



*A vida exige o melhor.*

## Ação cicatricial de um novo produto em feridas abertas contaminadas e não contaminadas

Sabrina de Oliveira Capella,  
Fernanda Dagmar Martins Krug,  
Marcio Brito,  
Martha Bravo Cruz Pineiro,  
Laura Michelin,  
Mariana Teixeira Tillmann, Antonio  
Sergio Varela Junior,  
Márcia de Oliveira Nobre

### **Resumo**

Controvérsias sobre a ação de produtos cicatrizantes estimula o desenvolvimento de novas tecnologias. Objetivou-se analisar a ação do IBASA PDP Ciclo P19 na cicatrização de feridas abertas contaminadas e não contaminadas. O estudo foi desenvolvido em modelo experimental com feridas cutâneas tratadas diariamente com: IBASA PDP Ciclo P19 (GIBA) e com produto comercial (GCON +). Foram realizadas avaliações referentes ao processo cicatricial, sanguíneas, histopatológica

e tensiométrica aos quatro, sete, 14, 21 e 40 dias. Também contou-se as unidades formadoras de colônia (UFC) nas lesões contaminadas. O grupo IBA demonstrou maior presença de epitelização aos 14 dias, maior retração cicatricial a partir dos sete dias e avançou as fases da cicatrização em menor tempo. Nas lesões contaminadas, observou-se menor UFC nos primeiros dias. Conclui-se que o produto testado acelera o processo cicatricial e combate a contaminação local.

## 1. Introdução

As lesões de pele são rotineiras na clínica veterinária, podendo ser ocasionada por cirurgia, traumas, neoplasias entre outras, e estas necessitam de cautela no momento da escolha do tratamento<sup>1</sup>. A integridade do tecido cutâneo assume importante função protetora do organismo. Após um trauma, há a perda da integridade tecidual, desencadeando o processo cicatricial<sup>2</sup>. Este é caracterizado por uma cascata de eventos biológicos que se interlaçam a fim de restaurar a integridade do tecido lesionado. Na evolução desse fenômeno, simultaneamente, são conhecidas três principais fases. De imediato, após a ocorrência de um trauma no tecido cutâneo, se inicia a fase inflamatória com uma série de eventos, onde de partida haverá a liberação de substâncias vasoconstritoras e fagocitose. Em seguida, as células endoteliais lesionadas e as plaquetas, estimularão a cascata de coagulação<sup>3,4,5</sup>. Por volta do quarto dia da lesão, ocorrerá a fase de proliferação, compreendida essencialmente pela contração da lesão, formação do tecido de granulação e principalmente pela migração de células endoteliais responsáveis pelo desenvolvimento de um novo tecido epitelial. Por fim, em torno da quarta semana, a cicatrização chega à sua etapa mais prolongada, a fase de remodelação onde ocorrerá a maturação e remodelagem do tecido neoformado oferecendo-lhe características próximas ao tecido anterior<sup>3,4,5</sup>.

Para estabelecer uma terapia medicamentosa para a lesão tornar-se importante o conhecimento do veterinário sobre as fases da cicatrização, além de conduzir uma anamnese minuciosa para determinar a origem e grau de contaminação da ferida. Feridas limpas, são aquelas assépticas, normalmente são cirúrgicas. Já as lesões contaminadas não apresentam tecido desvitalizado e exsudato purulento, são comumente de origem traumática sem cuidados antissépticos. Enquanto as feridas infectadas são aquelas que apresentam tecido desvitalizado e exsudato purulento. Entre as feridas mais frequentes na rotina clínica de pequenos animais encontram-se as lesões traumáticas contaminadas, as quais necessitam de um tratamento cuidadoso e adequado para a reparação harmônica do tecido<sup>1</sup>. O grau de infecção bacteriana está intimamente relacionado ao retardo cicatricial da ferida<sup>6</sup>, com o envolvimento de bactérias Gram + (Staphylococcus, Streptococcus) e Gram - (Pseudomonas, Proteus e E. Coli) podendo estar presente de forma isolada ou concomitante na lesão<sup>7</sup>. A presença de bactérias no local lesionado pode provocar a exacerbação da inflamação, dificultando o desenvolvimento do tecido de granulação e deposição de colágeno, assim prolongando o processo cicatricial<sup>8</sup>. Portanto, a terapia inicial de lesões cutâneas é de suma importância, pois evita possíveis contaminações adicionais<sup>9</sup>.

