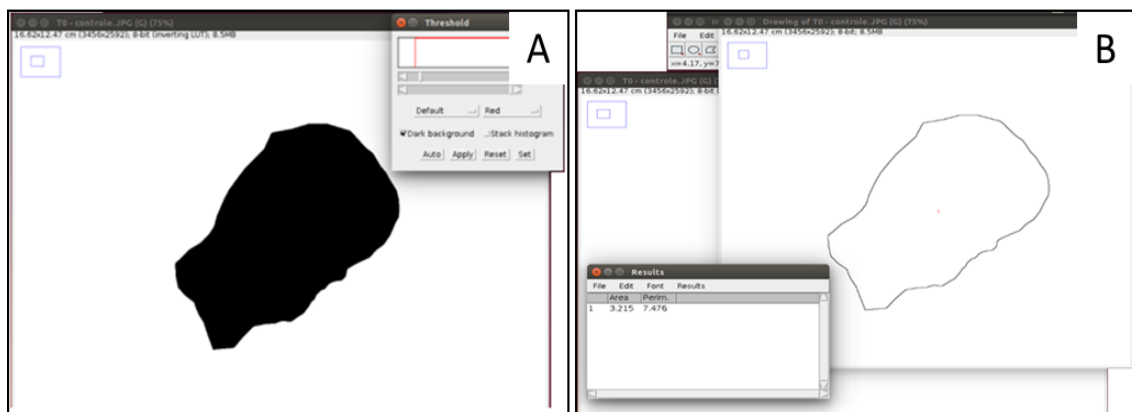


Figura 2: Seleção da imagem através do Threshold para análise (A). Área analisada após seleção (B).

2.8 Escala de Cicatrização de Vancouver

A Escala de Cicatrização de Vancouver foi traduzida do original, em inglês, para o português e adaptada ao contexto cultural brasileiro, com uma estrutura semelhante à escala original. É a primeira escala validada para a avaliação da cicatriz de queimadura (Sullivan et al., 1990) e é frequentemente utilizada para avaliar a qualidade da cicatriz.

A escala foi utilizada para avaliar os dois tipos de feridas cicatrizadas (grupo teste e grupo controle) e foi projetada com base nas características físicas de pigmentação (cor),

vascularização, flexibilidade (maleabilidade) e altura (espessura) da cicatriz. Todos os parâmetros foram avaliados de forma independente e cada cicatriz foi graduada (quanto maior o estado da doença, maior a pontuação) por dois avaliadores independentes. O Quadro 1 mostra a interpretação dos resultados para a avaliação da cicatrização da queimadura.

AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DA QUEIMADURA	
Pigmentação	0. Normal - Coloração similar à cor do resto do corpo. 1. Hipopigmentação. 2. Hiperpigmentação.
Vascularização	0. Normal – Coloração similar à cor do resto do corpo. 1. Rosada. 2. Avermelhada 3. Púrpura.
Flexibilidade	0. Normal 1. Maleável-flexível a mínima resistência. 2. Deformação – cede sob pressão. 3. Firme – inflexível, não move facilmente, resistente à pressão manual. 4. Bandas – tecido na forma de corda com coloração esbranquiçada em sua extensão. 5. Contratura – encurtamento permanente à cicatriz, produzindo deformidade ou distorção.
Altura	0. Normal – plana. 1. <2 mm. 2. <5 mm. 3. >5 mm.

Tradução e adaptação da Escala de Cicatrização de Vancouver ("The Burn Scar Assessment Form", J Burn Care Rehabil. Sullivan et al., 1990). Com permissão de Wolters Kluwer Health - Copyright Clearance Center.

Quadro 1: Formulário da escala de cicatrização de Vancouver traduzida e adaptada ao idioma português do Brasil.

2.9 Courage

Courage + Khazaka electronic GmbH é um equipamento constituído por um dispositivo de base e as sondas. O usuário escolhe um dispositivo básico de acordo com seus requisitos. As sondas são digitais e todos os dados de calibração são para dentro podendo ser ligado a qualquer um deles. As diferentes sondas também podem ser usadas com dispositivos independentes (multi visor do dispositivo MDD) de forma independente ou como sondas sem fios que transmitem os valores de medição directamente para o software.

A avaliação da cicatriz dérmica foi realizada em 2 áreas distintas de 3 cm² em cada indivíduo (Gankande et al., 2015), correspondentes à área UAM e área SDZ. Para análise das variáveis supracitadas, cada área foi demarcada por uma caneta de marcação cirúrgica, sendo que a área controle foi demarcada na mesma região da lesão tratada com o produto padrão e a membrana P1QLS08 do lado contralateral, para garantia da comparação entre as áreas com mesma morfologia, fisiologia, pressão por vestimenta e exposição ao sol.

