

Universidade Federal de Ouro Preto

**EFEITOS DA PRÓPOLIS VERDE BRASILEIRA SOBRE A RESPOSTA
INFLAMATÓRIA SISTÊMICA E ANTIOXIDANTE EM PACIENTES COM
SEPSE POR COVID-19 E DE OUTRAS ETIOLOGIAS**

Jacques Gabriel Álvares Horta

Ouro Preto

2021

1. INTRODUÇÃO

1.1. Seps

Em 2016, a Society of Critical Care Medicine (SCCM) e a European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) publicaram novas definições para Seps baseadas em uma análise bastante robusta de grandes bancos de dados, basicamente americanos, na qual houve uma mudança conceitual (LAGU et al., 2012). A seps passa a ser definida pela presença de disfunção orgânica ameaçadora à vida secundária à resposta desregulada do hospedeiro a uma infecção (LAGU et al., 2012; SEYMOUR et al., 2016). A excessiva produção de radicais livres, a depleção dos estoques antioxidantes endógenos e o aumento de mediadores inflamatórios durante a seps contribuem para os principais efeitos sistêmicos deletérios na evolução da seps como a hipóxia tecidual e a falência de órgãos. Isso torna o estudo e a compreensão da fisiopatologia dessa síndrome primordial para tentar alternativas terapêuticas e poder conter esse processo o mais cedo possível. Seguindo essa proposta, as substâncias bioativas com poder anti-inflamatório e antioxidante vêm sendo uma nova forma terapêutica utilizada em alguns hospitais e na pesquisa científica, que pode ser uma nova arma contra a seps (SEYMOUR et al., 2016).

Nas últimas décadas, as substâncias bioativas de origem natural têm despertado grande interesse por parte dos consumidores, que dão preferência para alimentos funcionais naturais (SILVA et al., 2016; MACHADO et al., 2018; BARTKIENE et al., 2020). Dentre esses alimentos com propriedades funcionais, destaca-se a própolis, um composto resinoso oriundo de plantas (FIGUEIREDO et al., 2014).

As principais classes de compostos químicos farmacologicamente ativos encontrados na própolis são flavonóides, isoflavonas, compostos fenólicos, xantonas (SIQUEIRA et al., 2009; DE MENDONÇA et al., 2015). A própolis verde é considerada uma das mais populares entre as própolis brasileiras, e contém quantidade significativa de artepeline C, um derivado do ácido cinâmico, que é responsável por atividade antiinflamatória, antimicrobiana, antifúngica, anticâncer, e antioxidante (KALIL et al., 2019; GALEOTTI et al., 2018; HOCHHEIM et al., 2019; SOUSA, 2019).

Segundo Neiva et al. (2014), a própolis diminuiu a expressão de citocinas e/ou quimiocinas induzidas por lipopolissacarídeos (LPS) em células semelhantes a odontoblastos, em macrófagos e em osteoclastos. Anteriormente, Bachiega et al.

(2012) demonstraram o efeito imunomodulador da própolis na síntese e liberação de citocinas (IL-6, IL-1 β e IL-10) por macrófagos peritoneais *in vitro*, e verificaram que a própolis, devido à ação sinérgica de seus constituintes, pode modular a resposta imune e inflamatória dependendo de sua concentração. Neste contexto, mesmo se tratando de uma substância natural que há décadas é utilizada de forma empírica pela população, ainda são escassos os ensaios clínicos randomizados em humanos, que comprovem seus efeitos (FIGUEIREDO et al., 2015). Assim, a continuidade de estudos envolvendo a própolis verde e suas substâncias bioativas, principalmente em termos imunológicos associados a estados inflamatórios, certamente contribuirá positivamente para a recuperação, manutenção e prevenção de doenças (SUN et al. 2019).

1.2.Extrato Padronizado de Própolis Verde (EP)

A própolis é uma substância resinosa derivada de diferentes partes de plantas, que são coletados por abelhas e modificada dentro da colméia, através da adição de secreções próprias das abelhas (TELES et. al. 2015; KUMAZAWA et al., 2004). Há centenas de anos a própolis vem sendo usada com fins terapêuticos. Já foram descritas atividade antiviral, antibacteriana, antiinflamatória, imunomoduladora, antioxidante, inibidora da expressão de citocinas pro-inflamatorias como TNF- α e IL-6 (NAGAI et al., 2003; NEIVA et al., 2014; PARK et al., 1998, 2000; PARK; ALENCAR; AGUIAR, 2002).

Contudo, sua composição química pode variar entre as regiões, sendo dependente do tipo de vegetação de que é extraída e da variedade da abelha rainha (ALENCAR et al.,2007). No Brasil, treze tipos diferentes já foram descritos (KHAYYAL et al.,1993). E nesse sentido, Berretta et al. (2012) obtiveram um extrato padronizado de própolis verde (EP) que possui padronização quanto aos compostos fenólicos e flavonóides totais, além de contemplar os compostos ácido caféico, ácido p-cumárico, cinâmico, aromadendrina, isosakuranetina e artepelin C, além da padronização quanto à atividade biológica (BERRETTA et al., 2012; GONZÁLEZ-CORTAZAR et al., 2013)

Um estudo com o EP na dose diária de 375 mg/dia foi realizado com voluntários, sem evento adverso observado (CUSINATO, 2017). Além disso, outro estudo para avaliação de interação medicamentosa foi realizado através do uso de “cocktail” para análise das principais enzimas metabolizadoras hepáticas (CYPs) e para a enzima de transporte. Os resultados mostraram que o uso do EP é seguro e sem risco de interação medicamentosa conforme os critérios estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (CUSINATO et al., 2019).

Um ensaio clínico randomizado, duplo cego, placebo controlado em 32 pacientes portadores de Doença Renal Crônica (DRC), demonstrou segurança na dose de 500mg/dia e redução significativa de Proteinúria e MCP1 urinário no Grupo Própolis comparado com o Placebo 695 [95% CI, 483 to 999] vs. 1403 [95% CI, 1031 to 1909] mg/24h; $p=0,004$ e 58 [95% CI, 36 to 95] vs. 98 [62 to 155] pg/mg uCr; $p=0.038$, respectivamente (SILVEIRA et al., 2019).

De maior relevância para o presente trabalho foram os resultados obtidos em modelo animal de atividade imunoreguladora e antiinflamatória (MACHADO et al., 2012), onde os resultados mostraram o efeito da própolis na redução da produção das citocinas inflamatórias IL-6 e TNF-alfa, e aumento da citocina reguladora IL-10. Resultados obtidos em culturas de macrófagos, também demonstraram que a própolis inibe a produção de IL-1 beta, via importante em doenças como artrite reumatóide, dados que validam nossa hipótese de que o uso do EP nos pacientes acometidos por sepse podem ter seus efeitos minimizados (SILVEIRA et al., 2019).

1.3. COVID-19 X Seps

A COVID-19, causado pelo novo coronavírus de 2019 (2019-nCoV), renomeado de coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2), aumentou rapidamente em escala epidêmica desde que apareceu pela primeira vez em Wuhan, na China, em dezembro de 2019 (WANG et al., 2020a). O espectro clínico da COVID-19 abrange estado assintomático, quadros leves a quadros severos, caracterizados pela evolução para pneumonia, síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) e disfunção de múltiplos órgãos. As características clínicas comuns incluem febre, tosse, dor de garganta, dor de cabeça, fadiga, dor de cabeça, mialgia e falta de ar. Em um subconjunto de pacientes, até o final da primeira semana a doença pode progredir para pneumonia, insuficiência respiratória e morte (CHEN et al., 2020; SINGHAL, 2020). Esforços significativos estão sendo feitos para a identificação/desenvolvimento de

intervenções farmacológicas contra a infecção por SARS-CoV-2. Vários fármacos já aprovados para outras doenças estão sendo testados para o tratamento da COVID-19, incluindo lopinavir / ritonavir (Kaletra®), análogos de nucleosídeos, inibidores da neuraminidase, remdesivir, umifenovir (Arbidol®), inibidores da síntese de DNA (como tenofovir disoproxil e lamivudina) e a cloroquina. No entanto, até o momento, há comprovação científica há apenas o estudo da dexametasona como fármaco para o tratamento da COVID-19 (TOMAZINI, et al., 2020).

A SDRA é a principal causa de morte por COVID-19. Um dos principais eventos associados a SDRA é a resposta inflamatória sistêmica não controlada, resultante da liberação de grandes quantidades de citocinas pró-inflamatórias (IFN- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, IL-33, TNF- α , TGF β , etc.) e quimiocinas (CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10, etc.) por células efectoras imunológicas na infecção por SARS-CoV2. Essa resposta imunológica exacerbada leva a falência de múltiplos órgãos e à morte em casos graves (LI et al., 2020). De fato, os perfis de citocinas em pacientes diagnosticados com COVID-19 mostraram elevação acentuada da citocina tipo 1 (Th1), interferon-gama (IFN- γ) e citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β e IL-6). Nesse sentido, citocinas anti-inflamatórias, como IL-1Ra, IL-37 ou IL-38, apresentam-se como potenciais citocinas terapêuticas para a inflamação na infecção viral causada pelo SARS-CoV-2 (CONTI et al., 2020). Esses achados podem fornecer informações valiosas para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas contra a SARS-CoV-2.

Anormalidades hematológicas, bioquímicas e imunológicas foram identificadas em pacientes infectados com o SARS-CoV-2. Marcadores séricos, alterados como a hipoalbuminemia, baixo número de linfócitos, baixo percentual de neutrófilos e alto nível de lactato desidrogenase (LDH), angiotensina II e proteína C reativa (PCR), foram associadas à gravidade da lesão pulmonar em pacientes com COVID-19 (LIU et al., 2020). Mais especificamente, como revelado Henry et al. (2020), em um elegante estudo de metanálise, pacientes com COVID-19, que apresentaram quadro grave e fatal da doença, também apresentaram aumento significativo da contagem leucócitos, bilirrubina total, creatinina, enzimas hepáticas (alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase), creatina quinase (CK), IL-6, IL10 e de ferritina sérica. Por outro lado, tais pacientes apresentaram diminuição dos valores de hemoglobina e da contagem de linfócitos e plaquetas, e diminuição de linfócitos CD4 e CD8 (HENRY et al., 2020).

A epidemiologia da COVID-19 contemporiza de acordo com o país, pois medidas de prevenção influenciam diretamente com o número de casos e morte. Determinados

fatores associados à COVID-19 foram indicados, como biológicos e sociodemográficos, além de econômicos, organizacionais e recursos do sistema de saúde. Homens são mais frequente e gravemente acometidos que mulheres, a idade média é de 47 anos e a maioria das mortes envolve pessoas maiores de 70 anos e com doenças crônicas associadas, sendo geralmente leve em crianças e adolescentes (WU & MCGOOGAN, 2020). Entretanto, casos de Síndrome Inflamatória Multissistêmica na Infância associada à COVID-19 têm sido fatais em alguns casos (SOUZA et al., 2021).

Em maio de 2020, mais de 817.345 pessoas foram confirmadas como infectadas pelo COVID-19 e, aproximadamente 3,29 milhões de pessoas morreram devido à doença em todo mundo (OMS, 2021). Até o momento, não existem estudos abordando a ação ou uso da própolis em pessoas com sepse que se infectaram pelo COVID-19 ou por outras causas. Assim, pretende-se avaliar a atividade da própolis, como coadjuvante para prevenção de patologias secundárias causadas pela COVID-19, que pode apresentar diferentes manifestações, como comprometimento pulmonar grave, fenômenos trombóticos, envolvimento orgânico multissistêmico, dentre outras comorbidades ainda pouco esclarecidas na literatura. Entre as características, em destaque está a evolução para disfunções orgânicas nos casos mais graves, que corroboram para o conceito de sepse (SEYMOUR et al., 2016; SINGER et al., 2016).