O tratamento de lesões cutâneas além de promover o processo cicatricial, visa também combater e prevenir possíveis contaminações bacterianas e para isso, a utilização de produtos tópicos contendo antimicrobianos ou antissépticos são frequentemente utilizados na medicina veterinária. A utilização de antimicrobianos tópicos na terapia de feridas ainda causa controversas, uma vez que o uso indiscriminado poderá acarretar em resistência bacteriana<sup>10</sup>. Por isso os antissépticos são amplamente utilizados na rotina clínica veterinária, pois proporcionam uma rápida ação bactericida<sup>11</sup>.

Portanto, observando os produtos destinados ao tratamento de lesões cutâneas, ainda são poucas as alternativas no mercado destinadas à clínica de pequenos animais, requerendo então, a busca por novas fontes terapêuticas de lesões cutâneas<sup>4,12</sup>. Baseado neste contexto, este estudo buscou verificar a eficácia do IBASA PDP Ciclo P19 na cicatrização de feridas cutâneas abertas não contaminadas e contaminadas.

## **2. Metodologia**

Este estudo foi aprovado pelo comitê de Ética e Experimentação Animal – UFPel, no registro 3584/2015. Foram utilizados ratos (*Rattus norvegicus albinus*) machos (60-70 dias), da linhagem Wistar, oriundos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Sendo mantidos em condições

de bem-estar animal durante todo o período experimental. Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos, de acordo com o tratamento recebido: grupo experimental IBASA PDP Ciclo P19 (G IBA), contendo antisséptico (cloreto de laurel dimetil benzil amônio) e grupo controle positivo (G CON), onde escolheu-se um produto amplamente utilizado na rotina clínica veterinária, contendo na formulação antibacterianos, anestésico local, antiinflamatório e antifúngico.

Para a confecção das lesões os animais foram submetidos indução anestésica com isoflurano, via inalatória e associação de xilazina (10 mg/kg) e quetamina (100mg/kg) por via intraperitoneal para a realização do procedimento cirúrgico. Após a anestesia realizou-se a tricotomia na região dorsal do animal e antisepsia da área. Na sequência foram confeccionadas duas incisões com punch número 8. Todos os animais receberam, por via subcutânea, analgésico (cloridrato de tramadol 5 mg/kg)<sup>13</sup>, no transoperatório e a cada 12 horas durante três dias. Logo após o procedimento parte dos animais, tiveram suas lesões contaminadas com a inoculação da bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 29737 (Fundação Oswaldo Cruz).

O tratamento iniciou logo após o procedimento cirúrgico nas feridas não contaminadas, enquanto para as lesões contaminadas foi iniciado 24 horas após o procedimento. Todas as lesões foram tratadas diariamente com 0,5mL de solução fisiológica (NaCl 0,9%) para

a limpeza, seguida de aplicação de 0,1mL do tratamento, específico para cada grupo experimental. O período experimental foi de 40 dias para as feridas não contaminadas e de sete dias para as contaminadas, havendo sub divisões das avaliações clínica, perfil hepático e renal, histopatológica das lesões aos quatro, sete, 14, 21 e 40 dias, e a avaliação tensiométrica e de tipo de cicatriz foram realizadas aos 21 e 40 dias.

Na avaliação clínica, foram analisadas as lesões de cada grupo, nos diferentes tempos de tratamento, quanto à presença/ausência de exsudato, crosta e epitelização. Para a análise de retração cicatricial, foi realizado registro fotográfico das lesões utilizando-se câmera fotográfica digital, sendo a partir da imagem obtida determinada a área da lesão em mm<sup>2</sup>.

Foram coletadas amostras sanguíneas, acondicionadas em tubos contendo gel separador de coágulo e sem anticoagulante, sendo centrifugado a 2000'g por 10 minutos e com soro proveniente analisou-se as dosagens de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), ureia e creatinina (CK), utilizando os kits comerciais ALT/GPT likeform, AST/GOT likeform, uréia UV likeform e creatinina CK-NAC likeform em analisador químico clínico semiautomático BA-088 – Mindray®.