Cada paciente foi submetido a quatro medições consecutivas, realizadas alternadamente por dois avaliadores (A-B-A-B), com meia hora entre cada medição. Todos os indivíduos foram avaliados no Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe, em um mesmo ambiente, sob mesma luminosidade e temperatura ambiente durante toda a pesquisa.

2.9.1 Mensuração da elasticidade da cicatriz

A elasticidade da pele foi mensurada utilizando a sonda Cutometer® (SEM 575, Courage e Khazaka, Colônia, Alemanha), que funciona através de sucção da pele. Ele é ligado a um computador para o controle e exposição da medição. O instrumento mede a deformação vertical da superfície da pele quando esta é puxada para dentro da abertura circular (2 mm de diâmetro) da sonda de medição, através de uma pressão de sucção constante (500 mbar) por 2s. Depois a pressão negativa é suspensa e a pele pode retornar à sua forma original. Um arquivo de banco de dados embutido (CT.dbf) pode calcular o resultado automaticamente.

2.9.2 Medição do nível de melanina cicatricial e eritema

A sonda Mexameter® (MX18 Courage-Khazaka Electronics GmbH, Alemanha) utiliza o princípio da absorção/reflexão da luz para avaliar a presença de melanina e eritema da pele. Funciona emitindo comprimentos de onda no qual um receptor mede a luz refletida pela pele, sendo calculada a quantidade de luz absorvida. A melanina é medida por comprimentos de onda específicos escolhidos para corresponder a diferentes taxas de absorção pelos pigmentos. Para a medição de eritema, comprimentos de onda específicos também são utilizados, correspondente ao pico de absorção espectral de hemoglobina e para evitar influências de outras cores. Os valores variam de 0 a 999 onde um valor mais elevado indica um maior nível de deposição de melanina e eritema. A medição é obtida imediatamente após o contato da pele com o sensor.

2.9.3 Medição da perda de água transepidérmica

Para essa avaliação, foi utilizada a sonda Tewameter® (Courage-Khazaka Electronic GmbH, Alemanha), posicionada na área afetada por 30 segundos onde mede o gradiente de densidade da evaporação de água da pele, de forma indireta, por dois pares de sensores (temperatura e umidade relativa) no interior do cilindro oco. A partir disso, um valor médio (em g/h/m²) foi obtido. O Tewameter® é usado para avaliar a função de barreira da pele.

2.10 Aspectos Éticos

Para o desenvolvimento desta pesquisa, foram aplicados princípios éticos que foram submetidos ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Sergipe (UFS) e aprovados nos pareceres número 459.541 e CAAE 22896413.4.0000.5546. Também foi encaminhado ao Centro de Educação Permanente do Hospital de Urgência de Sergipe (HUSE) para a admissão à Unidade de Queimados (UTQ), que resultou na libertação desta unidade para executar esta pesquisa.

Antes do recrutamento de pacientes para a pesquisa, os indivíduos e/ou responsáveis foram informados sobre essa pesquisa de uma forma clara e objetiva, no qual assinaram voluntariamente o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), no qual tem a opção de abster-se em qualquer pesquisa quando queiram.

Foram respeitados os termos da Resolução 196/96, versão 2012, do Conselho Nacional de Saúde (CNS), do Ministério da Saúde sobre pesquisa envolvendo seres humanos, bem como as regras e resoluções resultantes de Grupo Mercado Comum (GMC) nº 129/96, em conformidade com a Lei 6360 (23 de setembro de 1976), em particular com o artigo 76, regulamentada pelo Decreto nº 79.094 (05 de janeiro de 1977).

As boas práticas de pesquisa foram cumpridas, bem como as regras para a condução de pesquisas clínicas aprovadas pela ANVISA, em 05 de junho de 2008. Este estudo seguiu os protocolos de atendimento ao paciente e suas famílias, respeitando-o a sua autonomia e defendendo-os em sua vulnerabilidade.

2.11 Análise Estatística

Todas as informações foram armazenadas em um banco de dados projetado para esta finalidade, com o auxílio do Excel 2013 e, em seguida, foram convertidas para análise

estatística com o programa Bioestat 5.3. Inicialmente, o teste de normalidade foi aplicado para verificar a parametricidade dos dados. Em seguida, foram realizados testes de comparação entre as médias das variáveis. Os dados obtidos a partir da análise de determinação da intensidade da reação inflamatória e reepitelização da superfície da área danificada foram comparados entre os dois grupos, nos dias 7, 14 e 21 para verificar a existência ou ausência de diferenças estatisticamente significativas entre eles. Os valores médios obtidos a partir da análise quantitativa dos diâmetros das feridas foram comparados entre os grupos prefixando o nível de significância em 95% ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Dados gerais da amostra e características das queimaduras

A amostra foi composta por 57% de indivíduos do sexo masculino, com média de idade de 24.9 ± 14.9 anos e 43% para o sexo feminino com média de idade de 25.9 ± 9.8 anos. As queimaduras foram causadas por líquidos inflamáveis (70%) e líquidos quentes (30%), e 63% ocorreram em ambiente intradomiciliar.