E, o uso indiscriminado de antimicrobianos para o tratamento da COVID-19 pode ter colaborado com o aumento seletivo sobre a resistência bacteriana nos hospitais. Estudos estatísticos mostram que uma minoria de pacientes (aproximadamente entre 3% à 8%) tem coinfeção na admissão hospitalar, logo, não se justifica o uso de antimicrobianos de rotina na ausência de suspeita clínica específica de infecção bacteriana (RODRÍGUEZ-BAÑO et al., 2021).

Recentemente, alguns estudiosos presumiram que a doença provoca uma tempestade de citocinas, devido à elevada dosagem de marcadores de ativação da coagulação e pró-inflamatórios, como o D-dímero e fibrinogênio. Também foram observados valores aumentados de marcadores inflamatórios, como proteína C reativa, ferritina e interleucina 6 (IL-6). Essa hipótese resultou na utilização de diversas drogas terapêuticas, variando desde drogas com comprovação científica, como o uso de corticosteróides, até drogas terapêuticas dirigidas sem comprovação científica para o tratamento de COVID-19, como por exemplo, o tocilizumabe, um fármaco inibidor da IL-6 (CALFEE, 2020).

Drogas terapêuticas acoplado ao estado nutricional mais debilitado do indivíduo são fatores que influenciam diretamente no agravamento da doença, e contribuir para suas manifestações clínicas e nas respostas imunes. A dieta tem uma grande capacidade de modular as respostas celulares aos estímulos ambientais, e um regime nutricional equilibrado pode melhorar o metabolismo e a função imunológica, e tem papel potencial na melhoria do prognóstico inflamatório e mortalidade. Neste contexto, estudos envolvendo a própolis verde e suas substâncias bioativas, principalmente em termos imunológicos associados a estados inflamatórios, certamente contribuirá positivamente para a recuperação e manutenção da saúde e para a prevenção de doenças (SUN et al., 2019).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Suplementação de própolis

O estado nutricional do indivíduo é um fator que influencia diretamente no agravamento, nas manifestações clínicas e nas respostas imunes. Sendo assim, pode-se identificar um estado de imunodepressão secundária ao estado nutricional, decorrente da deficiência absorvativa de nutrientes no trato gastrointestinal que passa por alterações significativas ao longo dos processos de tratamento de diversas patologias (MUNIZ-JUNQUEIRA & QUEIRÓZ, 2002).

A relação direta entre nutrição e imunidade foi consolidada no início da década de 1970, quando se observou que exames bioquímicos e testes imunológicos poderiam ser incluídos como parâmetros para avaliação do estado nutricional. Além disso, sabe-se que os micronutrientes influenciam diretamente na estrutura e função das células de defesa, sendo assim a nutrição adequada em termos qualitativos e quantitativos podem contribuir para a preservação da atividade do sistema imune (KRABBE, PEDERSEN & BRUNSGAARD, 2004).

Os macrófagos, como células de defesa, também desempenham um papel importante no sistema imunológico, bem como no processo de inflamação. Quando estimulados por lipopolissacarídeos (LPS), os macrófagos podem secretar uma variedade de mediadores inflamatórios, incluindo NO, IL-1 e IL-6 (WANG et al., 2013; NEIVA et al., 2014). Segundo Wang (2013), um aumento desses mediadores rompe o equilíbrio imunológico e origina inúmeras condições inflamatórias, incluindo choque séptico, arteriosclerose e sugerem que a própolis verde pode exercer uma influência supressora na expressão da inflamação destes genes relacionados ao nível transcricional (SANTOS et al., 2012).

A própolis é rica em polifenóis e apresenta efeitos benéficos à saúde e possui baixa toxicidade (BURDOCK, 1998), e devido ao sinergismo entre seus diversos compostos (SANTOS et al., 2012). Diversos estudos *in vitro* mostraram que alguns produtos à base de plantas exercem função anticancerígena através de alguns mecanismos, como a indução da parada do ciclo e apoptose celular, ativação do sistema de reparo de DNA, regulação das vias de sinalização envolvendo a progressão do câncer, e da invasão das células tumorais a outros tecidos (PATEL, 2015). Nesse contexto, observa-se a importância do uso da suplementação alimentar com a própolis

verde como estratégia para redução da inflamação e consequente melhoria do sistema resposta sistêmica à infecção dos indivíduos internados com Sepsis por COVID-19 e outras causas.

2.2. Propriedades da própolis

Com base na constituição química dos extratos de própolis, alguns autores observaram que existe uma grande variação na sua composição. Essa variação está relacionada aos tipos, origens das plantas, região geográfica e o tipo de abelha que faz a coleta onde a própolis é produzida (SOARES, 2014; POPOVA et al., 2012). A própolis normalmente é composta por resina e bálsamo de 50 a 60%, sua porção de ceras compreende de 30 a 40%, os óleos essenciais e aromáticos situam-se entre 5 a 10%, o pólen corresponde 5%, podendo ainda conter minerais (ferro, alumínio, cálcio, cobre, manganês) e vitaminas (B1, B2, B6, C e E). A literatura já relata mais de 400 diferentes tipos de compostos diferentes encontrados na própolis (PARK et al., 2002; KASKONIENE et al., 2014; De FIGUEIREDO et al., 2015).

Os principais compostos químicos farmacologicamente ativos encontrados na própolis são flavonóides, isoflavonas, compostos fenólicos, xantonas (SIQUEIRA et al., 2009; De MENDONÇA et al., 2015). Estes são responsáveis por atividades antimicrobiana, antiinflamatória, antioxidante, antiviral, antifúngica, ações anticancerígenas, hipotensora, cicatrizante, anestésico, anti-HIV, imunomoduladores, anticariogênico (BARBOSA et al., 2009; De FIGUEIREDO et al., 2014).

As propriedades biológicas da própolis estão diretamente relacionadas aos seus compostos químicos, sendo estes muito variados, muitas vezes esse fato, dificulta sua aplicabilidade terapêutica. Sabe-se que a composição química, as propriedades físicas e biológicas dependem da flora de cada região visitada pelas abelhas, do período de coleta e da variabilidade genética das abelhas produtoras (PINTO et al., 2001; FERNANDES et al., 2006; SILVA et al., 2016).

Além da função biológica e cor, a própolis apresenta odor e consistência variável (SANTOS et al., 2012). Em relação à cor, podem ser amareladas, esverdeada clara, marrom escuro, vermelha, verde escuro (PARK et al., 2000). O sabor varia de suave a forte, amargo e picante, a consistência varia de acordo com a temperatura, se o ambiente estiver abaixo de 20°C, será rígida, se em temperaturas mais altas, a consistência da

própolis poderá ser maleável a levemente rígida (PINTO et al., 2001; FREITAS et al., 2018).

Atualmente, a própolis brasileira é classificadas em 13 tipos diferentes, de acordo com suas propriedades físicas, origem botânica e área geográfica de coleta (PARK et al., 2000, De MELO et al., 2014). Na própolis oriunda da região nordeste foi obtido os melhores resultados antimicrobianos, demonstrando alta atividade contra as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*, sendo seguida pela própolis da região sul, e a da região sudeste. Todos os grupos proporcionaram elevada atividade antioxidante, superior a 80%, atividades citotóxicas e anti-HIV (PARK et al., 2000). Posteriormente, outros pesquisadores (PINTO, PRADO & CARVALHO, 2011) descobriram o 13º tipo de própolis, ela possui composição química peculiar, localizada em manguezais no nordeste brasileiro e foi chamada de Própolis Vermelha Brasileira.

O tipo mais comum e mais estudado é a própolis verde (tipo 12), oriunda da *Baccharis dracunculifolia* (BITTENCOURT et al., 2014, FIGUEIREDO et al, 2015, FREITAS et al, 2018). A própolis verde contém vários compostos bioativos (BANKOVA, 2005), tais como, derivados de *p*-cumárico e terpenóides que têm atividade antimicrobiana; o ácido cafeico que atua como antiviral e anti-inflamatório; e o flavonóide chrisina que é um excelente antifúngico (TORETI et al., 2013). O composto fenólico Artepilina C (3,5-diprenil-4-ácido hidroxicinâmico), que é um marcador típico da própolis verde, foi evidenciado como responsável pela função antitumoral e antioxidante (TORETI et al., 2013, FIGUEIREDO et al., 2015).

A própolis verde conquistou maior valorização no mercado mundial. No Japão, por exemplo, devido à tradição milenar de se utilizar alimentos e remédios naturais, a própolis é usada no desenvolvimento de alimentos e fármacos. A população é incentivada a consumir sucos e outras bebidas contendo própolis, como aliado à saúde. O produto também é aplicado em outras áreas distintas, como na área de cosmético e na conservação alimentar (FIGUEIREDO et al., 2014; FREITAS et al., 2018). No Brasil pesquisas e patentes utilizando própolis verde como conservante natural também foi desenvolvido por meio de nanoemulsão de própolis com atividade antioxidante e antimicrobiana (SEIBERT et al., 2019).

Existem muitos estudos (TORETI et al. 2013; PASUPULETI, 2017) indicando que a própolis verde apresenta grande potencial e inúmeras propriedades benéficas (Figura 1) para a saúde (SANTOS, 2012). Porém, estudos randomizados com humanos ainda são escassos, mesmo sendo uma substância já utilizada de forma empírica pela

população há muitos anos (FIGUEIREDO et al., 2015). Desse modo, o interesse para o estudo da própolis como alimentos funcionais/nutracêuticos ou como suplemento nutricional está aumentando muito (PASUPULETI, 2017), pois possui substâncias bioativas que podem contribuir positivamente para a manutenção da saúde, do bem-estar e na redução de doenças (SUN et al., 2019).

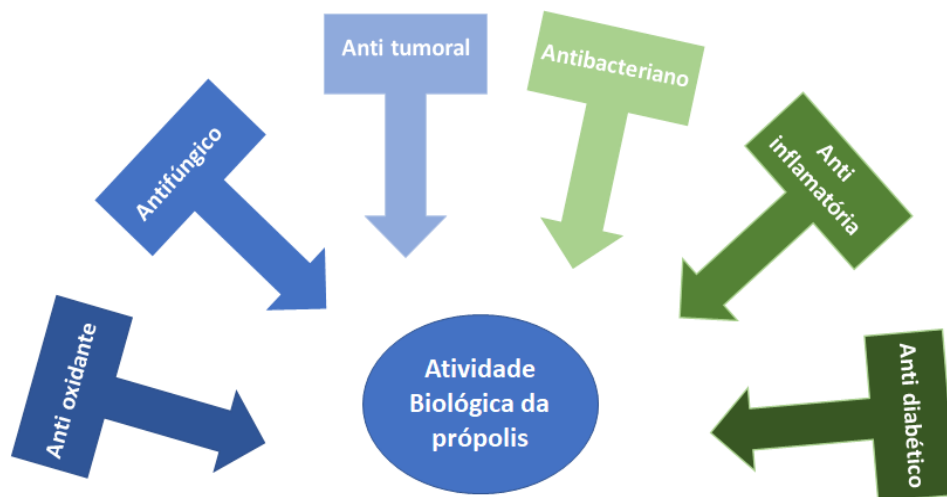


Figura 1. Atividades biológicas da própolis (adaptada de Pasupuleti et al. 2017).

