

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)

TESE

**AVALIAÇÕES CLÍNICO-PATOLÓGICA E MICROBIOLÓGICA DA
CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS CONTAMINADAS, TRATADAS
COM ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia* E EXTRATO DE *Aloe vera***

Diego Gonzalez Vivas

2025



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**AVALIAÇÕES CLÍNICO-PATOLÓGICA E MICROBIOLÓGICA DA
CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS CONTAMINADAS, TRATADAS
COM ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia* E EXTRATO DE *Aloe vera***

DIEGO GONZALEZ VIVAS

Sob a Orientação da Professora
Vivian de Assunção Nogueira Carvalho

e Co-orientação da Professora
Yara Peluso Cid

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutor em
Medicina Veterinária**, no programa de
Pós-Graduação em Medicina Veterinária
(Patologia e Ciências Clínicas), Área de
Concentração em Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ

2025

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

V855a Vivas, Diego Gonzalez, 1983-
Avaliações clínico-patológica e microbiológica da cicatrização de feridas cutâneas contaminadas, tratadas com óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* e extrato de Aloe vera / Diego Gonzalez Vivas. - Rio de Janeiro, 2025.
56 f.

Orientador: Vivian de Assunção Nogueira Carvalho.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária/ Patologia e Ciências Clínicas, 2025.

1. Aloe vera. 2. *Melaleuca alternifolia*. 3. Ferida. 4. Cicatrização. 5. Bactericida. I. Carvalho, Vivian de Assunção Nogueira, 1980-, orient. II Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária/ Patologia e Ciências Clínicas III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

DIEGO GONZALEZ VIVAS

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Medicina Veterinária**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Área de Concentração em Ciências Clínicas.

TESE APROVADA EM: 11/07/2025

Vivian de Assunção Nogueira Carvalho. PhD. UFRRJ
(Presidente)

Saulo Andrade Caldas PhD. UFRRJ (Titular)

Mariana Correia Oliveira PhD UNESA (Titular)

Cristiane Divan Baldani PhD. UFRRJ (Titular)

Tiago da Cunha Peixoto PhD. UFBA (Titular)



ATA DE DEFESA DE TESE Nº 117/2025 - PPGMV (12.28.01.00.00.00.51)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 18/07/2025 12:02)

CRISTIANE DIVAN BALDANI

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DeptMCV (12.28.01.00.00.00.53)

Matricula: ###724#0

(Assinado digitalmente em 17/07/2025 12:20)

SAULO ANDRADE CALDAS

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DeptMCV (12.28.01.00.00.00.53)

Matricula: ###290#2

(Assinado digitalmente em 17/07/2025 11:12)

VIVIAN DE ASSUNCAO NOGUEIRA CARVALHO

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DESP (12.28.01.00.00.00.52)

Matricula: ###061#5

(Assinado digitalmente em 17/07/2025 11:59)

TLAGO DA CUNHA PEIXOTO

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.277-##

(Assinado digitalmente em 18/09/2025 15:37)

MARIANA CORREIA OLIVEIRA

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.567-##

(Assinado digitalmente em 17/07/2025 22:18)

DIEGO GONZALEZ VIVAS

DISCENTE

Matricula: 2021#####5

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradecer a Deus por me proporcionar tudo que tenho hoje, principalmente a família que me deu. Agradecer à minha esposa Elena Vivas, por ser minha companheira na vida pessoal e profissional; juntos construímos nossos maiores bens, nossos filhos Victor Vivas e Manuela Vivas. Obrigado meu amor por todo apoio e incentivo e por estar comigo sempre em todos os momentos, sendo vocês três meus pilares. Amo vocês.

Aos meus pais, José Maria Vivas e Neila Vivas por me proporcionarem meus estudos e me tornar a pessoa que sou hoje. Aos meus irmãos Matheus Vivas e Caroline Vivas, por me apoiarem. Aos meus sogros, Paulo Bastos e Angela D'Andrea, meus cunhados Paulo, Victor, à minha cunhada Julia Resende. E um agradecimento especial a minha afilhada Ana Lia, dindo te ama.