De acordo com o percentual de superfície corporal queimada, 50% das queimaduras atingiram de 31-40%, 23% de 41-50% e 27% de 11-20% do corpo. Quanto à procedência, 56,6% eram oriundos do município de Aracaju, enquanto 43,4% eram provenientes de áreas circunvizinhas, compreendendo Sergipe e Bahia. Dos 30 pacientes estudados, 02 realizaram enxertia na área controle (6,67%), não sendo executado este procedimento nas áreas teste.

Em estudos realizados por Echevarría-Guanilo et al. (2016) e Espindula et al., (2013), as vítimas de queimadura eram em sua maioria do sexo masculino, jovens, com predomínio de lesões térmicas, provocadas, principalmente, por líquidos inflamáveis, líquidos quentes e por chamas de fogo, ocorridas no ambiente domiciliar, em indivíduos não oriundos da capital. Nascimento et al., (2013) constataram que a maioria dos pacientes foram classificados como médio ou grande queimado. Todos esses dados corroboram a presente pesquisa, exceto no que se refere à procedência desses pacientes, uma vez que este estudo demonstrou que a maioria residia no município de Aracaju.

3.2 Análise microbiológica

Os pacientes deste estudo foram submetidos à análise microbiológica, com cultura da secreção da ferida através do *swab*, nas áreas teste e controle. Tanto na área teste quanto na área controle, 31% não foram submetidos à análise microbiológica por falta de exsudato, 50% apresentaram infecção durante o tratamento e em 19% dos casos não houve crescimento. Quanto às feridas infectadas, 37% foram por *Pseudomonas aeruginosa*, 37% por *Acinetobacter* e 26% por *Staphylococcus aureus*, não havendo diferença entre os grupos.

Na pesquisa de Sodre et al. (2015), em relação à distribuição dos microrganismos nas amostras positivas, encontrou-se prevalência do *Acinetobacter baumannii spp.*, seguido por *Pseudomona aeruginosa spp.* No entanto, nos estudos de Altoparlak et al. (2004) e Raz-Pasteur et al. (2013), encontrou-se predomínio de *Pseudomona aeruginosa spp.*, seguido por *Acinetobacter baumannii spp.* e *Staphylococcus aureus spp.*

3.3 Análise qualitativa e descrição macroscópica das lesões

Ambos os grupos apresentaram, inicialmente, uma superfície cruenta de bordas irregulares e mal definidas, recobertas por pseudomembrana fibrinosa. Em alguns casos, havia descontinuidade da pseudomembrana, deixando expostas áreas eritematosas ulceradas.

Neste estudo, observou-se, após sete dias de intervenção, pouca mudança macroscópica das lesões, tanto na área teste quanto na área controle. No vigésimo primeiro dia após a queimadura, foi possível observar nas áreas UAM a degradação da fibrina e deposição de tecido de granulação mais evidente em relação às áreas SDZ, a qual ainda apresentava grande exsudato fibrinoso na superfície, o que sugere uma aceleração no processo de cicatrização promovida pelo uso da membrana (Figura 3 T21). Esse aspecto observado em UAM é provavelmente resultado do aumento da neovascularização, irrigando a nova estrutura dérmica e estimulando o processo de reepitelização das bordas para o centro da ferida.

Assim, foi possível observar melhor qualidade na cicatrização da área UAM nos pacientes analisados, com relevo plano e regular, sugestivas de reepitelização avançada, ao contrário da área SDZ, no qual as irregularidades de relevo foram mais evidentes, assim como áreas de eritema típicas de reação de granulação em evolução.