Considerando o grande número de estudos *in vitro* sobre os efeitos da própolis e de seus componentes, além da incontestável relevância do tema, é de interesse buscar um maior entendimento acerca das possíveis propriedades da própolis na melhora da autoimunidade. Então, se comprovado, o estudo da suplementação de própolis verde poderá ser utilizado na prevenção de complicações da sepse através da correlação com biomarcadores (SOUZA *et al.*, 2013).

Considera-se que um biomarcador ideal deve acrescentar algum tipo de valor ao julgamento clínico, sendo capaz de diferenciar os indivíduos sadios daqueles com doença em atividade, de normalizar-se após o tratamento adequado e/ou de correlacionar-se ao prognóstico de determinada condição clínica. Além disso, sua mensuração deve ser relativamente rápida, de fácil execução e custo acessível (REINHART; MEISNER, 2011). Os biomarcadores podem ser utilizados isoladamente ou em conjunto. No último caso, o potencial ganho de desempenho com a utilização de biomarcadores associados se contrapõe com possíveis dificuldades técnicas, custos mais elevados, e com a dificuldade de interpretação dos resultados obtidos quando do uso concomitante de diferentes variáveis (REINHART; MEISNER; BRUNKHORST, 2006).

As variáveis que serão monitorizadas inicialmente como biomarcadores de septicemia serão: procalcitonina e ácido lático quantitativo. Estes dois parâmetros serão dosados durante três momentos, sendo estes no primeiro, quinto e décimo dia de tratamento. Esses biomarcadores podem ser utilizados para auxiliar o diagnóstico de diferentes condições clínicas, para a avaliação da resposta a determinadas terapêuticas e como indicadores prognósticos (BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP, 2001).

A Procalcitonina (PCT) é um pró-hormônio precursor da calcitonina, constituída por 116 aminoácidos. A PCT é normalmente produzida pelas células neuroendócrinas C da tireóide e, em menor quantidade, por células neuroendócrinas pulmonares. Nos pacientes com resposta inflamatória sistêmica decorrente de infecções, principalmente de etiologia bacteriana, a PCT passa a ser produzida por praticamente todos os tecidos do corpo, notadamente fígado, baço, pâncreas, rins e intestino (MÜLLER et al., 2001).

Nesses casos, a produção de PCT, que pode atingir níveis muito elevados, ocorre devido à expressão aumentada do gene CALC-1, determinada por citocinas inflamatórias, notadamente a IL-1, o fator de necrose tumoral (TNF). Dá-se uma secreção por via citocina-símile, ao invés da secreção por via hormonal. Acredita-se que o pró-hormônio seja liberado em detrimento do hormônio maduro, já que os tecidos citados não possuem grânulos de estocagem, onde a PCT sofreria o processamento enzimático pós-translacional que ocorre em condições fisiológicas, trauma, insuficiência cardíaca, choque cardiogênico, choque hemorrágico e circulação extracorpórea (ANDRIJEVIC et al., 2014; BECKER et al., 2004; WACKER et al., 2013).

Este biomarcador modula a resposta imune durante a infecção e inflamação, apresenta funções quimiotáticas e modula a liberação e produção do óxido nítrico sintetase, citocinas e de proteínas que interferem no tônus vascular. As endotoxinas ou mediadores liberados pelas infecções (o fator de necrose tumoral e interleucinas) estimulam a liberação deste biomarcador (ANDRIJEVIC et al., 2014). É importante salientar que os níveis de PCT devem ser sempre avaliados no contexto de uma avaliação clínica e microbiológica. Em pacientes saudáveis, apresenta níveis circulantes baixos ($< 0,1$ ng/ml) e, nos pacientes sépticos, a literatura indica diferentes pontos de corte, sendo que valores iguais ou acima de $0,25$ ng/ml sugerem infecção bacteriana (KOPTERIDES; TSANGARIS, 2012).

Entretanto, ensaios clínicos randomizados demonstraram que o nível de elevação da PCT correlaciona-se com a sobrecarga bacteriana e a severidade da infecção,

demonstrando ter implicações prognósticas em infecções respiratórias em pacientes críticos, sendo um bom preditor de mortalidade em CTI (OKSUZ et al., 2014). Estudos recentes demonstraram que a utilização da PCT para guiar antibioticoterapia parece ser segura e encurtar a duração do tratamento. Por isso, tem sido proposto o seu uso não apenas para decisões sobre o início e acompanhamento da terapia antibiótica, mas, também, como guia de término da terapêutica (BOOLS, 2011; TANRIVERDI et al., 2015).

Outro biomarcador que deve ser analisado neste estudo é o ácido láctico (lactato), o qual é um intermediário do metabolismo dos carboidratos e derivado predominantemente do músculo esquelético, cérebro e eritrócitos. A concentração sanguínea é dependente da taxa de produção e taxa de metabolismo do fígado e rins (AGUIAR, 2019). No estado de choque séptico, a acidose ocorre devido à má oxigenação tecidual. A acidose láctica não é incomum e pode levar a uma taxa de mortalidade superior a 60%, que pode chegar a 100% quando combinada com a hipovolemia (LOPEZ, 2013). Os níveis de lactato do sangue têm sido utilizados em várias situações, entre elas como marcador de hipoperfusão tecidual em pacientes com choque, indicador de ressuscitação adequada após o choque, índice prognóstico pós-ressuscitação e fator prognóstico em situações de doenças graves e como diagnóstico etiológico (BERGER; DIVILOV; TERESSA, 2019; KLIEGEL et al., 2004; MIZOCK, 1997).

3. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA DO PROJETO

Existem importantes descobertas de substâncias bioativas na própolis com resultados positivos e benéficos para saúde, em torno dos mecanismos de ação da própolis. Apesar de existirem trabalhos científicos acerca das propriedades antiinflamatórias, antioxidantes, bactericidas, fungicidas, anticarcinogênicas e antivirais da própolis, ainda encontramos poucos estudos abordando ação da própolis e de seus extratos em humanos, principalmente em sepse.

A hipótese principal do estudo é que a administração de 700 mg de própolis verde, duas vezes ao dia, iniciando nas primeiras 24h do diagnóstico de sepse e por um período de 10 dias possa diminuir os níveis de marcadores inflamatórios e consequentemente os desfechos de morbidade, mortalidade e dias livres de internação hospitalar.

Este projeto abrange uma colaboração científica entre a pós graduação da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, Laboratório de Análises Clínicas Cruz Leal, Hospital Santa Casa da Misericórdia de Ouro Preto e Farmácia de Manipulação Nectar Farmacêutica LTDA.

Como desfecho primário terá a ação da própolis sobre o estado inflamatório de pacientes com sepse por COVID-19 e sepse de outras etiologias, internados no Hospital Santa Casa de Misericórdia de Ouro Preto. Já como desfecho secundário, ação da própolis sobre tempo de internação em ambiente hospitalar, dias livres de ventilação mecânica, dias livre de droga vasoativa e mortalidade.

4. OBJETIVO

4.1. Objetivo geral:

Avaliar o efeito da Própolis Verde Brasileira no nível sérico de marcadores inflamatórios em pacientes sépticos internados no hospital, correlacionando com mortalidade, tempo de internação na Hospitalar e tempo de uso de droga vasoativa.

4.2. Objetivo específico:

Avaliar o efeito da própolis sobre:

- Glicemia, creatinina, uréia, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (AST), bilirrubina total, ácido láctico e proteína C reativa;
- Parâmetros hematológicos (hemoglobina, eritrócitos, hematócrito, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média, concentração da hemoglobina corpuscular média, global e diferencial de leucócitos e plaquetas);
- Parâmetros Gasométricos: pH, pressão arterial de CO₂ (PaCO₂), pressão arterial de O₂ (PaO₂), excesso de base (BE), saturação da hemoglobina por O₂ (satO₂), HCO₃ (bicarbonato) e a relação PaO₂ e a fração inspirada de O₂ (PaO₂ /FiO₂);
- Os níveis dos biomarcadores inflamatórios: IL-6, IL-1 β e IL-10, TNF α ;
- Os níveis de Procalcitonina e Ácido Láctico sérico
- O tempo de internação na UTI / Hospitalar, mortalidade, dias livres de vasopressor;
- O sistema prognóstico SAPS 3 (*Simplified Acute Physiology Score 3*) de todos os pacientes alocados no estudo, visando estabelecer índice preditivo de

mortalidade para pacientes admitidos em UTI (SILVA et al., 2010).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Desenho experimental

Trata-se de estudo clínico, randomizado, controlado, duplo-cego, que será realizado na Santa Casa de Misericórdia de Ouro Preto, em pacientes com Sepse por COVID-19 ou de outras etiologias.

No início do estudo os objetivos e métodos serão totalmente explicados aos pacientes e eles terão a possibilidade de interromper a cooperação ao estudo em qualquer momento, caso desejem. Aqueles que concordarem serão convidados a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). O protocolo deste estudo será aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade de Universidade Federal de Ouro.

Este estudo clínico será registrado no ClinicalTrials.Gov antes da inclusão do primeiro paciente. Serão dois grupos: intervenção e controle.

O tamanho e configuração da amostra foi elaborado de acordo com o estudo de Afsharpour et al (2019) e estimado em 60 pessoas em cada grupo. A média e o desvio padrão na base e no final da intervenção foi calculada e de acordo com $\beta = 0,2$ e $\alpha = 0,05$ na fórmula $(N = [(Z_{1-\alpha} / 2 + Z_{1-\beta})^2 (SD_{12}^2 + SD_{22}^2)] / \Delta^2)$ de estimativa do tamanho da amostra e calculada para 44 pessoas. Considerando a probabilidade de abandono, foram estimados 35% a mais de voluntários, sendo assim, serão selecionadas 60 pessoas para cada grupo – grupo intervenção (suplementação de própolis) e, outros 60 voluntários serão do grupo controle que receberão cápsula placebo.

Todos seguirão dieta balanceada já padronizada e fornecida pelo hospital. A diferença estará na possibilidade de investigar se a suplementação de própolis exerce influência nos biomarcadores avaliados nos voluntários. Inicialmente, as características demográficas dos pacientes, história, medicamentos utilizados serão registrados e observados no prontuário. Todos os índices antropométricos serão incluídos: altura, peso, circunferências (cintura, quadril, pescoço e braço) e dobras cutâneas serão aferidas. O índice de massa corporal (IMC) será calculado em quilogramas por metro quadrado.

A avaliação do consumo dietético será realizada por meio das dietas fornecidas pelo hospital e pela ingestão de cada paciente a cada 24 horas, quando a suplementação de própolis será efetuada. Este procedimento será registrado durante os dez dias do

estudo. Após análise das características demográficas, os pacientes serão randomizados em grupos de intervenção (n = 60) e controle (n = 60). Cada sujeito receberá os suplementos contendo própolis ou preparação similar sem a própolis. A forma, cor e tamanho dos suplementos serão semelhantes nos dois grupos. Os suplementos serão produzidos e fornecidos por uma empresa especializada na produção e comercialização de própolis. Os suplementos foram previamente estudados (Figueiredo et al 2015).

Os pacientes serão acompanhados diariamente para monitoramento do consumo dos suplementos. Cada voluntário/equipe deverá avaliar se conseguiu utilizar os suplementos. Os pacientes que consumirem de forma errática os suplementos serão removidos do estudo. Amostras de sangue em jejum serão coletadas nos dias D0, D6 e D10 do estudo.