À minha orientadora, Dra. Vivian de Assunção Nogueira Carvalho e à minha co-orientadora, Dra. Yara Peluso Cid por toda atenção, confiança e paciência que tiveram comigo durante a elaboração deste trabalho. À Profa. Dra. Shana por fornecer as cepas proveniente do laboratório de bacteriologia. À discente de graduação Raquel Rangel pela ajuda no projeto.

Aos meus amigos José Vinicius Lopes, André Carneiro, Leandro Agueda pelas conversas e resenhas, que serviram de incentivo e relaxamento.

À Universidade Estácio de Sá e a toda equipe do campus de Vargem Pequena por me cederem espaço físico para realização do experimento.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

VIVAS, Diego Gonzalez. **Avaliações clínico-patológica e microbiológica da cicatrização de feridas cutâneas contaminadas, tratadas com óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* e extrato de *Aloe vera*.** 2025. 56p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). Instituto de Veterinária, Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária – Patologia e Ciências Clínicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2025.

A otimização do processo de cicatrização deve-se ao conhecimento Médico Veterinário na indicação de condutas terapêuticas assertivas, que utiliza fármacos adequados e de forma racional, evita reações adversas medicamentosas, intoxicações e principalmente resistência bacteriana, além de minimizar os custos de tratamento e o retardamento do reparo tecidual. Há cada vez mais investimentos financeiros e acadêmicos nesses estudos pré-clínicos e clínicos nas áreas de farmacologia e biomateriais, com vistas à confecção de novos tipos de curativos, como os hidrogéis e alginato de cálcio. Desta forma, cada vez mais investe-se em pesquisas que utilizam plantas medicinais como alternativas de tratamentos na cicatrização de feridas, devido às propriedades antissépticas, bactericidas e cicatrizantes, nesta categoria, destacam-se *Aloe vera* (Babosa) e *Melaleuca alternifolia* (*Tea tree*). O objetivo deste estudo foi realizar avaliações clínico-patológica e microbiológica da cicatrização de feridas cutâneas contaminadas em ratos, tratadas com hidrogel à base de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* e mucilagem de *Aloe vera*. Foram utilizados 24 ratos da linhagem Wistar, machos, hígidos, pesando entre 200 e 300 gramas. Com os animais anestesiados, realizaram-se duas feridas na pele da região do dorso, medindo 1,5 cm de diâmetro que posteriormente foram contaminadas com cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus* e identificadas em G1 (ferida cranial tratada unicamente por soro fisiológico 0,9%); G2 (ferida caudal tratada com pomada de collagenase e cloranfenicol) e G3 (ferida caudal tratada com hidrogel fitoterápico). Após as identificações, os animais foram separados em G1G2 (ferida cranial tratada com soro fisiológico e ferida caudal com pomada) e G1G3 (ferida cranial tratada com soro fisiológico e ferida caudal com hidrogel fitoterápico). As feridas foram avaliadas quanto ao seu aspecto morfológico e morfométrico em 3, 7 e 14 dias pós-operatórios. Por conta das múltiplas variáveis e elevada dimensionalidade a avaliação estatística seguiu a metodologia da Análise de Componentes Principais. Os valores de p inferiores a 5% ($p < 0,05$), foram interpretados como estatisticamente significativos. Após a eutanásia ética dos animais, fragmentos dessas feridas foram coletados, processados rotineiramente para histopatologia, corados pela Hematoxilina-Eosina (HE) e Tricrômio de Masson para avaliação, sobretudo, do tipo e quantidade de infiltrado inflamatório, angiogênese e fibroplasia. Adicionalmente, fígado, rins e baço também foram colhidos e não se verificou alteração anatopatológica digna de nota. A avaliação microscópica revelou que as feridas G3 apresentaram uma taxa de deposição de colágeno e de reepitelização superior às feridas G2. Morfologicamente, as feridas G3 produziram menos crosta do que as feridas G2, que manteve o aspecto mais seco, provavelmente porque a crosta produz uma barreira que protege da perda de eletrólitos, fluidos e entrada extrínsecas de agentes nocivos. Com relação ao processo inflamatório, as feridas tratadas pela pomada comercial apresentaram uma menor taxa quando comparado às tratadas pelo hidrogel fitoterápico. No quesito controle microbiológico, observou-se, nas feridas G2, redução da taxa de microorganismos de 25%, e nas feridas G3, redução de 17%. Dessa forma, o hidrogel fitoterápico proposto neste estudo apresentou resultados satisfatórios comparados à pomada, pois demonstrou ter um grande potencial cicatricial, apesar do baixo potencial bactericida e pode se revelar uma opção para substituir a base cicatrizante e antimicrobiana.