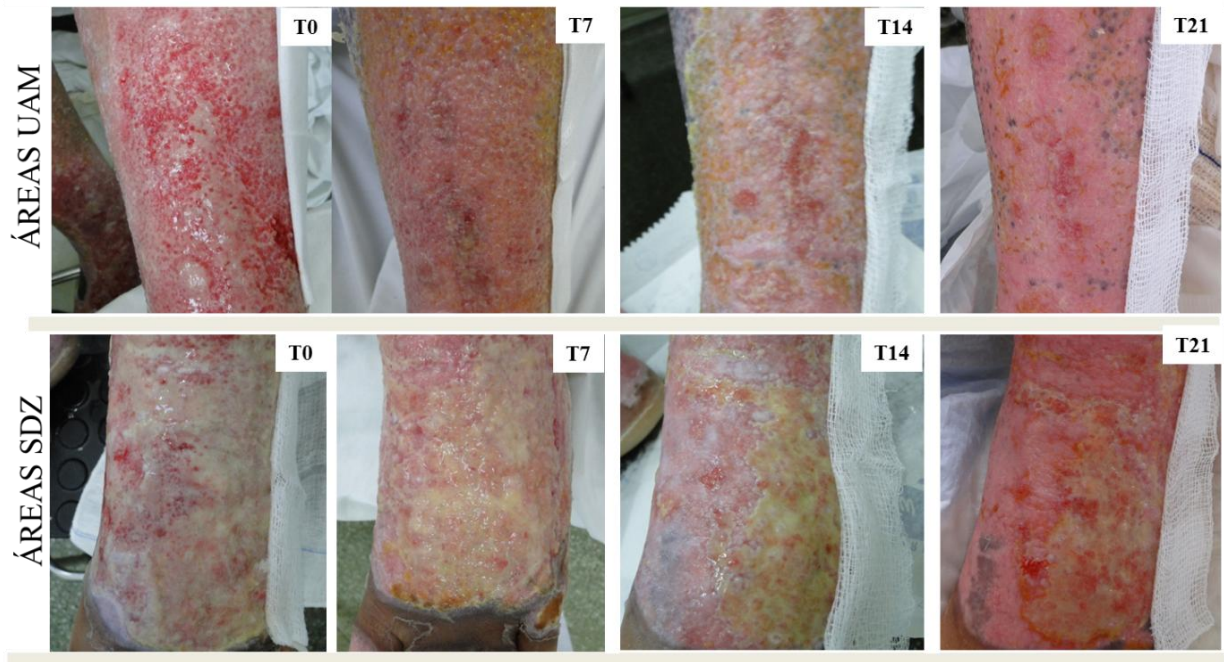


Figura 3. Lesões dérmicas por queimadura de segundo grau profundo. As áreas UAM foram tratadas com a membrana bioativa e as áreas SDZ com a pomada de Sulfadiazina de Prata. Tempo inicial da intervenção (T0), 7º dia (T7), 14º dia (T14) e 21º dia (T21), após o início do tratamento.

3.4 Análise quantitativa através do programa ImageJ®

A figura 4 apresenta o padrão progressivo de redução da área de queimaduras ao longo do tempo nos dois grupos analisados. Pode ser observado que, em 14 dias, já havia fechamento quase completo em quase todos os pacientes, de ambos os grupos. Similarmente, não foram observadas diferenças significativas ($p=0,620$) entre os grupos na análise quantitativa do percentual de redução da área das feridas.