5.2. Posologia da própolis

A dose de 1400 mg/dia que será utilizada neste estudo foi baseada em estudo clínico prévio que utilizou dose de 500mg/dia em pacientes com doença renal crônica estágio 3, bem como em estudo clínico que utilizou dose de 1200mg/dia em pacientes com dengue hemorrágica, ambos estudos se mostraram seguros (SILVEIRA et al., 2019; SOROY et al., 2014).

5.3. Coleta de Amostras de Sangue (Plasma)

Após jejum noturno, amostras de sangue serão coletadas dos pacientes analisados. Amostras de sangue serão coletadas sem e com anticoagulante EDTA. O material será centrifugado (4000 rpm; 4°C; 6 min) para separação do plasma. O plasma e o soro obtidos serão armazenados em alíquotas em tubos tipo *eppendorfe* a - 80°C.

5.4. Análises Bioquímicas

Para realização das dosagens bioquímicas séricas, serão utilizados os kits comerciais do laboratório Bioclin/Quiabasa (Belo Horizonte, MG, Brasil), seguindo o protocolo disponibilizado pelo fabricante. As dosagens serão realizadas em triplicata técnica, através de espectrofotometria por analisador bioquímico automatizado no Laboratório Cruz Leal, empresa terceirizado pelo Hospital Santa Casa de Ouro Preto.

A glicose plasmática, o colesterol total e frações e triglicérides serão realizadas por kits enzimáticos específicos. Será avaliado também estresse oxidativo, funções hepáticas e renais (AST; ALT; creatinina; ácido úrico; uréia) utilizando kits comercial e multianalisador de acordo com as instruções do fabricante.

5.5. Análise Hematológica

Os valores para hemoglobina, eritrócitos, hematócrito, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média, concentração da hemoglobina corpuscular média e plaquetas serão determinados através do analisador automático ABX Micros 60®, no laboratório Cruz Leal de referência onde o paciente faz o controle hematológico. A contagem diferencial de leucócitos será realizada através da confecção de esfregaços sanguíneos corados com Panótico Rápido InstantProv (Newprov®). Em cada ensaio, 100 células serão analisadas e contadas. Os laudos serão emitidos pelo laboratório de referência onde o paciente faz o controle.

5.6. Critérios de inclusão:

Pacientes com idade superior ou igual a 18 anos, com diagnóstico de sepse por COVID-19 ou sepse por outra etiologia e compensados hemodinamicamente. Consideraremos como compensados hemodinamicamente, os pacientes com seu estado hemodinâmico adequado, podendo estar em uso de drogas vasoativas ou de qualquer outra forma de suporte cardiovascular, mas que não seja fator impeditivo à via enteral.

5.7. Critérios de exclusão:

Pacientes que apresentarem instabilidade hemodinâmica durante o estudo que inviabilize a via enteral, mulheres grávidas ou em lactação, alergia à própolis ou derivados de abelhas, ocorrência de efeitos colaterais devido à intervenção, pacientes com distúrbios renais ou hepáticos graves, que apresentarem qualquer doença aguda que possa afetar o estudo (cardiovascular, pulmonar ou renal), mudança na dose de drogas, mudanças nos níveis de dieta ou atividade física, consumo de outros suplementos alimentares dois meses antes do início da pesquisa.

5.8. Avaliação de Segurança

Os pacientes serão submetidos à avaliação laboratorial no primeiro, quinto e décimo dia para análise de marcadores de função e lesão hepática (Bilirrubina, TGO, TGP), os quais já fazem parte dos exames laboratoriais de rotina em unidades de terapia intensiva e semi-intensiva.

Os pacientes com critérios para inclusão no estudo e que tiverem indicação de internação hospitalar seguirão protocolos estabelecidos pela Instituição. Todos estarão sob os mesmos cuidados necessários.

Os pacientes elegíveis para o Protocolo do Estudo em questão deverão iniciar o tratamento em até 24h após a randomização/confirmação do diagnóstico.

5.9. Grupos e Tratamentos

O estudo contará com dois grupos comparadores:

- Grupo Própolis: Extrato de Própolis Verde (EPPV) na forma de cápsulas na dose de 500 mg de 12/12 horas por 10 dias + Tratamento de suporte clínico padrão.
- Grupo Controle: Tratamento de suporte clínico padrão, vide protocolo institucional + cápsulas na forma de placebo de 12/12 horas por 10 dias.

5.9. Randomização e cegamento

A previsão será de cento e vinte pacientes (homens e mulheres) alocados por idade, sexo e peso. A lista da randomização será gerada eletronicamente utilizando um software apropriado. A randomização será realizada em blocos (blocos de 4 pacientes, 1:1) e será estratificada por idade (<60 anos, e > 60 anos). O sigilo da lista de randomização será mantido através de um sistema de randomização automatizado e centralizado acessado via internet. Os pacientes que não cumprirem os critérios de elegibilidade para participarem do estudo não devem ser recrutados e randomizados. Os pacientes e investigadores principais serão mantidos em caráter cego quanto à alocação; somente o farmacêutico local terá conhecimento da alocação do tratamento do paciente. Os assessores e estatísticos responsáveis pelos resultados serão mantidos em caráter cego em relação aos tratamentos alocados. O grupo de tratamento (n =60) receberá 1400 mg de própolis verde (cápsula de 700 mg, 2 vezes ao dia) e o grupo placebo (n = 60) receberá placebo. Os dois grupos receberão as cápsulas correspondentes por 10 dias.

A randomização será estratificada e realizada em programa computacional, utilizando os seguintes fatores:

- Idade;
- Diabetes Mellitus Tipos 1 ou 2;
- Hipertensão arterial sistêmica;
- Doença pulmonar crônica (ASMA ou DPOC);
- Insuficiência Cardíaca;
- Acidente Vascular Encefálico prévio;
- Sintomas graves ($SpO_2 < 93\%$ ou $PaO_2/FiO_2 < 300$ ou $FR > 30\text{irpm}$);

5.10. Seção de intervenções:

Cada cápsula de própolis verde brasileira conterá própolis em pó, originária de Caeté, Minas Gerais, que será fornecido por empresa especializada na comercialização nacional e internacional deste produto natural e, cápsulas contendo somente amido serão utilizadas como placebo. Todas as cápsulas terão aparência idêntica, odor

característico, sabor similar e código identificador específico no qual o investigador e os pacientes estarão ambos cegos até o final da intervenção. A distribuição será realizada de acordo com os códigos de alocação após randomização. Para garantir que o estudo seja duplo cego, a alocação das cápsulas será realizada por um investigador treinado que não participará do estudo. Em entrevista presencial, dados demográficos, perfil alimentar e clínicos serão obtidos por pesquisador treinado.

5.11. Considerações éticas:

Este estudo será registrado no Comitê de Ética da UFOP/Plataforma Brasil. Os participantes/responsáveis legais serão convidados através de termo de consentimento (Anexo 7.1).

5.12. Análise laboratorial:

Amostras de sangue em jejum serão coletadas antes e após a suplementação da própolis verde brasileira. As amostras serão processadas no laboratório da Santa Casa de Ouro Preto.

5.13. Consentimento livre e esclarecido

Os indivíduos elegíveis para pesquisa serão convidados a participar do estudo pelos pesquisadores, baseado no critério de inclusão, conforme a resolução Nº 466/12 do CNS. Neste momento, serão apresentadas as informações da pesquisa (objetivos, riscos, benefícios, e procedimentos aos quais serão submetidos). Após a confirmação do desejo de participar voluntariamente da pesquisa, será entregue uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para os pacientes ou representantes legais, para que sejam esclarecidas quaisquer dúvidas. Só então, com a assinatura do TCLE, será formalizada a participação do indivíduo na pesquisa (ANEXO 1).

5.14. Método Estatístico

Dados homogêneos serão expressos em média e desvio padrão e dados não homogêneos serão expressos em mediana e variância. Será realizado o Test-t pareado para análise com distribuição normal e o teste de Wilcoxon será utilizado para comparar as variáveis de distribuição anormal. Modelo misto para análise de correlação entre as medidas do desfecho primário e secundário, quando pertinentes, serão realizadas a fim de comparação entre os grupos ao longo do período analisado. Um valor de $p < 0.05$ será indicado como de significância estatística. Análise estatística será realizada utilizando SPSS software, versão 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

5.15. Monitorização da pesquisa

5.15.1. Medidas para a proteção ou minimização de quaisquer riscos

Os dados serão coletados apenas pelos pesquisadores participantes, e posteriormente, serão armazenados no computador institucional, para assegurar o armazenamento das informações colhidas. Não serão publicados nomes, ou quaisquer outras informações que identifiquem os pacientes inseridos. Os protocolos preenchidos serão de inteira responsabilidade dos pesquisadores, assim como seu sigilo.

Durante toda a pesquisa, o sujeito será esclarecido quanto às etapas do estudo, ficando ciente dos eventuais efeitos adversos que as doses de Própolis, administradas possam ocasionar. Contudo, as possibilidades de obtenção dos efeitos positivos esperados deverão ser apontadas a todos os pacientes selecionados, com a finalidade de que a taxa de adesão aos objetivos da pesquisa seja conforme a esperada pelos pesquisadores.

Na hipótese de efeitos adversos suspeitos ou confirmados, leves, moderados ou graves, o uso da medicação será interrompido e prontamente será dado todo o suporte clínico necessário. Os profissionais médicos assistentes dos pacientes estarão envolvidos em todo o processo de assistência médica, como assim é rotineiramente feito.

5.15.2. Medidas para Farmacovigilância

Apesar do uso do Extrato de Própolis (EP) ser considerados seguros e de não existirem relatos de efeitos adversos significativos, serão monitorizados sistematicamente marcadores de lesão hepática, bem como avaliação clínica para eventuais sintomas (tontura, náusea) ou sintomas alérgicos (prurido, lesões em pele) que sejam associados ao uso de Própolis. Através de análise clínica pormenorizada serão identificados os sintomas que tenham claramente relação com o uso da medicação. Na hipótese de alguma reação considerada clinicamente importante a própolis será imediatamente suspensa, e será garantido o atendimento médico por médicos envolvidos no atendimento do paciente. No caso de reações adversas, uma ficha de notificação será preenchida e encaminhada à ANVISA e ao Setor de Farmacovigilância da Secretaria Estadual de Saúde.

5.15.3. Medidas de monitorização na coleta de dados

Os dados serão avaliados semanalmente pelos pesquisadores e registrados em planilhas de acompanhamento.

5.15.4. Previsão de ressarcimento de gastos aos sujeitos da pesquisa

Não há despesas pessoais para os participantes da pesquisa em qualquer momento do estudo. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação.

5.15.5. Propriedade da Informação e divulgação da pesquisa

Os dados deste estudo serão considerados como propriedade conjunta das partes envolvidas. Os pesquisadores ficam, no entanto, responsáveis por se comprometerem a tornar público os resultados obtidos, salvaguardando a identidade dos envolvidos. Os pesquisadores responsáveis divulgarão os resultados da pesquisa em revistas, eventos, artigos e periódicos científicos que possuam interesse comum na área estudada.

5.15.6. Critérios para suspender ou encerrar a pesquisa

Caso seja descoberta qualquer possibilidade de dano iminente ou ocorrido, o comitê de ética, ao qual está pesquisa está vinculado, será imediatamente avisado e se necessário, a pesquisa será suspensa.

5.16. Infraestrutura

A infraestrutura do Hospital Santa Casa de Misericórdia de Ouro Preto oferece unidades de terapia intensiva, semi-intensiva e enfermarias, com garantia de um bom atendimento e acompanhamento clínico dos pacientes. O Hospital segue protocolos institucionais para diagnóstico e manejo da sepse, além de apresentar um departamento científico para acompanhamento dos estudos desenvolvidos.