As amostras de tecidos coletadas na necropsia foram fixadas em formol 10%, processadas e coradas em hematoxilina-eosina. As amostras de pele foram analisadas com parâmetros como crosta,

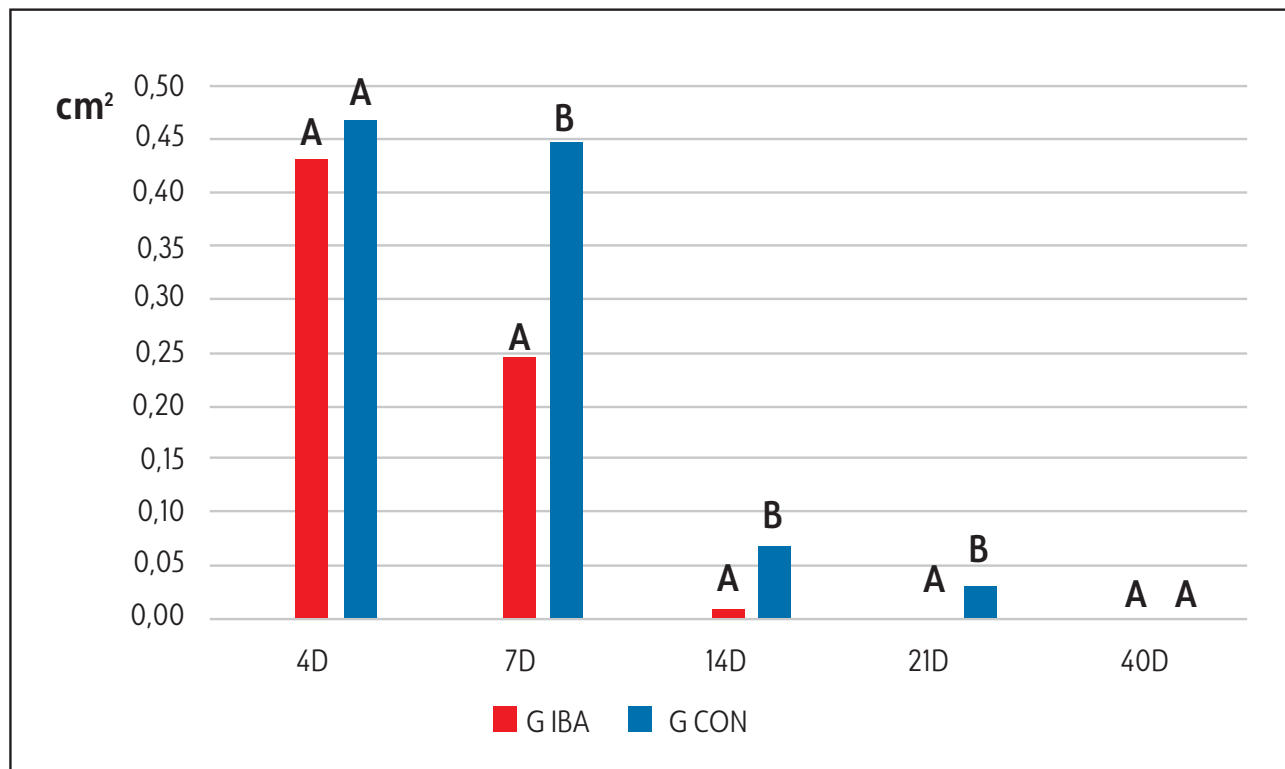
epitelização, quantidade de inflamação, densidade fibroblástica, classificando a lesão em cada fase da cicatrização, inflamatória, proliferativa ou de maturação. Na avaliação tensiométrica, verificou a tensão (Pascal) máxima suportada pela área da lesão no momento da deformação, por meio da máquina universal de ensaio (DL 500).

Nas lesões contaminadas foi realizado um macerado da amostra em solução fisiológica em geral, após filtrado (papel filtro nº1) e congelada até o momento do cultivo. Para o cultivo celular, primeiramente as amostras foram pesadas em balança digital de precisão, e alocadas em tubos esterilizados provido de tampa sob fluxo laminar, acrescido de 9 ml de meio de enriquecimento – Água peptonada. Após, as amostras foram encubadas em estufa a 35°C ± 2°C por 24/48 horas. Após esse período, realizou-se a transferência, com auxílio de pipetador, 0,1 ml da solução para placa de Petry contendo 6 mL de meio de cultura Agar Manitol Vermelho de Fenol (AVF), sendo está a diluição 10<sup>-1</sup>. Na sequência se realizou as demais diluições de forma seriada até 10<sup>-5</sup>. Todas as placas foram Incubadas à temperatura de 35°C ± 2°C por 18/72 horas. Após esse período se efetuou a contagem das colônias determinando o número de unidades formadoras de colônia. Este valor foi dividido pelo peso inicial da ferida cutânea, assim obtendo-se o número de unidades formadoras de colônia por grama (UFC/g).