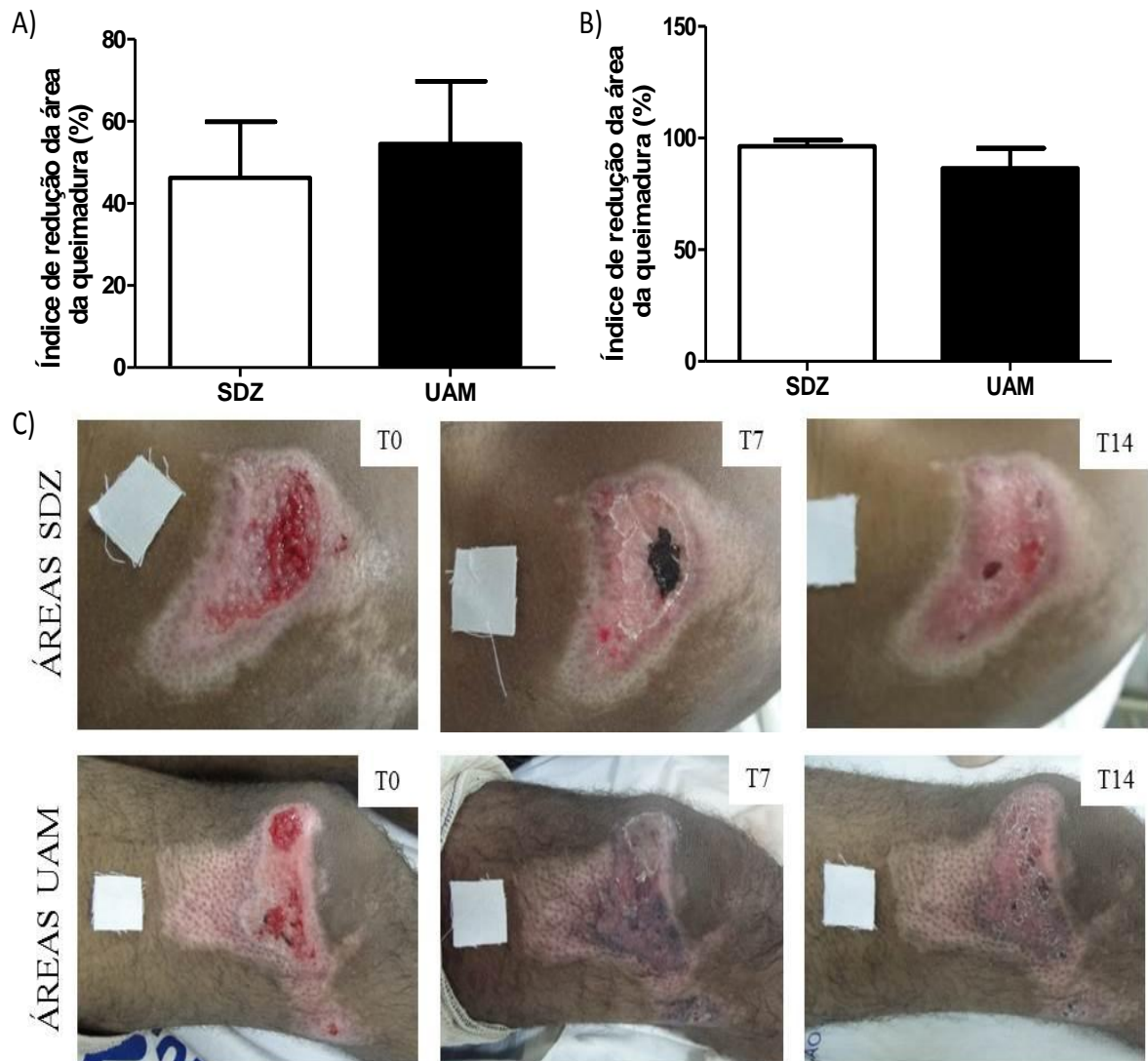


Figura 4. Índice percentual de redução da área da queimadura nas áreas controle e teste em 7 (A) e 14 dias (B) mostrando ausência de diferença significativa entre as áreas em ambos os tempos ($p=0,620$ e $p=0,836$, respectivamente, teste de Mann Whitney). Aspecto clínico das lesões (C), ilustrando o padrão de redução de sua área ao longo do tempo, visivelmente melhor em UAM que em SDZ.

Nesta pesquisa, utilizou-se como analisador de imagem chamado *ImageJ*[®], em decorrência de sua eficácia para a mensuração de feridas, sendo possível observar de maneira mais precisa que a contração da ferida ocorreu de forma similar nas áreas UAM e SDZ, não havendo diferença significativa entre as duas áreas quando analisado o índice de cicatrização. Além disso, constata-se que a aplicação da membrana bioativa não modificou muito o curso natural deste processo, indicando um fator positivo no estudo, uma vez que a aceleração do processo de cicatrização dérmica poderia provocar uma desorganização tecidual, precipitando o desenvolvimento de cicatrizes hipertróficas.

3.5 Avaliação da cicatrização através da escala de Vancouver

A Tabela 1 apresenta os dados relativos à avaliação dos parâmetros apresentados na escala de Vancouver. Foi observado que a área UAM apresentou índices significativamente melhores nas quatro variáveis analisadas quando comparada a área SDZ ($p < 0,05$). O aspecto clínico dessas lesões após 90 dias de tratamento está demonstrado na Figura 5.

Tabela 1. Avaliação do aspecto da cicatrização nas áreas teste e controle através das variáveis contidas na Escala de Vancouver.

ESCALA VANCOUVER					
ÁREA					
	UAM		SDZ		
PARÂMETRO	Média	DP	Média	DP	P value
Relevo	0.5000	0.7071	1.3000	0.6749	0.0059
Vascularização	0.9000	0.7379	2.0000	0.9428	0.0178
Pigmentação	1.0000	0.9428	2.2000	1.0328	0.0139
Flexibilidade	0.4000	0.6992	1.7000	1.1595	0.0059

Brusselaers et al. (2010) afirmam que as queimaduras de segundo e terceiro grau possuem alto risco de desenvolver cicatrizes hipertróficas, podem levar a várias alterações funcionais que limitam algumas atividades diárias. Vários dispositivos técnicos ou ferramentas são usados para avaliar um ou mais aspectos da cicatriz, permitindo comparação de diferentes protocolos de tratamento e dos resultados. Ainda não há um padrão ou consenso sobre a melhor maneira de avaliar a cicatriz. No entanto, escalas como a de Vancouver auxiliam essa avaliação com informações importantes, como: vascularização, maleabilidade, flexibilidade e altura da cicatriz, dados que nos trazem indícios do andamento do processo de cicatrização do paciente, permitindo uma abordagem clínica mais específica para cada caso e uma uniformidade nos resultados.



Figura 5. Avaliação do aspecto da cicatrização após 90 dias do início do tratamento das áreas teste (UAM) e controle (SDZ).

Em análise realizada com os pacientes deste estudo, três meses após intervenção, observou-se que a avaliação da cicatriz após a queimadura evidenciou diferença entre as áreas, com melhor aspecto na área submetida à membrana bioativa, uma vez que essas áreas cursaram com menor relevo, melhor vascularização e pigmentação, bem como maior maleabilidade do tecido cicatrizado, quando comparado com a área onde foi aplicada a sulfadiazina de prata.

3.6 Avaliação da cicatrização através do Courage

Após seis meses de intervenção (Figura 6), um indivíduo desta pesquisa foi submetido a outra avaliação da cicatrização nas áreas teste e controle através do Courage. As análises foram realizadas por dois avaliadores diferentes, sendo aplicados os dispositivos de análise objetiva seguindo a ordem avaliativa de análise de elasticidade de pele, avaliação de eritema e vascularização e, por último, a perda de água transepidermica (Gankande et al., 2015).