5.17. Instituição Colaboradora para Confecção e Distribuição de Própolis

Nectar Farmaceutica Ltda. (Pharmanectar), CNPJ: 42.917.146/0001-46, situada na Rua Pernambuco, nº 1066 - Funcionários, Belo Horizonte - MG, 30130-151 (ANEXO 2).

6. AVALIAÇÃO DOS RISCOS E BENEFÍCIOS

6.1. Riscos da pesquisa

Os principais riscos estão relacionados em casos de pacientes que porventura possam ser alérgicos. A própolis já é utilizada como alimento, suplemento alimentar e outros fins terapêuticos há décadas e tem se mostrado segura, independente de faixa etária, sexo e presença de comorbidades como câncer e Diabetes. Resultados obtidos pelo nosso grupo de pesquisa liderado pela coordenadora deste projeto, utilizando Própolis demonstraram através de vários modelos experimentais, que a própolis não apresenta potencial ou dano citotóxico de testes e ensaios *in vitro* e *in vivo* (Freitas et al., 2018). Estudos agudos e crônicos já foram realizados com a própolis em animais

como camundongos, ratos Wistar e coelhos, tendo demonstrado segurança. Até a dosagem de 3000 mg/kg não houve mortalidade dos animais (BURDOCK, 1998).

Além dos resultados de segurança já demonstrados, foi também realizado um importante protocolo clínico para avaliação da potencial interação da própolis com outros medicamentos metabolizados pelas principais enzimas hepáticas CYPs e também pela enzima de transporte PgP (proteína transportadora transmembrana para vários fármacos, sendo responsável pelo transporte de várias moléculas, incluindo fármacos, através da membrana celular), e os resultados mostraram que a própolis é segura e não interage significativamente conforme protocolo da OMS, e desse modo, o risco de interação da própolis é praticamente mínimo ou inexistente (CUSINATO et al. 2019).

Os equipamentos e materiais que serão usados em todos os procedimentos serão estéreis e, ou descartáveis. Não haverá nenhum tipo de intervenção que possa causar danos à saúde, visto que todos os procedimentos adotados são inócuos e têm respaldo na literatura científica. Durante a coleta de sangue pode ocorrer pequeno desconforto ou pequeno hematoma que, caso ocorra o voluntário será orientado a tratar com banho de gelo. Porém, todos os esforços serão realizados para evitar este problema adotando uma equipe treinada para esta função.

6.2. Benefícios da pesquisa

Se nossa hipótese se confirmar, o principal benefício deste trabalho é a possibilidade de um novo suplemento para pacientes em sepse, então o grupo controle também receberá a suplementação da mesma forma que o grupo experimental com objetivo de redução do impacto da doença.

Além disso, o voluntário também poderá conhecer e receber orientações quanto ao estado nutricional e composição corporal, adequação do consumo alimentar e condições gerais de saúde durante a internação. E, se assim desejar, receber aconselhamento/orientações nutricionais por um graduando após a alta hospitalar sob orientação de nutricionistas. A avaliação médica será diariamente durante o tempo da internação pelo Dr. Jacques Gabriel Álvares Horta, o qual é o pesquisador principal do projeto e médico da UFOP.

6.3. Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O grupo placebo irá receber tratamento convencional na Unidade de Tratamento Intensivo e o grupo intervenção vai receber a própolis, assim que se verificar o benefício, ou seja, se nossa hipótese se confirmar, o principal benefício deste trabalho é a possibilidade de um novo suplemento, então o grupo controle também receberá a

suplementação da mesma forma que o grupo experimental com objetivo de redução do impacto da sepse.

O procedimento de designação dos participantes nos grupos controle ou placebo e critérios para suspender ou encerrar a pesquisa são descritos a seguir:

7. ETAPAS DA PESQUISA E CRONOGRAMA

7.1. Etapas da Pesquisa

Etapa I – Revisão da Literatura durante todo o tempo de execução da pesquisa (2021 a 2025)

Etapa II – Elaboração do Projeto de pesquisa (Março a Abril de 2021)

Etapa III – Submissão do Projeto de Pesquisa ao Comitê de Ética em Pesquisa (Abril de 2021)

Etapa IV – Seleção de pacientes e avaliação laboratorial basal. (após aprovação do CEP em 2021)

Etapa V – Suplementação (após aprovação do CEP em 2021)

Etapa VI – Análises bioquímica (diariamente)

Etapa VII - Análise estatística

Etapa VIII – Análise e interpretação dos dados (diariamente e após execução dos exames)

Etapa IX– Conclusões

Etapa X – Divulgação dos resultados

Etapa XI - Defesa da tese de doutorado

7.2. Cronograma

PERÍODOS /	2021			2022				2023				2024				2025	
	Trimestre			Trimestre				Trimestre				Trimestre				Trimestre	
ATIVIDADES	2°	3°	4°	1°	2°	3°	4°	1°	2°	3°	4°	1°	2°	3°	4°	1°	2°
Revisão da Literatura	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		
Elaboração do Projeto	x																
Submissão do Projeto de Pesquisa ao CEP		x															
Seleção de pacientes e avaliação laboratorial basal			x	x	x	x	x	x	x								
Suplementação			x	x	x	x	x	x	x								
Análises bioquímicas				x	x	x	x	x	x								
Análise estatística									x	x	x	x					
Análise e interpretação dos dados												x	x	x			
Conclusões														x	x		
Divulgação dos resultados																x	
Defesa da tese																	x

Legenda: X (Programado); O (Concluído)

8. ORÇAMENTO

O projeto, exames hematológicos, bioquímicos, reagentes para análises, kits comerciais, matéria prima, entre outros gastos serão custeados pelo hospital participante.

COTAÇÃO DE PREÇOS

INTERLEUCINA 1 BETA	R\$ 635,64
INTERLEUCINA 6	R\$ 241,80
INTERLEUCINA 10 (IL-10)	R\$ 165,22
PROCALCITONINA	R\$ 54,80
<i>TOTAL / PACIENTE</i>	<i>R\$ 1094,46</i>
<i>TOTAL (R\$) PARA UM N DE 120 PACIENTES</i>	<i>R\$ 131.335,20</i>

ANEXO 1

Você ou seu familiar (o paciente) está sendo convidado (a) a participar de um estudo clínico, chamado **EFEITO DA PRÓPOLIS VERDE BRASILEIRA SOBRE A RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA E ANTIOXIDANTE EM PACIENTES COM SEPSE NA UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA**. Este estudo foi idealizado pela Universidade Federal de Ouro Preto e pela Santa Casa de Misericórdia de Ouro Preto e é coordenado pelos pesquisadores e médicos Dr. Israel Maia, Dr. Jacques Gabriel Álvares Horta e Professora Dra. Sônia Maria de Figueiredo com o objetivo de avaliar o efeito da Própolis Verde Brasileira no seu sangue na melhora da inflamação na Unidade de Tratamento Intensivo - UTI, para isso vamos fazer exames para correlacionar com mortalidade sua melhora e o tempo de internação na UTI/Hospitalar e tempo de uso dos remédios que já são utilizados durante a internação.

Por favor, reserve um tempo para ler o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e discuta quaisquer dúvidas que você possa ter com a equipe do estudo e com seus familiares, amigos e/ou médico particular. Caso você não esteja apto (a) a decidir, um representante legal autorizado por você assumirá essa responsabilidade. Se aceitar a participação, você receberá uma via deste documento, rubricada em todas as páginas e assinada ao final por você (paciente ou representante legal) e pelo pesquisador.

O que é infecção a infecção generalizada ou Sepsis?

É uma infecção respiratória generalizada, que ocorre no corpo todo, conhecida como septicemia, causada pelo espalhamento de muitos microorganismos no seu corpo. O quadro clínico do paciente pode variar de leve a grave. Alguns casos podem ser mais graves e nessas situações, pode ocorrer síndrome respiratória aguda grave, que é uma grande falta de ar, e outras complicações, por isso a necessidade de internação nesta UTI.

Não há, até o momento, tratamento específico, depende de cada pessoa e os medicamentos serão avaliados caso a caso, especificamente a fim de avaliar o microorganismo que tenha provado a infecção generalizada e assim promover a efetiva forma de tratar a doença. O uso de medicamentos com ação direta contra os microorganismos pode reduzir a carga dos micróbios no organismo e, consequentemente, diminuir o estímulo da resposta imune do paciente, sendo essencial para melhores resultados clínicos dos pacientes.

Do que se trata este estudo?

O estudo tem como objetivo suplementar a própolis verde como auxiliar no tratamento das infecções, a fim de encontrar reduzir a gravidade da infecção, isto é, ter um efeito melhor, na redução da carga de micróbios dentro do corpo. Esse suplemento de própolis será oferecido separadamente no início e durante dez dias de sua internação, sempre em associação com os tratamentos convencionais.

O suplemento de própolis verde a ser utilizados neste estudo já possui registro no Brasil e em outros países, sendo seguros e efetivos para as indicações já aprovadas. Utilizaremos no estudo o Cytoproprópolis padronizado. A empresa já possui registros sobre este suplemento alimentar.

Pretendemos incluir um total de 120 participantes no estudo. A sua participação no estudo será de até 10 dias.

Quais as intervenções e procedimentos deste estudo?

Todos os pacientes incluídos no estudo serão acompanhados e receberão cuidados em relação a: 1. Avaliação clínica diária do médico assistente, verificando se está bem e como está reagindo; 2. Exames laboratoriais de rotina que será solicitado pelo médico que está cuidando de você; 3. Exercícios respiratórios com um fisioterapeuta para melhorar sua respiração e seu bem-estar; 4. Verificação da sua frequência cardíaca (verificar quantas vezes seu coração bate por minuto), da saturação de oxigênio (quantidade de oxigênio que entra em seu corpo que é verificada pelo equipamento que está no seu dedo indicador), da frequência respiratória (quantas vezes você respira por minuto), ouvir seu coração e medir sua temperatura; 5. Caso você não se sinta bem respirando sozinho(a), os médicos poderão lhe oferecer auxílio através de uma cânula com oxigênio ou intubação, se você ficar muito doente; 6. Para evitar que você fique com machucados nos seus calcanhares e quadril e evitar que tenha sangue parado em suas veias pela falta de se movimentar (tromboembolismo venoso), será dado um tratamento preventivo conforme já é feito por esta instituição; 7. Podem transferir você para quartos com mais monitoramento, caso o médico ache necessário; 8. Podem lhe dar mais medicamentos como antibióticos, corticosteroides (um anti-inflamatório que atua também como antialérgico), outros medicamentos, sempre conforme indicação do médico assistente.

Serão coletadas amostras de sangue uma vez por dia num período de 10 dias. Ao final dos dez dias será feita uma análise de como seu corpo reagiu com a adição do suplemento de própolis verde. Como foi o efeito, a partir desta escolha, seguiremos para

avaliando seus exames e avaliando o efeito. A sua participação será muito importante nesta etapa e ao final dos 10 dias.

Para onde irá minha amostra coletada?

Os exames de sangue coletado ficarão armazenados no biorrepositório do estudo nesta instituição para posterior envio para análise no laboratório. O tempo de armazenagem de sua amostra neste biorrepositório poderá ser de até 7 dias (-20°C), tempo estimado para envio das amostras para a análise. Sua amostra poderá ficar armazenada no biorrepositório do estudo na UFOP, por um período de cinco anos para que seja analisada e posteriormente será descartada. Caso retire seu consentimento após as coletas de exames, informe a equipe do estudo para que as amostras coletadas não sejam utilizadas ou transferidas para análise.