Palavras-chave: Babosa; *Tea tree*; Cicatrização; Bactericida.

ABSTRACT

VIVAS, Diego Gonzalez. **Clinical-pathological and microbiological evaluations of the healing of contaminated skin wounds treated with *Melaleuca alternifolia* essential oil and *Aloe vera* extract** 2025. 56p. Thesis (Doctorate in Veterinary Medicine). Veterinary Institute, Graduate Program in Veterinary Medicine – Pathology and Clinical Sciences, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, 2025.

The optimization of the healing process is due to veterinary medical knowledge in indicating accurate therapeutic approaches, using appropriate drugs in a rational manner; avoiding adverse drug reactions, poisoning and especially bacterial resistance, leading to higher treatment costs and delayed tissue repair. There is an increasing financial and academic investment in preclinical and clinical studies in the lines of research in pharmacology and biomaterials, aiming at the production of new types of dressings, such as hydrogels and calcium alginate. Also following this line of thought, more and more research is being produced using medicinal plants as alternative treatments for wound healing; due to their antiseptic, bactericidal and healing properties. In this category, *Aloe vera* (Aloe) and *Melaleuca alternifolia* (Tea tree) stand out. The aim of this study was to perform clinical-pathological and microbiological evaluations of the healing of contaminated skin wounds treated with hydrogel based on *Melaleuca alternifolia* essential oil and *Aloe vera* mucilage. Twenty-four healthy male Wistar rats weighing between 200 and 300 grams were used. With the animals anesthetized, two skin wounds measuring 1.5 cm in diameter were made in the dorsal region, which were subsequently contaminated with multiresistant strains of *Staphylococcus aureus* and identified in G1 (cranial wound treated only with 0.9% saline solution); G2 (caudal wound treated with collagenase and chloramphenicol ointment) and G3 (caudal wound treated with phytotherapeutic hydrogel). After proper identification, the animals were separated into G1G2 (cranial wound treated with saline solution and caudal wound with ointment) and G1G3 (cranial wound treated with saline solution and caudal wound with phytotherapeutic hydrogel). The wounds were evaluated for their morphological and morphometric appearance at 3, 7 and 14 days postoperatively. Due to the multiple variables and high dimensionality, the statistical evaluation followed the Principal Component Analysis methodology. P-values less than 5% ($p < 0.05$) were interpreted as statistically significant. After ethical euthanasia of the animals, the fragments of these wounds were subjected to histological analysis, stained with Hematoxylin-Eosin (HE) and Masson's Trichrome to evaluate the type and quantity of inflammatory infiltrate, angiogenesis and fibroplasia. Abdominal organs such as liver, kidneys and spleen were also separated for structural and anatomopathological evaluation. Microscopic evaluation revealed that G3 wounds presented a higher rate of collagen deposition and reepithelialization than G2 wounds. Morphologically, G3 wounds produced less crust than G2 wounds, which, despite maintaining a drier appearance, the crust produced a barrier that protected against the loss of electrolytes, fluids and the entry of extrinsic harmful agents. Regarding the inflammatory process, wounds treated with the commercial ointment presented a lower rate when compared to those treated with the phytotherapeutic hydrogel. In terms of microbiological control, a 25% reduction in the rate of microorganisms was observed in G2 wounds and a 17% reduction in G3 wounds. Thus, the phytotherapeutic hydrogel proposed in this study presented satisfactory results compared to the ointment, as it demonstrated to have a great healing potential, despite its low bactericidal potential; it may be an option to replace the healing and antimicrobial base