### 3. Resultados

Nas feridas sem contaminação observou-se que o produto IBASA PDP Ciclo P19, mostrou resultados similares ao controle positivo, sendo em alguns parâmetros numericamente melhor. Na sequência do processo cicatricial ocorre a exsudação, que precede a granulação e conforme evolui o processo, ocorre a epiteliação<sup>14</sup>. As amostras tratadas com IBASA PDP Ciclo P19 demonstraram uma menor presença de exsudato (42% aos 4 dias). Nos primeiros dias não houveram diferenças entre os grupos ambos apresentando 78% e 100% de presença de crosta. Com o decorrer do experimento o grupo tratado com IBASA PDP Ciclo P19, demonstrou uma menor presença

de crosta aos 14 e 21 dias (57% e 14%) quando comparado ao grupo CON + (92% e 35%). A medida que a crosta da ferida reduz, começa a ocorrer a epiteliação, indicando que o processo cicatricial está evoluindo da fase proliferativa para a de maturação<sup>15</sup>. Assim a partir dos 14 dias todas as lesões (100%) do grupo IBASA PDP Ciclo P19 estavam apresentando epiteliação enquanto no grupo CON+ apenas 85%. Isto também foi demonstrado com a análise de planimetria digital, com o grupo IBASA PDP Ciclo P19 apresentando uma maior retração cicatricial ao longo do processo de cicatrização. Esta aproximação foi evidenciada principalmente aos sete, 14 e 21 dias de tratamento, diferindo significativamente ( $p < 0,05$ ) do grupo CON + (Fig. 01).



**Figura 1. Retração cicatricial, demonstrada pela média das áreas de lesão, das amostras de pele dos grupos tratados IBASA PDP Ciclo P19 (Grupo IBA) e Controle (Grupo CON+), aos quatro, sete, 14, 21 e 40 dias. Letras diferentes representam frequências estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ).**