Quais são as alternativas à participação neste estudo?

Você não precisa participar deste estudo para receber o tratamento padronizado no hospital para sepse. O tratamento disponível nesta instituição será fornecido independente da sua participação neste estudo.

Quais são os possíveis riscos em participar deste estudo?

Efeitos colaterais

Não existem muitos relatos sobre efeitos colaterais da suplementação de própolis verde, mas alguns pacientes costumam relatar gases quando o uso é prolongado. Além disso, é importante você relatar se tem alergia a picada de abelha, pois a própolis é derivada de abelha, então você pode apresentar alergia a ela, isso é muito importante você nos informar se houver coceira, erupções cutâneas.

Apesar desses efeitos colaterais possíveis, a suplementação de própolis verde já é utilizada com aprovação prévia de órgão reguladora em vários países. Além disso, todos esses efeitos colaterais são relatados em pacientes com uso prolongado e o participante deste estudo apenas fará uso por 10 dias, o que reduz a chance do aparecimento de tais efeitos.

Neste estudo avaliaremos todos os sinais e sintomas que possam ocorrer com você durante seu tratamento, caso a equipe do estudo verifique que os efeitos podem estar fazendo você se sentir pior, eles tomarão as providências necessárias para garantir seu

bem-estar; inclusive interromper o tratamento. Todas as precauções serão tomadas sempre visando seu bem-estar, garantindo sua segurança e preservando sua saúde.

Caso a equipe do estudo tenha conhecimento de alguma reação ou nova informação sobre a suplementação de própolis verde, você será informado (a). Se esta nova informação for considerada prejudicial à sua saúde, a suplementação de própolis verde será interrompida imediatamente e você será acompanhado (a) para garantir que tenha a assistência necessária até a suplementação de própolis verde sair completamente de seu organismo.

Interações medicamentosas

Ainda não existem estudos sobre a interação de medicamentos com suplementação de própolis verde usados neste estudo, reduzindo ou aumentando seu efeito ou provocando efeitos indesejados no seu corpo. Desta forma, informamos que verificaremos a possibilidade de possíveis interações e avaliaremos se será necessário descontinuar a intervenção do estudo, caso esteja sendo um risco a você. Qualquer alteração de medicamento concomitante será avaliada pelo risco e benefício que lhe dará e você será comunicado (a) sobre qualquer mudança.

Exames realizados

Os exames realizados neste estudo serão feitos durante seu período de internação, serão realizados exames laboratoriais de sangue e coletas de secreção do nariz com swab. Os exames de sangue podem causar dor e hematoma no local da punção, porém são sensações momentâneas. O exame de coleta de secreção pode ser um pouco desconfortável e você pode sentir ardor no nariz, coceira e seus olhos podem lacrimejar. No entanto, a coleta é rápida e a equipe que fará essa coleta é treinada e garantirá que você sinta o mínimo de desconforto possível durante o procedimento.

Confidencialidade

A equipe do estudo terá todo o cuidado para garantir que suas informações fiquem seguras e sigilosas e que nenhum dano seja causado e que todo e qualquer risco seja minimizado. Todos os profissionais que atuam neste estudo são treinados para garantir que todas as ações sejam tomadas para prevenir qualquer problema antes que possa acontecer e gerar uma quebra de sua confidencialidade.

Riscos referentes à gestação e amamentação

Durante a participação neste estudo não é indicado que ocorra gestação, independentemente do tipo de fecundação (vias normais, fertilização in vitro, doação de sêmen), pois no desenvolvimento do feto, conforme visto em estudo em animais não é recomendado participação em estudos. Será necessário que mulheres grávidas ou em amamentação sejam excluídas para segurança do feto. Portanto, mulheres que estiverem amamentando ou apresentarem resultado de exame de gravidez positivo não poderão participar do estudo. Durante a avaliação dos critérios para a participação no estudo será realizado um teste de beta-HCG para assegurar que você (no caso de participante mulher) não está grávida.

E quais os benefícios em participar?

Você poderá se beneficiar dos efeitos da suplementação de própolis verde, caso seja sorteado para os grupos que contenham a suplementação. Poderá melhorar rápido da infecção e pode receber alta da UTI mais rápido, mas isso é desconhecido e é o que pretendemos verificar neste estudo. No entanto, sua participação no estudo, independentemente de ter um benefício direto ou não da suplementação de própolis verde, ajudará a obter informações que poderão beneficiar outros pacientes infectados que estão com septicemia em UTI a ter uma melhor evolução, caso a suplementação de própolis verde se demonstre efetiva.

Os participantes serão ressarcidos por danos relacionados ao estudo?

Será garantida assistência imediata e integral pelo tempo que for necessário aos participantes no que se refere às complicações e danos decorrentes da participação na pesquisa durante o período de vigência deste estudo. Serão mantidos todos os direitos dos participantes do estudo, inclusive o de indenização diante de eventuais danos decorrentes da participação na pesquisa até sua conclusão. Se o paciente tiver algum dano ou complicações como resultado deste estudo, ele/seu familiar deverá contatar a equipe do estudo o mais breve possível.

Ao aceitar participar, teremos despesas?

Você, sua família, o SUS ou seu convênio médico não serão onerados com a participação no estudo. Os exames realizados e os medicamentos utilizados serão custeados pelo patrocinador deste estudo, sem custo algum para você. Não haverá nenhum ganho ou prejuízo financeiro por participar deste estudo, e a participação no estudo não envolve nenhum custo para você ou sua família e a sua participação se darão

durante a sua internação neste hospital. Caso você tenha alta antes do final do período de 10 dias, você continuará o tratamento em casa e será solicitado que você retorne à instituição para completar as coletas de secreção.

Quem terá acesso aos seus registros? As informações são confidenciais?

Este estudo só pode ser realizado através da coleta e uso das informações clínicas dos pacientes. Os registros de sua participação neste estudo serão mantidos sob sigilo e confidencialidade e serão acessados de forma restrita, apenas por pessoas ligadas ao estudo (pesquisadores, equipe e representantes do patrocinador do estudo), que irão transferir as informações clínicas para formulários específicos (que não possuem informações que possam identificá-los) e verificar se o estudo está sendo realizado apropriadamente. A equipe do Hospital terá acesso ao seu nome, telefone e data de alta hospitalar para a realização do acompanhamento telefônico previsto neste estudo. Apenas um número, iniciais e/ou data de nascimento serão utilizados para a sua identificação. A confidencialidade e privacidade de todas as suas informações serão asseguradas. O seu nome ou de seus familiares não será identificado em nenhum relatório ou publicação do estudo.

Caso esteja de acordo, o médico particular será informado da participação no estudo. Isso pode incluir o contato com outros hospitais ou clínicas e / ou contatar os médicos da comunidade para coletar informações de saúde relacionadas a este estudo.

Os resultados desta pesquisa serão divulgados para fins acadêmicos e científicos. Em respeito à Constituição Federal Brasileira (art. 5º, inciso X), às normas do Conselho Federal de Medicina e diretrizes éticas nacionais e internacionais vigentes, sua intimidade, vida privada, honra e imagem será preservada de forma que nenhuma informação que possa revelar a identidade do paciente participante e de seus familiares será fornecida nestas publicações.

Posso não concordar mais com a minha participação, ou de meu familiar, mesmo o estudo já estando em andamento?

Você tem pleno direito de recusar a participação. Se optar por retirar seu consentimento do estudo após ter aceitado, tem o direito de fazer isso a qualquer momento. Independentemente de sua decisão, a relação com o médico ou o tratamento nesta instituição não serão afetados. Caso decida retirar o consentimento, você deverá avisar o médico ou a equipe do estudo. Eles garantirão que os procedimentos

apropriados sejam seguidos para efetuar esta retirada e o acompanhamento médico de rotina não será interrompido ou modificado.

O médico do estudo poderá interromper o tratamento do estudo se:

- a) A permanência no estudo for prejudicial à saúde;
- b) O paciente precisar de outro tratamento que não é permitido neste estudo;
- c) O patrocinador decidir interromper/cancelar o estudo, mas isto somente acontecerá após a avaliação e aprovação dos motivos dessa interrupção/cancelamento pelo Comitê de Ética em Pesquisa que o aprovou.

Neste último caso, esta interrupção/cancelamento será feita caso o estudo apresente um risco muito grande à segurança do paciente. De qualquer forma, a assistência integral que for necessária para garantir sua recuperação será dada pelo tempo necessário até a total recuperação neste hospital e será garantida pelo estudo, não sendo cobrada do paciente ou de sua família.

Informamos que no momento em que escolher se retirar do estudo qualquer amostra biológica que ainda esteja em posse da equipe do estudo será destruída e qualquer análise pendente, que seja pertinente ao estudo, não será realizada.

Informações sobre o Comitê de Ética em Pesquisa e a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

Os Comitês de Ética em Pesquisa (CEP) são colegiados interdisciplinares e independentes, de relevância pública, de caráter consultivo, deliberativo e educativo, criados para defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. É um grupo que realiza a revisão ética inicial e contínua do estudo, para manter sua segurança e proteger seus direitos.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Ouro Preto. Se tiver qualquer dúvida em relação aos aspectos éticos do estudo, fique à vontade para entrar em contato no e-mail: cep.propp@ufop.edu.br ou pelo telefone: (31) 3559-1368, horário de funcionamento: de Segunda a Sexta das 08h às 17h.

Contato no caso de dúvidas

A equipe do estudo está à disposição para prestar quaisquer esclarecimentos antes, durante e após o estudo:

Contato: Hospital Santa Casa de Misericórdia de Ouro Preto

Investigador: Dr. Jacques Gabriel Álvares Horta.

Contato: gabriel2alvares@yahoo.com.br

Telefone: (31) 99646-1836

Investigador: Deborah Campos Oliveira

Contato: dcobiomed@gmail.com

Telefone: (31) 3551-1116 / Ramal: 1116

Contato do Centro Participante: Médico Pneumologista e Pesquisador

Investigador: Dr. Israel Silva Maia

Contato: ismaia@hcor.com.br

Telefone: (11) 3053-6611 Ramal 8201

Contato: Universidade Federal de Ouro Preto

Investigador: Sônia Maria de Figueiredo

Telefone: (31) 98896-4089

Contato: smfigue@ufop.edu.br

Declaração de Consentimento do Participante

Recebi informações escritas e verbais sobre este estudo. Entendo o suficiente sobre os objetivos, métodos, benefícios e riscos deste estudo e aceito participar, autorizando o acesso aos meus registros médicos ou os de meu familiar para coleta de informações e para o tratamento destes dados. Sei que a participação é voluntária e é possível retirar o consentimento sem perder meus direitos ou os direitos de meu familiar ao tratamento.

Nome por extenso do participante de pesquisa

Assinatura do Participante

Data

Nome por extenso do Representante Legal/ Familiar

Relação com o Paciente

Assinatura

Data*

Declaro que as informações passadas ao participante foram suficientemente claras e que ele(a) pode fazer perguntas para tirar suas dúvidas. Informo que o participante entendeu o estudo e deu seu consentimento de forma livre e esclarecida

Nome por extenso da testemunha imparcial

Assinatura

Data*

Eu declaro que o(a) participante recebeu informações verbais e escritas sobre o estudo e teve oportunidade de fazer perguntas. De meu ponto de visto, foi dada informação suficiente para permitir que uma decisão independente fosse tomada sobre a participação no estudo.