Figura 6. Comparação entre as áreas teste e controle quanto às características da pele cicatrizada através do Courage.

Em estudo de Gardien et al. (2016), nos primeiros 6 meses após a queimadura, observou-se a presença de cicatrizes hipertróficas na maioria dos pacientes avaliados. Vale ressaltar que o processo de cicatrização de feridas é diferente em cada paciente. Portanto, devem ser realizadas comparações intra-individuais. Na presente pesquisa, as comparações foram feitas intra-individualmente, sendo o paciente controle dele mesmo, e observou-se cicatrização de relevo plano, caracterizando cicatriz normotrófica.

Os resultados apresentados na Tabela 2 demonstraram alterações das propriedades biomecânicas da pele em queimaduras. Tornou-se evidente menor elasticidade geral (R8) e firmeza da pele (R0) na área controle em relação à área teste. Observou-se maior nível de deposição de eritema nas áreas controle do que nas áreas teste.

Tabela 2. Avaliação do aspecto da cicatrização nas áreas teste e controle através do Cutometer®, Mexameter® e Tewameter®.

DISPOSITIVO/ RESULTADO	HÍGIDA	TESTE	CONTROLE
CUTOMETER®			
R0	0,263	0,239	0,17
R1	0,076	0,03	0,018
R2	0,711	0,8745	0,8941
R3	0,283	0,265	0,189
R4	0,135	0,038	0,043
R5	0,6608	0,9605	0,7627
R6	0,538	0,3503	0,4407
R7	0,4297	0,7113	0,5294
R8	0,187	0,209	0,152
R9	0,02	0,026	0,019
F0	0,0602	0,0423	0,0449
F1	0,0601	0,0271	0,0314
F2	0	0	0
F3	0	0	0
F4	0	0	0
MEXAMETER®			
ERITEMA	174,33	152	325,67
MELANINA	149	133	92,67
TEWAMETER®			
PERDA DE ÁGUA	15,5	13,5	14,6

Anthonissen et al, (2013) nos seus estudos, confirmaram achados anteriores que medições em cicatrizes de queimadura por TEWL pode ser confiantemente realizada para a avaliação da qualidade da cicatriz.

4. CONCLUSÃO

Observou-se, com a utilização da membrana de gelatina contendo ácido úsnico, maior degradação de fibrina, com deposição de tecido de granulação, aumento da pigmentação, acelerando a reepitelização das bordas para o centro da ferida. A cicatrização ocorreu de forma semelhante entre os grupos teste e controle através da análise quantitativa pelo programa *ImageJ*[®].

Com relação a análise microbiológica, metade da amostra do estudo apresentou infecção durante o tratamento tanto na área teste quanto na área controle, especialmente por *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* e *Staphylococcus aureus*, não havendo diferença entre os grupos.

A avaliação da cicatriz três meses após a queimadura através da escala Vancouver evidenciou diferença entre os grupos, com melhor aspecto na área teste, apresentando menor relevo, melhor vascularização e pigmentação do tecido cicatrizado.

Após seis meses da queimadura, observou-se através dos dispositivos do equipamento *Courage* maior deformação da superfície da pele, comprometendo a elasticidade, no grupo controle em relação ao grupo teste, sendo evidente maior dano tecidual. Além disso, notou-se maior nível de eritema nas áreas controle.

Enfim, foi possível comprovar cientificamente a eficiência da membrana bioativa PIQLS08 como um produto de importância na aceleração dos eventos biológicos associados à dinâmica do reparo cicatricial em queimaduras quando comparado com a pomada de sulfadiazina de prata utilizada na prática clínica da UTQ.

5. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Pode-se considerar como fatores limitantes à realização da pesquisa a recusa do paciente ao início ou à continuidade do estudo clínico proposto, a resistência da equipe hospitalar, falta constante de material hospitalar, alta rotatividade dos pacientes, curativos realizados no centro cirúrgico e iluminação do ambiente para captação das imagens.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albuquerque Junior, R.L.C., Barreto, A.L.S., Pires, J.A., Reis, F.P., Lima, S. O., Ribeiro, M.A.G., Cardoso, J.C. Effect of bovine type-I collagen-based films containing red propolis on dermal wound healing in rodent model. **International Journal of Morphology**. 27, 1105-1110, 2009.

Altoparlak U, Erol S, Akcay MN, Celebi F, Kadanali A. The time-related changes of antimicrobial resistance patterns and predominant bacterial profiles of burn wounds and body flora of burned patients. **Burns**. 2004; 30(7):660-4.

Anthonissen M, Daly D, Fieuw S, Massage P, Van Brussel M, Vranckx J, et al. Measurement of elasticity and transepidermal water loss rate of burn scars with the Dermalab(1). **Burns** 2013;39:420–8.