Keywords: *Aloe vera*; *Tea tree*; Healing; Bactericide

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação macroscópica das feridas experimentais contaminadas, produzidas nos dorsos dos ratos com bases nos parâmetros em pontuações, adaptada de Fernandes (2020).....	26
Tabela 2. Valores morfométricos das feridas do grupo G1G2 quanto à largura, comprimento e altura, destacado em 3, 7 e 14 dias de tratamento.....	29
Tabela 3. Valores da média e desvio padrão obtidas das análises estatísticas referentes às medições de altura, comprimento e largura das feridas experimentais do grupo G1G2, destacadas em 3, 7 e 14 dias pós tratamento.....	30
Tabela 4. Valores morfométricos das feridas do grupo G1G3 quanto à largura, comprimento e altura, destacado em 3, 7 e 14 dias de tratamento.....	31
Tabela 5. Valores da média e desvio padrão obtidas das análises estatísticas referentes às medições de altura, comprimento e largura das feridas experimentais do grupo G1G3, destacadas em 3, 7 e 14 dias de tratamento.....	32
Tabela 6. Escores das feridas do grupo G1G2 quanto aos aspectos clínicos de edema, a coloração das feridas, tecidos desvitalizados, aspecto de exsudação e crostas, organizado quanto o período proposto de 3, 7 e 14 dias de tratamento.....	35
Tabela 7. Pontuações das feridas do grupo G1G3 quanto aos aspectos clínicos de edema, a coloração das feridas, tecidos desvitalizados, aspecto de exsudação e crostas, organizado quanto o período proposto de 3, 7 e 14 dias de tratamento.....	36
Tabela 8. Tabela ilustrativa das feridas dos grupos experimentais G1G2 com 3, 7 e 14 dias de tratamento.....	45
Tabela 9. Tabela ilustrativa das feridas dos grupos experimentais G1G3 com 3, 7 e 14 dias de tratamento.....	46

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Registros fotográficos das evoluções cicatriciais dos grupos G1G2 e G1G3 nos dias 3, 7 e 14 dias de tratamento.....	28
Quadro 2. Registros fotográficos das citologias das feridas G2 e G3 nos dias 3, 7 e 14 de tratamento.....	39