☐ Investigador(a)
☐ Subinvestigador(a)
☐ Coordenador(a)
☐ _____

Nome por extenso da pessoa que obteve o consentimento

Assinatura

Função no estudo

Data*: ____/____/____

*A ser datado pela pessoa que assinou.** Uma testemunha é necessária se o participante da pesquisa não puder ler (por exemplo, se for cego ou analfabeto). A testemunha deverá participar de toda a discussão do consentimento do participante da pesquisa. Ao assinar este termo, a testemunha garante que as informações contidas no termo foram explicadas ao participante da pesquisa, que ele entendeu o que foi explicado a ele e que ele decidiu participar do estudo por vontade própria.

ANEXO 2

			
REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL CADASTRO NACIONAL DA PESSOA JURÍDICA			
NÚMERO DE INSCRIÇÃO 42.917.146/0001-46 MATRIZ		COMPROVANTE DE INSCRIÇÃO E DE SITUAÇÃO CADASTRAL	
DATA DE ABERTURA 08/09/1992			
NOME EMPRESARIAL NECTAR FARMACEUTICA LTDA			
TÍTULO DO ESTABELECIMENTO (NOME DE FANTASIA) PHARMANECTAR			PORTE EPP
CÓDIGO E DESCRIÇÃO DA ATIVIDADE ECONÔMICA PRINCIPAL 46.23-1-99 - Comércio atacadista de matérias-primas agrícolas não especificadas anteriormente			
CÓDIGO E DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES ECONÔMICAS SECUNDÁRIAS 10.99-6-99 - Fabricação de outros produtos alimentícios não especificados anteriormente 01.59-8-01 - Apicultura 47.71-7-02 - Comércio varejista de produtos farmacêuticos, com manipulação de fórmulas 47.29-6-99 - Comércio varejista de produtos alimentícios em geral ou especializado em produtos alimentícios não especificados anteriormente 47.72-5-00 - Comércio varejista de cosméticos, produtos de perfumaria e de higiene pessoal 47.73-3-00 - Comércio varejista de artigos médicos e ortopédicos 46.45-1-01 - Comércio atacadista de instrumentos e materiais para uso médico, cirúrgico, hospitalar e de laboratórios 47.83-1-01 - Comércio varejista de artigos de joalheria 74.90-1-99 - Outras atividades profissionais, científicas e técnicas não especificadas anteriormente			
CÓDIGO E DESCRIÇÃO DA NATUREZA JURÍDICA 206-2 - Sociedade Empresária Limitada			
LOGRADOURO R PERNAMBUCO		NÚMERO 1070	COMPLEMENTO *****
CEP 30.130-151	BAIRRO/DISTRITO FUNCIONARIOS	MUNICÍPIO BELO HORIZONTE	UF MG
ENDEREÇO ELETRÔNICO		TELEFONE	
ENTE FEDERATIVO RESPONSÁVEL (EFR) *****			
SITUAÇÃO CADASTRAL ATIVA		DATA DA SITUAÇÃO CADASTRAL 28/08/2004	
MOTIVO DE SITUAÇÃO CADASTRAL			
SITUAÇÃO ESPECIAL *****		DATA DA SITUAÇÃO ESPECIAL *****	

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMOROS M., SAUVAGER F., GIRRE L. In vitro antiviral activity of própolis. *Apidologie*. 1992; 23 (3) 231:-240

ALHAZZANI, W. et al. Surviving Sepsis Campaign: guidelines on the management of critically ill adults with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Intensive Care Medicine*, v. 46, n. 5, p. 854–887, maio 2020.

ALENCAR, S.M; OLDONI, T.L.C; CASTRO, M.L; CABRAL, I.S.R; COSTA, NETO, C.M; CURY, J.A; ROSALEN, P.L; IKEGAKI, M. Chemical Composition and Botanical Origin of Red Propolis, a New Type of Brazilian Propolis. *Journal of Ethnopharmacology* 2007.

ANDRIJEVIC, I. et al. Interleukin-6 and procalcitonin as biomarkers in mortality prediction of hospitalized patients with community acquired pneumonia. *Annals of Thoracic Medicine*, v. 9, n. 3, p. 162, 7 jan. 2014.

BERLIN, D. A.; GULICK, R. M.; MARTINEZ, F. J. Severe Covid-19. *New England Journal of Medicine*, v. 383, n. 25, p. 2451–2460, 17 dez. 2020.

BRANDÃO, S. C. S. et al. Severe COVID-19: understanding the role of immunity, endothelium, and coagulation in clinical practice. *Jornal Vascular Brasileiro*, v. 19, 2020.

BURDOCK GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food Chem. Toxicol.* 1998;36:347-63.

BECKER, K. L. et al. Clinical review 167: Procalcitonin and the calcitonin gene family of peptides in inflammation, infection, and sepsis: a journey from calcitonin back to its precursors. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 89, n. 4, p. 1512–1525, abr. 2004.

BECKER, K. L.; SNIDER, R.; NYLEN, E. S. Procalcitonin assay in systemic inflammation, infection, and sepsis: clinical utility and limitations. *Critical Care Medicine*, v. 36, n. 3, p. 941–952, mar. 2008.

BERGER, M.; DIVILOV, V.; TERESSA, G. Lactic Acid Is an Independent Predictor of Mortality and Improves the Predictive Value of Existing Risk Scores in Patients Presenting With Acute Gastrointestinal Bleeding. *Gastroenterology Research*, v. 12, n. 1, p. 1–7, fev. 2019.

BERRETA, A.A; NASCIMENTO, A.P. et. al. Propolis Standardized Extract, an Innovative Chemically and Biologically Reproducible Pharmaceutical Compound for Treating Wounds. *International Journal of Biological Sciences* 2012; 8(4):512-521.

BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, v. 69, n. 3, p. 89–95, mar. 2001.

BOOLS. Multinational, observational study of procalcitonin in ICU patients with pneumonia requiring mechanical ventilation: a multicenter observational study | *Critical Care* | Full Text. Disponível em: <<https://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/cc10087>>. Acesso em: 9 mar. 2021.

Brazilian Red Propolis Attenuates Hypertension and Renal Damage in 5/6 Renal Ablation Model. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0116535>>. Acesso em: 9 mar. 2021.

BACHIEGA TF, ORSATTI CL, PAGLIARONE AC, SFORCIN JM. The effects of propolis and its isolated compounds on cytokine production by murine macrophages. *Phytother Res* 2012; 26:1308-1313.

BARTKIENE, E. et al. Variations of the antimicrobial, antioxidant, sensory attributes and biogenic amines content in Lithuania-derived bee products. LWT. 2020;118(2019):108793. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108793>.

CHEN, N. et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. The Lancet, v. 395, n. 10223, p. 507–513, 15 fev. 2020.

CHRIST-CRAIN, M.; MÜLLER, B. Procalcitonin in bacterial infections--hype, hope, more or less? Swiss Medical Weekly, v. 135, n. 31–32, p. 451–460, 6 ago. 2005.

CONTI, P. et al. Induction of pro-inflammatory cytokines (IL-1 and IL-6) and lung inflammation by Coronavirus-19 (COVI-19 or SARS-CoV-2): anti-inflammatory strategies. Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents, v. 34, n. 2, 14 2020.

CUSINATO, D.A.C; MARTINEZ, E.Z, CINTRA, M.T.C; FIGUEIRA, G.C.O; BERRETA, A.A; LACHOTE, V.L; COELHO,E.B. Evaluation of potential herbal-drug interactions of a standardized propolis extract (EPP-AF®) using an in vivo cocktail approach. Journal of Ethnopharmacology, 245, 112174. 2019

DE MELO, A.A.M.;MATSUDA, A.H.M.; FREITAS, A.S.; BARTH, O.M.; ALMEIDA-MURADIAN,L.B. Capacidade antioxidante da própolis. Pesq. Agropec. Trop. Goiania. 2014;44(3):341-348.

DE MENDONÇA, I.C.G.; PORTO, I.C.C.M.; DO NASCIMENTO, T.G.; DE SOUZA, N.S.; OLIVEIRA, J.M.S.; ARRUDA, R.E.S.; BARRETO, F. S. BrazilianRdPropolis: phytochemicalscreening,antioxidantactivityandeffectagainstcancer cells.BMC Complementaryand Alternative Me- dicine. 2015;15:357.

Delivering evidence-based critical care for mechanically ventilated patients with COVID-19 - The Lancet Respiratory Medicine. Disponível em:

<[https://www.thelancet.com/journals/lanres/article/PIIS2213-2600\(20\)30266-6/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanres/article/PIIS2213-2600(20)30266-6/fulltext)>. Acesso em: 9 abr. 2021.

ELY, M.LC-MS analysis of Hep-2 and Hek-293 cell lines treated with Brazilian red propolis reveals differences in protein expression. *J Pharm Pharmacol*. 2016;68(8):1073–1084.

FAN, E. et al. COVID-19-associated acute respiratory distress syndrome: is a different approach to management warranted? *The Lancet Respiratory Medicine*, v. 8, n. 8, p. 816–821, ago. 2020.

FERNANDES MHV, FERREIRA LN, VARGAS GD, et.al. Effect of water extract from brown propolis on production of IFN- γ after immunization against canine parvovirus (CPV) and canine coronavirus (CCoV). *Cienc. Anim. Bras*. V16, n.2, p. 235-242 abr/jun. 2015.

FIGUEIREDO, SÔNIA M. de et al. Green Propolis: Thirteen Constituents of Polar Extract and Total Flavonoids Evaluated During Six Years through RP-HPLC. *Current Drug Discovery Technologies*. 2015;12(4):1-11.

FIGUEIREDO, SÔNIA M. de et al. Immunomodulatory Properties of Green Propolis. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov*. 2014;8(2):1-10.

GARCIA-VIDAL, C. et al. Incidence of co-infections and superinfections in hospitalized patients with COVID-19: a retrospective cohort study. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, v. 27, n. 1, p. 83–88, jan. 2021.

FREITAS, MCD, FIGUEIREDO, SM. Atividade antifúngica da própolis verde e vermelha contra leveduras de interesse médico. 2018. Dissertação (Mestrado em SAÚDE E NUTRIÇÃO) - Universidade Federal de Ouro Preto.

GIAMARELLOS-BOURBOULIS, E. J. et al. Procalcitonin: a marker to clearly differentiate systemic inflammatory response syndrome and sepsis in the critically ill patient? *Intensive Care Medicine*, v. 28, n. 9, p. 1351–1356, set. 2002.

GALEOTTI, F. et al. Chemical composition and antioxidant activity of propolis prepared in different forms and in different solvents useful for finished products. *Foods*. 2018;7(3):pii:E41. Doi: 10.3390/foods7030041.

HENRY, B. M. et al. Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 10 abr. 2020.

HOCHHEIM, S. et al. Determination of phenolic profile by HPLC–ESI-MS/MS, antioxidant activity, in vitro cytotoxicity and anti-herpetic activity of propolis from the Brazilian native bee *Melipona quadrifasciata*. *Braz J Pharmac*. 2019;29(3):339-350.

KALIL, M. A. et al. Brazilian Green Propolis as a Therapeutic Agent for the Post-surgical Treatment of Caseous Lymphadenitis in Sheep. *Frontiers in Veterinary Science*. 2019;6(1):1–10.

KHAYYAL, M.T; ELGHAZALY, M.A; ELKHATIB, A.S. Mechanisms involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Drugs Under Experimental and Clinical Research*. 19:197-203, 1993.