Boateng Js, Matthews Kh, Stevens Hne, et al. Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review. **J. Pharm. Sci** 2008; 97 (8): 892-923.

Brusselaers N, Pirayesh A, Hoeksema H, Verbelen J, Blot S, Monstrey S. Burn scar assessment: a systematic review of different scar scales. **J Surg Res**. 2010; 164(1):e115-23.

Cao, N.; Yang, X.; Fu, Y. Effects of various plasticizers on mechanical and water vapor barrier properties of gelatin films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v.23, p.729-735, 2009.

Carvalho, P. T. C. Análise da cicatrização de lesões cutâneas através da espectrofotometria: estudo experimental em ratos diabéticos [dissertação]. **São Carlos: Escola de Engenharia da Universidade de São Paulo**; 2001.

Chen Q, Lianga S, Thouas Ga. Elastomeric biomaterials for tissue engineering. **Polymer Science** 2013; 38: 584-671.

Dantas, M.D.M.; Cavalcante, D.R.R.; Araujo, F.E.N.; Barreto, S. R.; Aciole, G.T.S.; Pinheiro, A.L.B.; Ribeiro, M.A.G.; Lima-Verde, I.B.; Melo, C.M.; Cardoso, J.C.; Albuquerque Junior, R.L.C. Improvement of Dermal Burn Healing by Associating Sodium Alginate/Chitosan-

Based Films and Low Level Laser Therapy. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 6: 1-9, 2011.

Dias, A.M.A., Braga, M.E.M., Seabra, I.J., Ferreira, P., Gil, M.H., Sousa, H.C. Development of natural based wound dressings impregnated with bioactive compounds and using supercritical carbon dioxide. **International Journal of Pharmaceutics**, 408: 9-19, 2011.

Eberhardta, T. D.; Kesslera, M.; Soares, R. S. A.; Lima, S. B. S.; Fonseca, G. G. P.; Rodrigues, L. R. Mensuração de feridas: revisão da literatura. **Ciência&Saúde** 2015;8(2):79-84

Echevarría-Guanilo ME, Gonçalves N, Farina JA, Rossi LA. Avaliação da qualidade de vida após queimadura. **Escola Anna Nery**. 20(1) Jan-Mar, 2016.

Espindula AP, Rocha LSM, Alves MO. Perfil de pacientes queimados do Hospital das clínicas: uma proposta de intervenção com escolares. **Rev Bras Queimaduras**. 2013; 12 (1):6-21.

Fan, Y., Liu, J., Wang, D., Song, X., Hu, Y., Zhang, C., Zhao, X., 2013. The preparation optimization and immune effect of epimedium polysaccharide-propolis flavone liposome. **Carbohydr Polym**. 94 (1), 24–30.

Gankande Tu, Duke Jm, Wood Fm, Wallace Hj. Interpretation of the DermaLab Combo® pigmentation and vascularity measurements in burn scar assessment: An exploratory analysis. **Burns**. 2015; 41 (6): 1176–1185.

Gardien KLM, et al. Transepidermal water loss measured with the Tewameter TM300 in burn scars. **Burns**. 2016.

Gardner, S. E. et al. Diagnostic validity of three swab techniques for identifying chronic wound infection. **Wound Repair and Regeneration**, v.14, p.548-557, 2006.

Gawryszewski, V.P.; Bernal, R.T.I.; Silva, N.N.; Morais Neto, O.L.; Silva, M.M.A.; Mascarenhas, M.D.M.; Sá, N. N. B.; Monteiro, R.A.; Malta, D.C. Atendimentos decorrentes de queimaduras em serviços públicos de emergência no Brasil em 2009. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 28 (4): 629-640, 2012.

Gonella, H. A.; Quevedo, F.; Garbossa, L. C. D. Colonização bacteriana nas primeiras 24 horas das queimaduras. **Rev Bras Queimaduras**. 2014;13(2):99-102.

Honda, N.K.; Pavan, F.R.; Coelho, R.G.; Andrade Leite, S.R.De.; Micheletti, A.C.; Lopes, T.I.B.; Misutsu, M.Y.; Beatriz, A.; Brum, R.L.; Leite, C.Q.F. Antimycobacterial activity of lichen substances. **Phytomedicine**, 17: 328–332, 2010.

Huanga, Y., Wub, C., Liu, Z., Hu, Y., Shi, C., Yu, Y., Zhao, X., Cui Liu, C., Liu, J., Wu, Y., Wang, D., 2014. Optimization on preparation conditions of *Rehmannia glutinosa* polysaccharide liposome and its immunological activity. **Carbohydr. Polym.**104, 118–126.

Khundkar R, Malic C, Burge T. Use of Acticoat dressings in burns: what is the evidence? **Burns** 2010; 36(6): 751-58.