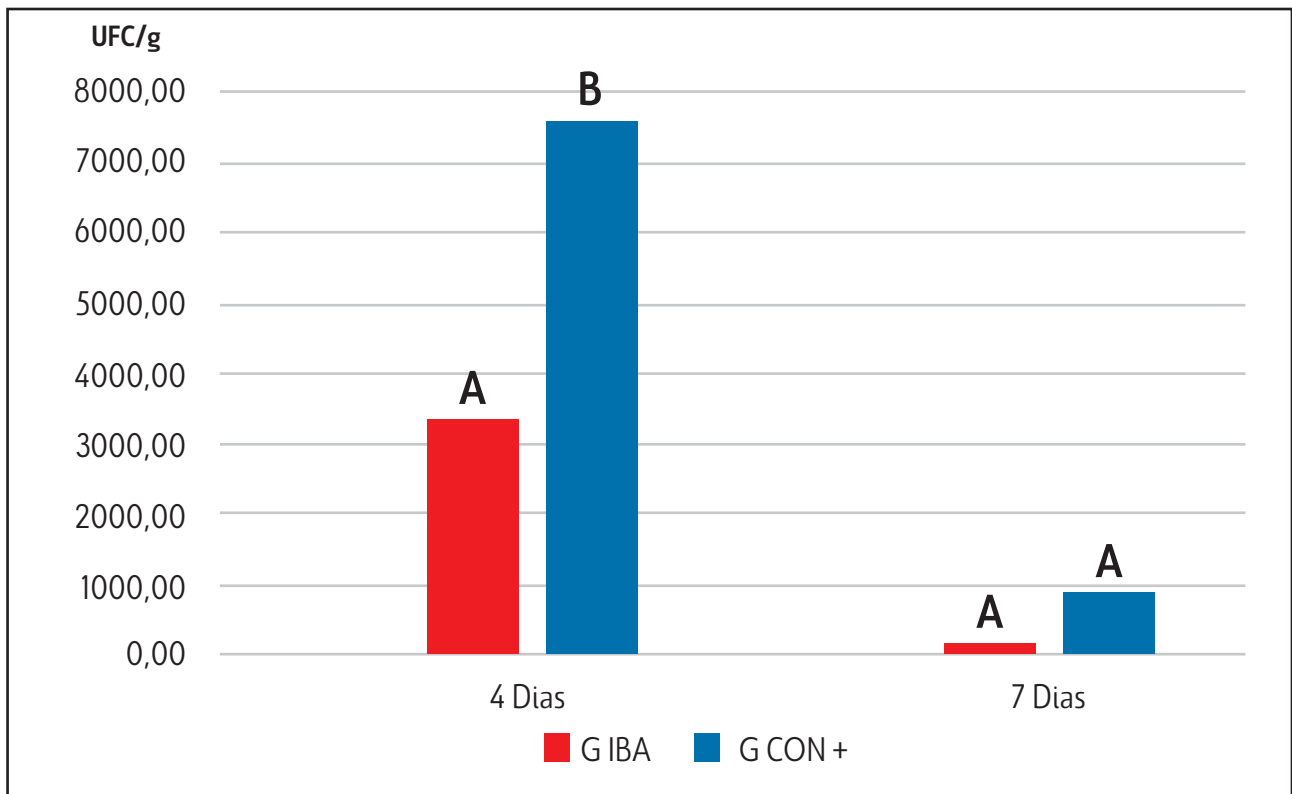
Sugerindo que o produto IBASA PDP Ciclo P19 acelerou o processo cicatricial. A análise tensiométrica e de tipo de cicatriz foi realizada aos 21 e 40 dias de tratamento, momentos em que as lesões apresentam-se completamente epitelizadas e com formação de cicatriz normotrófica e com resistência semelhantes. Na avaliação histopatológica das lesões não contaminadas não houveram diferenças entre os tratamentos. No primeiro momento de avaliação (4 dias) ambos os grupos se encontravam na fase inflamatória, conforme o esperado para a evolução cicatricial. Aos 7 dias, observou-se que o grupo IBA apresentou cerca de 25% na fase proliferativa, enquanto a grupo CON + com 8%, o restante permanecia na fase inflamatória. Aos 14 dias de tratamento evidenciou-se um avanço no processo cicatricial, passando a fase de maturação em 36% do grupo IBA e em 18% do grupo CON +. Aos 21 dias se teve o predomínio da fase de maturação em ambos grupos (80% IBA e 78% CON +) e aos 40 dias todas as feridas estavam completamente epitelizadas.

Ao serem avaliadas as feridas com contaminação observou-se que houve uma menor produção de exsudato nas feridas tratadas com IBASA PDP Ciclo P19 (7%), diferindo estatisticamente ( $p < 0,05$ ) do grupo CON (65%). Isto demonstra a ação antisséptica do produto, que age penetrando na parede celular de microorganismos, promovendo a degradação de proteínas e alterando sua permeabilidade<sup>16</sup>. Assim, diminuindo a carga bacteriana, permitindo a evolução do processo cicatricial, demonstrado pela formação de crostas as quatro dias, com respectivamente

86% e 64% assim como a epitelização aos sete dias com respectivamente 14% e 0%. Foi demonstrada a redução da carga bacteriana com a análise da UFC, onde se demonstrou a capacidade antibacteriana do Ibasas PDP Ciclo 10 P19 com o significativo menor número de unidades formadoras de colônia por grama de pele, nos dois momentos de avaliação (Fig 02). A sensibilidade de *Staphylococcus aureus* e outras bactérias ao composto presente no produto teste é comprovada em diversos estudos em in vitro, com material biológico e em superfícies, mesmo em baixas concentrações<sup>17,18</sup>. Em relação a planimetria digital observou-se que os dois grupos não diferiram estatisticamente, embora o grupo IBA demonstrou médias de área de lesão ligeiramente menores que o grupo CON +.

Quando avaliadas lâminas histológicas das lesões contaminadas, se observou no primeiro momento (4 dias) que todos os grupos apresentavam 100% das amostras na fase inflamatória, conforme o esperado para o período de avaliação. Já aos sete dias de tratamento observamos uma evolução cicatricial no grupo IBA, onde demonstrou 67% de prevalência da fase proliferativa, enquanto no grupo CON + não foram encontradas feridas em fase proliferativa, já que todas permaneciam na fase inflamatória.