KLIEGEL, A. et al. Serial lactate determinations for prediction of outcome after cardiac arrest. *Medicine*, v. 83, n. 5, p. 274–279, set. 2004.

KOPTERIDES, P. et al. Procalcitonin-guided algorithms of antibiotic therapy in the intensive care unit: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Critical Care Medicine*, v. 38, n. 11, p. 2229–2241, nov. 2010.

KOPTERIDES, P.; TSANGARIS, I. Procalcitonin and sepsis: recent data on diagnostic utility prognostic potential and therapeutic implications in critically ill patients. *Minerva Anestesiologica*, v. 78, n. 7, p. 823–835, jul. 2012.

KUMAZAWA, S; HAMASAKA, T; NAKAYAMA, T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry* 84:329-39, 2004.

LARDARO, T; WANG, AZ; BUCCA, A; CROFT, A; GLOBER, N; HOLT, DB; MUSEY, PI; PETERSON, KD; TRIGONIS, RA; SCHAFFER, JA; HUNTER BR. Characteristics of COVID-19 patients with bacterial coinfection admitted to the hospital from the emergency department in a large regional healthcare system. *Journal of Medical Virology*, v. 93, n. 5, p. 2883–2889, 12 fev. 2021. doi: 10.1002/jmv.26795

LAGU T, ROTHBERG MB, SHIEH MS, PEKOW PS, STEINGRUB JS, LINDENAUER PK. Hospitalizations, costs, and outcomes of severe sepsis in the United States 2003 to 2007. *Crit Care Med*. 2012 Mar;40(3):754-61. PubMed PMID: 21963582

LI, X. et al. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 5 mar. 2020.

LOPEZ, J. Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood and David E. Bruns (eds): *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnosis* (5th edition). *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, v. 28, n. 1, p. 104–105, jan. 2013.

MACHADO, J.L; ASSUNÇÃO, A.K. et al. Brazilian Green Propolis: Anti-Inflammatory Property by an Immunomodulatory Activity. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2012;2012:157652.

MCGONAGLE, D. et al. The Role of Cytokines including Interleukin-6 in COVID-19 induced Pneumonia and Macrophage Activation Syndrome-Like Disease. *Autoimmunity Reviews*, v. 19, n. 6, p. 102537, jun. 2020.

MEHTA, P. et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet* (London, England), v. 395, n. 10229, p. 1033–1034, 28 mar. 2020.

MEREGALLI, A.; OLIVEIRA, R. P.; FRIEDMAN, G. Occult hypoperfusion is associated with increased mortality in hemodynamically stable, high-risk, surgical patients. *Critical Care* (London, England), v. 8, n. 2, p. R60-65, abr. 2004.

MIZOCK, B. A. Significance of hyperlactatemia without acidosis during hypermetabolic stress. *Critical Care Medicine*, v. 25, n. 11, p. 1780–1781, nov. 1997.

MÜLLER, B. et al. Ubiquitous expression of the calcitonin-i gene in multiple tissues in response to sepsis. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 86, n. 1, p. 396–404, jan. 2001.

NAGAI, T. et al. Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. *Food Chemistry*, v. 80, p. 29–33, 31 jan. 2003.

NEIVA, K. G. et al. Propolis decreases lipopolysaccharide-induced inflammatory mediators in pulp cells and osteoclasts. *Dental Traumatology: Official Publication of International Association for Dental Traumatology*, v. 30, n. 5, p. 362–367, out. 2014.

NOBRE, V. et al. Use of procalcitonin to shorten antibiotic treatment duration in septic patients: a randomized trial. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, v. 177, n. 5, p. 498–505, 1 mar. 2008.

OKSUZ, L. et al. Procalcitonin and C-reactive protein in differentiating to contamination from bacteremia. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 45, n. 4, p. 1415–1421, dez. 2014.

P, S.; B, M. To escalate or to de-escalate--that is the question. *Critical Care Medicine*, v. 39, n. 11, p. 2590; author reply 2591-2590; author reply 2591, 1 nov. 2011.

PAIVA, M. B. S. et al. The behavior and diagnostic utility of procalcitonin and five other inflammatory molecules in critically ill patients with respiratory distress and

suspected 2009 influenza a H1N1 infection. Clinics (Sao Paulo, Brazil), v. 67, n. 4, p. 327–334, 2012.

PARK, Y. K. et al. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. Current Microbiology, v. 36, n. 1, p. 24–28, jan. 1998.

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 50, n. 9, p. 2502–2506, 24 abr. 2002.

PARK, Y. K. (UNIVERSITY OF C. (BRAZIL)) et al. Evaluation of Brazilian propolis by both physicochemical methods and biological activity. Honeybee Science - Tamagawa University (Japan), 2000.

PARK Y.K; ALENCAR SM, SCAMPARINI ARP, AGUIAR CL. Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: Evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. Ciência Rural. 2002;997-1003.

RAWSON, T. M. et al. Bacterial and fungal co-infection in individuals with coronavirus: A rapid review to support COVID-19 antimicrobial prescribing. Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America, 2 maio 2020.

REINHART, K.; MEISNER, M. Biomarkers in the Critically Ill Patient: Procalcitonin. Critical care clinics, v. 27, p. 253–63, 1 abr. 2011.

REINHART, K.; MEISNER, M.; BRUNKHORST, F. M. Markers for sepsis diagnosis: what is useful? Critical Care Clinics, v. 22, n. 3, p. 503–519, ix– x, jul. 2006.

REIS, C.M.F; CARVALHO, J.C.T; CAPUTO, L.R.G; PATRICIO, K.C.M; BARBOSA, M.V.J; CHIEFF. A.L; BASTOS, J.K. Atividade antiinflamatória, antiúlcera gástrica e toxicidade subcrônica do extrato etanólico de própolis., Rev Bras Farmacogn 9-10 (1), 43-52, 2000.

RODRÍGUEZ-BAÑO, J. et al. Antimicrobial resistance research in a post-pandemic world: Insights on antimicrobial resistance research in the COVID-19 pandemic. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, v. 25, p. 5–7, 1 jun. 2021.

SEYMOUR, C. W. et al. Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*, v. 315, n. 8, p. 762, 23 fev. 2016.

SILVEIRA, M. A. D. et al. Efficacy of Brazilian green propolis (EPP-AF®) as an adjunct treatment for hospitalized COVID-19 patients: A randomized, controlled clinical trial. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 138, p. 111526, 1 jun. 2021.

SINGER, M. et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*, v. 315, n. 8, p. 801–810, 23 fev. 2016.

SINHA, P.; MATTHAY, M. A.; CALFEE, C. S. Is a “Cytokine Storm” Relevant to COVID-19? *JAMA internal medicine*, v. 180, n. 9, p. 1152–1154, 1 set. 2020.

SILVEIRA, M. A. D. et al. Effects of Brazilian green propolis on proteinuria and renal function in patients with chronic kidney disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *BMC nephrology*, v. 20, n. 1, p. 140, 25 abr. 2019.

SEYMOUR CW, LIU VX, IWASHYNA TJ, BRUNKHORST FM, REA TD, SCHERAG A, et al. Assessment of clinical criteria for sepsis: for the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA*. 2016;315(8):762-74.doi:10.1001/jama.2016.0288.

SILVA, A.C.C.; RICARTE,F.S.; MACHADO, A.V.; COSTA,R.O.Sensibilidade de Agentes Bacterianos Patogênicos Frente à Ação Antibacteriana da Própolis. *Rev Brasileira Agrotecnologia*.2015;5(1):07-13.

SILVA FROZZA, C.O.; BRUM, E.S.; ALVING, A.; MOURA, S.; HENRIQUES,J.A.P.; ROESCHSIQUEIRA ABS, GOMES BS, CAMBUIM I, MAIA R, ABREU S, SOUZA-MOTTA CM, QUEIROZ LA, PORTO ALF. T Trichophyton

species susceptibility to green and red propolis from Brazil. *Lett Appl Microbiol.* 2009;48(1):90–96.

SILVEIRA MAD, TELES F, BERRETTA AA, et.al. Effects of Brazilian Green Propolis on Proteinuria and Renal Function in Patients with Chronic Kidney Disease. A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *BMC Nephrol.* 2019 Apr 25;20(1):140.

SHIMIZU T, HINO A, TSUTSUMI A, et. al. Anti-Influenza Virus activity of Propolis in Vitro and its efficacy against Influenza infection in Mice. *Antivir Chem Chemother.* 2008. 19: 7-13.

SOROY, L. et al. The effect of a unique propolis compound (Propoelix™) on clinical outcomes in patients with dengue hemorrhagic fever. *Infection and Drug Resistance*, v. 7, p. 323–329, 2014.

SOUSA, J. P. L. M. Estudo Químico e Potencial Antimicrobiano da Própolis Brasileira Produzida por Diferentes Espécies de Abelhas. *Rev Virtual Quím.* 2019;11(5):1480-1497.

SOUZA, A. S. R. et al. Aspectos gerais da pandemia de COVID-19. *Rev. Bras. Saude Mater. Infant.* 2021;21(1):29-45.

SUN, S. et al. Identification and determination of seven phenolic acids in Brazilian green propolis by UPLC-ESI-QTOF-MS and HPLC. *Molecules.* 2019;24(9):1–13.

SUISTOMAA, M. et al. Time-pattern of lactate and lactate to pyruvate ratio in the first 24 hours of intensive care emergency admissions. *Shock (Augusta, Ga.)*, v. 14, n. 1, p. 8–12, jul. 2000.

TANRIVERDI, H. et al. Prognostic value of serum procalcitonin and C-reactive protein levels in critically ill patients who developed ventilator-associated pneumonia. *Annals of Thoracic Medicine*, v. 10, n. 2, p. 137–142, 2015.

TELES, T; DA SILVA, T.M, DA CRUZ, F.P; HONORATO, V.H; DE OLIVEIRA, COSTA, H; BARBOSA, A.P.F; DE OLIVEIRA, S.G; PORFIRIO, Z; LIBÓRIO, A.B; BORGES, R.L; FANELI, C. Brazilian red propolis attenuates hypertension and renal damage in 5/6 renal ablation model. PLoS One 10: 1–15, 2015.

TOMAZINI, B. M. et al., Síndrome do desconforto respiratório agudo associada à COVID-19 tratada com DEXametasona (CoDEX): delineamento e justificativa de um estudo randomizado. Rev. bras. ter. intensiva. 2020;32(3):354-362.

T, L. et al. Characteristics of COVID-19 patients with bacterial coinfection admitted to the hospital from the emergency department in a large regional healthcare system. Journal of Medical Virology, v. 93, n. 5, p. 2883–2889, 12 fev. 2021.

TAY, M. Z. et al. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. Nature Reviews. Immunology, v. 20, n. 6, p. 363–374, jun. 2020.

TUFAN, A.; AVANOĞLU GÜLER, A.; MATUCCI-CERINIC, M. COVID-19, immune system response, hyperinflammation and repurposing antirheumatic drugs. Turkish Journal of Medical Sciences, v. 50, n. SI-1, p. 620–632, 21 abr. 2020.

VERDUGO-PAIVA, F. et al. Remdesivir for the treatment of COVID-19: A living systematic review. Infectious Diseases (except HIV/AIDS), 28 set. 2020. Disponível em: <<http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.09.27.20202754>>. Acesso em: 9 abr. 2021.

WACKER, C. et al. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis. The Lancet. Infectious Diseases, v. 13, n. 5, p. 426–435, maio 2013.

WANG, C. et al. A novel coronavirus outbreak of global health concern. Lancet (London, England), v. 395, n. 10223, p. 470–473, 15 2020a.