Lira, M.C.B., Ferraz, M. S., Silva, D.G.V.C, Cortes, M.E., Teixeira, K.I., Caetano, N.P., Sinisterra, R.D., Ponchel, G., Santos-Magalhães, N.S., 2009. Inclusion complex of usnic acid with b-cyclodextrin: characterization and nanoencapsulation into liposomes. **J. Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, 64, 215–224.

Mendes Júnior, E.C.S.; Viterbo, F., Rosa, C.S. Análise histológica e morfométrica da área cruenta tratada com membrana de silicone: estudo em ratos. **Revista da Associação Médica Brasileira**, 53(5): 395-400, 2007.

Ministério da Saúde. Política Nacional de Atenção Básica. Série E. Legislação em Saúde. Brasília – DF, 2012.

Miot, H. A et al. Úlceras crônicas dos membros inferiores: avaliação pela fotografia digital. **Rev. Assoc. Med. Bras.** [online]. 2009, v.55, n.2, p. 145-148.

Miyazaki, H., Kinoshita, M., Saito. A., Fujie, T., Kabata, K., Hara E., Ono, S., Takeoka, S., Saitoh, D. An Ultrathin Poly (L-Lactic Acid) Nanosheet As A Burn Wound dressing for protection against bacterial infection. **Wound Repair and Regeneration**, 20: 573–579, 2012.

Nascimento, L. K. A.; Barreto, J. M.; Costa, A. C. S. M. Unidade de tratamento de queimados: perfil epidemiológico dos pacientes admitidos na fisioterapia. **Rev Bras Queimaduras**. 2013; v.12, n.3, p.177-8.

Nunes, P.S.; Bezerra, M.S.; Albuquerque-Júnior, R.L.C.; Cavalcante, D.R.R.; Dantas, M.D.M., Cardoso, J.C.; Souza, J.C.C.; Serafini, M.S.; Quitans-Jr, L.J., Bonjardim, L.R., Araújo, A.S.A. Collagen-Based Films Containing Liposome-Loaded Usnic Acid as Dressing for Dermal Burn Healing. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, 12(1): 9-14, 2011.

Raz-Pasteur A, Hussein K, Finkelstein R, Ullmann Y, Egozi D. Blood stream infections (BSI) in severe burn patients-early and late BSI: a 9-year study. **Burns**. 2013; 39(4): 636-42.

Reis, I. F.; Moreira, C. A.; Costa, A. C. S. M. Estudo epidemiológico de pacientes internados na unidade de tratamento de queimados do hospital de urgência de Sergipe. **Rev Bras Queimaduras**. 2011; 10 (4):114-8.

Rigo C, Roman M, Munivrana I, et al. Characterization and evaluation of silver release from four different dressings used in burns care. **Burns** 2012; 38(8): 1131-42.

Santana, C. M. L.; Brito, C. F.; Costa, A. C. S. M. Importância da fisioterapia na reabilitação do paciente queimado. **Rev Bras Queimaduras**. 2012;11(4):240-5.

Segatore, B.; Bellio, P.; Setacci, D.; Brisdelli, F.; Piovanob, M.; Garbarino, J.A.; Nicoletti, M.; Amicosante, G.; Perilli, M.; Celenza, G. In vitro interaction of usnic acid in combination with antimicrobial agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates determined by FICI and ΔE model methods. **Phytomedicine**, 19: 341-347, 2012.

Sehn E, Hernandez L, Franco SI, et al. Dynamics of reepithelialisation and penetration rate of a bee propolis formulation using cutaneous wounds healing. **Analytica Chimica Acta** 2009; 635: 115-20.

Serra, M.C.; Maciel, E. Tratado de Queimaduras. 1 ed. São Paulo: **Editora Atheneu**, 2006.

Silva, H. T. S.; Almeida, J. S.; Souza, S. I. F.; Costa, I. M. P. Queimaduras: Um estudo de caso na unidade de tratamento de queimados do hospital público do oeste, em Barreiras - BA. **Rev Digital Pesq Conquer**, Fac São Francisco de Barreiras. 2008, v. 30, n.3.

Sodré CNS et al. Infecção em pacientes vítimas de queimadura no Hospital Federal do Andaraí. **Rev Bras Queimaduras**. 2015; 14(2):109-12.

Sullivan T, Smith J, Kermode J, McIver E, Courtemanche DJ. Rating the burn scar. **J Burn Care Rehabil**. 1990;11(3):256-60.

Takejima, M. L.; Netto, R. F. B.; Toebe, B. L.; Andretta, M. A.; Prestes, M. A.; Takaki, J. L. et al. Prevenção de queimaduras: avaliação do conhecimento sobre prevenção de queimaduras em usuários das unidades de saúde de Curitiba. **Rev Bras Queimaduras**. 2011; v. 10, n. 3, p.85-8.

Who. World Health Organization. Fact sheet. **Burns**, Guildford, n. 365, 2012. [Internet] 2012. Disponível: <<http://www.who.int/mediacentre/>>.