Os resultados deste estudo demonstram que o tratamento com IBASA PDP Ciclo P19 acelera a cicatrização durante todo o processo de reparo tecidual, além de demonstrar sua eficácia antibacteriana. A combinação de diversos compostos emolientes, lubrificantes, hidratantes e



**Figura 2. Potencial antibacteriano, demonstrado pela média de unidades formadoras de colônia por grama de amostra de pele contaminadas tratadas com IBASA PDP Ciclo P19 (Grupo IBA) e concorrente (Grupo CON), aos quatro e sete dias. Letras diferentes representam frequências estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ).**

desinfetantes, levaram ao desenvolvimento de um produto que estimula a proliferação celular já nos primeiros dias de reparo tecidual, pois o produto manteve as lesões hidratadas, sendo a ferida nessa condição estimulada a formação de tecido de granulação e epitelização<sup>19</sup>. Permitindo a proliferação fisiológica dos fibroblastos, diferentemente de outros produtos antissépticos que apesar de não interferirem na formação de crostas e retração cicatricial, são citotóxicos aos fibroblastos, retardando o processo como um todo<sup>20</sup>. Contudo o produto cicatrizante teste, não provoca uma proliferação exacerbada de fibroblastos que por consequência poderia levar a uma deposição extrema de colágeno e a

formação de uma cicatriz hipertrófica<sup>21</sup>. Pelo contrário, o IBASA PDP Ciclo P19 além de acelerar o processo cicatricial, avançando as fases da cicatrização, permitiu a formação de uma cicatriz normotrófica de qualidade, com resistência elástica semelhante as do grupo CON+.

Feridas contaminadas apresentam uma dificuldade de cicatrização devido a carga biológica e metabólica imposta pelas bactérias as quais impedem a restauração tecidual, pois seus metabolitos são citotóxicos causando danos ao tecido cutâneo, além de reduzir os nutrientes disponíveis às células cicatriciais<sup>22</sup>. Assim, é de extrema importância que produtos cicatriciais sejam capazes de combater a

proliferação bacteriana local de feridas abertas. O IBASA PDP Ciclo P19 neste estudo reduziu significativamente a presença de exsudato, permitindo a maior presença de crosta e epitelização em diferentes momentos de avaliação. Possivelmente estes resultados devem-se a ação antisséptica do IBASA PDP Ciclo P19 que realiza o controle da proliferação bacteriana, mantendo a ferida limpa e impedindo que estas lesem o tecido retardando a cicatrização.

Quando avaliado o metabolismo renal e hepático dos animais com feridas contaminadas e não contaminadas, os valores séricos dos dois grupos de tratamento apresentaram pequenas variações ao longo do período experimental, sem diferenças significativas entre eles, demonstrando a ausência de efeitos deletérios a nível sistêmico.

#### 4. Conclusões

Neste estudo, demonstrou-se que o IBASA PDP Ciclo P19 acelera o processo cicatricial, promovendo uma maior retração cicatricial, proporciona uma cicatriz normotrófica que suporta uma boa força de tensão e ainda apresenta efeito antibacteriano.

#### 5. Referências

1. TILLMANN, M.T.; FELIX, S.R.; MUNDSTOK, C.P.; MUCILLO, G.B.; FERNANDES, C.G.; NOBRE, M. O. Tratamento e manejo de feridas cutâneas em cães e gatos (revisão de literatura). *Nosso Clínico*, n. 103, p. 12-19, jan/fev 2015.
2. MCNESS, P. Skin and wound assessment and care in oncology. *Oncology nursing*, v.22, n.3, p.130-143, 2006.
3. TAZIMA, M.F.G.S.; VICENTE, Y.A.M.V.A.; MORIYA, T. Wound biology and healing. *Medicina (Ribeirão Preto)*. v.41. p. 259-64, 2008.
4. MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares: parte I. *An. Bras. Dermatol.* v.78(4): p. 393-410, 2003.
5. AQUINO, J. U.; CZECZKO, N. G.; MALAFAIA, O.; DIETZ, U. A.; RIBAS-FILHO, J. M.; NASSIF, P. A. N.; ARAÚJO, U.; BORONCELLO, J.; SANTOS, M. F. S.; SANTOS, E. A. A. Avaliação fitoterápica da *Jatropha gossypifolia* L. na cicatrização de suturas na parede abdominal ventral de ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v.21, n.2, p.61-66, 2006.
6. PAVLETIC, M.M. Atlas of small animals wound management and reconstructive surgery. 3. ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010.
7. ARIAS, M.V.B.; BATTAGLIA, L.A.; AIELLO, G.; CARVALHO, T.T.; FREITAS, J.C. Identificação da suscetibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de cães e gatos com feridas traumáticas contaminadas e infectadas. *Semina*, v.29, n.4, p. 861 – 874, 2008.
8. OLIVEIRA, I.V.P.M.; DIAS, R.V.C.. Cicatrização de feridas: Fases e fatores de influência. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.6, n.4, p.267-271, 2012.
9. ALVES, D.F.; CABRAL, F.C.; CABRAL, P.P.A.; OLIVEIRA, R.M.; REGO, A.C.; MEDEIROS, A.C. Efeitos da aplicação tópica do mel de melipona subnitida em feridas infectadas de ratos. *Rev Col Bras Cir.* [periódico na Internet], 2008; 35(3). Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-69912008000300010&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-69912008000300010&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 08 novembro de 2016.



10. Flanagan, M. (1997). Wound cleansing. In M. Morison, C. Moffat, J. Bridel-Nixon & S. Bale (Eds.), *A color guide to the nursing management of chronic wounds* ( pp. 87-102). London, England: Mosby.
11. RODEHEAVER, G.T. Wound cleansing, wound irrigation, wound disinfection. In; Krasner, D.; Kane, D. *Chronic wound care: A clinical source book for healthcare professionals*. 2nd Edition. USA: Wayne. Health management publications, Inc., 1997. Ch. 13, p. 97-107.
12. HUPPES, R. R.; VIEIRA, E. R.; PAZZINI, J.M.; DENARDI, A.B.; MINTO, B. W.; SANTALUCIA, S.; AMORIM, R. L.; CASTRO, J. L. C. Manejo de feridas abertas em cães e gatos. *Jornal brasileiro de cirurgia veterinária*. v.2, n.5, p. 24-34, 2013.
13. BONJARDIM, L. R. Efeito do tramadol e dipirona nas respostas comportamentais nociceptivas induzidas pela administração de óleo de mostarda na ATM de ratos. 65f. Programa de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.
14. PAVLETIC, M. M. Basic principles of wound healing. In: \_\_\_\_Atlas of small animal wound management and reconstructive surgery. 3ed. Ames: Wiley-Bleckwell, 2010. Cap.2, p.18-29.
15. HOSGOOD, G. Stages of wound healing and their clinical relevance. *Veterinary Clinics of Small Animal Practice*, v.36, n.4, p.667-685, 2006.
16. GERBA, C.P. Quaternary Ammonium Biocides: Efficacy in Application. *Applied and Environmental Microbiology*, v.81, n.2, p.464-469, 2015.
17. HOUARI, A.; DI MARTINO, P. Effect of chlorhexidine and benzalkonium chloride on bacterial biofilm formation. *Letters in Applied Microbiology*, v.45, n.1, p. 652-656, 2007.
18. KHAJAVI, R., SATTARI, M., ASHJARAN, A. The antimicrobial effect of benzalkonium chloride on some pathogenic microbes observed on fibers of acrylic carpet. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. v.10, n. 4, p. 598-601, 2007.
19. DE NARDI, A.B.; RODASKI, S.; SOUSA, R.S.; BAUDI, D.L.K.; CASTRO, J.H.T. Cicatrização secundária em feridas dermoepidérmicas tratadas com ácidos graxos essenciais, vitaminas A e E, lecitina de soja e iodo polivinilpirrolidona em cães. *Archives of Veterinary Science*, v. 9, n. 1, p. 1-16, 2004.
20. FAHIE, A.M.; SHETTKO, D. Evidence-Based Wound management: A Systematic Review of Therapeutic Agents to Enhance Granulation and Epithelialization. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, V.37, n 3, p. 559-577, 2007.
21. RABELLO, Felipe Bettini; SOUZA, Cleyton Dias; JÚNIOR, Jayme Adriano Farina. Update na hypertrophic scar treatment. *Clinics*, v. 69, n. 8, p.565-573, fev 2014.
22. Cortês, S.M.S. O tratamento de ferida: Um artigo de revisão. *REVISÃO*, v. 2, n.1, p. 55-64, 2013.