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Gráfico representativo do processo de cicatrização em relação à altura média das lesões no período de tempo de 3, 7 e 14 dias de tratamento	33
Gráfico 2. Gráfico representativo da evolução cicatricial em relação à largura média das lesões no período de tempo de 3, 7 e 14 dias de tratamento.....	33
Gráfico 3. Representação gráfica do processo evolutivo das lesões em relação ao comprimento médio no período de tempo de 3, 7 e 14 dias de tratamento.....	34
Gráfico 4. Gráfico representativo da produção média de crostas das feridas experimentais G1, G2 e G3 nos dias 3, 7 e 14 de tratamento.....	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura Química do Cloranfenicol.....	16
Figura 2. Imagem ilustrativa <i>Aloe vera</i> (Babosa).....	17
Figura 3. Imagem ilustrativa da <i>Melaleuca alternifolia</i>	19
Figura 4. Imagem ilustrando o passo a passo da produção do inóculo e de sua aplicação.....	23
Figura 5. Imagem ilustrativa das duas feridas esféricas localizadas no dorso do animal para realização do experimento com as identificações de feridas craniais e caudais.....	24
Figura 6. Imagem ilustrativa das medições realizadas com paquímetro digital “ <i>ante mortem</i> ” nas feridas.....	25
Figura 7. Imagem ilustrativa da avaliação morfológica e morfométrica com paquímetro dos órgãos.....	27
Figura 8. Aplicação gráfica da Análise de Componentes Principais (PCA).....	38
Figura 9. Boxplot do índice de Cicatrização por grupo e duração.....	38
Figura 10. Fotomicrografia de pele grupo G1G2 3 dias.....	40
Figura 11. Fotomicrografia de pele grupo G1G3 7 dias. Obj. 4x.....	40
Figura 12. Fotomicrografia de pele grupo G1G3 7 dias. Obj. 20x.....	41
Figura 13. Fotomicrografia de pele grupo G1G2 7 dias.....	41
Figura 14. Fotomicrografia de pele grupo G1G2 14 dias. Corados HE.....	42
Figura 15. Fotomicrografia de pele grupo G1G3 14 dias. Animal 3.....	42
Figura 16. Fotomicrografia de pele grupo G1G2 14 dias. Corados Tricrômico de Masson. Obj 4x.....	43
Figura 17. Fotomicrografia de pele grupo G1G3 14 dias. Animal 4.....	43
Figura 18. Fotomicrografia de pele grupo G1G3 14 dias. Corados Tricrômico de Masson.....	44
Figura 19. Fotomicrografia de pele grupo G1G2 14 dias. Corados Tricrômico de Masson. Obj 10x.....	44

LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

ADP	Adenosina difosfato
CTAP - III	Peptídeo Ativador de Tecido Conjuntivo
TGF	Fator de Crescimento Transformador
PDGF	Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
TNF- β	Fator de Necrose Tumoral Beta
Tris-EDTA	Sal de cálcio dissódico de ácido etilenodiamino tetra-acético com tris hidroximetil aminometano
PAT	Pomada Antibiótica Tripla
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular
CMC	Carboximetilcelulose
PPG	Propilenoglicol
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
LQBioN	Laboratório de Química de Bioativos Naturais
pH	Potencial Hidrogeniônico
LQEPV-	Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária, Setor de
DAFAr	Desenvolvimento e Análises Farmacêuticas
Labac	Laboratório de Bacteriologia
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
NAL	Núcleo de Animais de Laboratórios
°C	Graus Celsius
ml	Mililitros
G	Gramas(s)
G1	Feridas contaminadas por cepas de <i>S.aureus</i> multirresistente, tratadas unicamente com soro fisiológico
G2	Feridas contaminadas com cepas <i>S.aureus</i> multirresistente, tratadas com pomada de collagenase com cloranfenicol
G3	Feridas contaminadas com cepas <i>S.aureus</i> multirresistente tratadas, com hidrogel de extrato de <i>Aloe vera</i> e <i>Melaleuca alternifolia</i>
cm	Centímetro(s)
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
kg	Quilograma(s)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 Cicatrização das Feridas.....	12
2.2 Classificação das Feridas.....	13
2.3 Tratamento de Feridas.....	14
2.3.1 Solução de limpeza.....	14
2.3.2 Agentes antimicrobianos.....	15
2.3.3 <i>Aloe vera</i>	17
2.3.4 <i>Melaleuca alternifolia</i>	19
2.4 Tipos de Curativos.....	20
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1 Preparo da Associação Fitoterápica.....	22
3.2 Amostragem Experimental.....	22
3.3 Ferida Experimental.....	22
3.4 Produção e Aplicação do Inóculo Bacteriano.....	23
3.5 Grupos Experimentais.....	23
3.6 Eutanásia.....	24
3.7 Análise " <i>Ante Mortem</i> ".....	25
3.8 Avaliação " <i>Post Mortem</i> ".....	26
3.9 Análise Estatística.....	27
4 RESULTADOS.....	27
4.1 Avaliação Morfometria.....	27
4.2 Avaliação Macroscópica.....	34
4.3 Avaliação Citológica.....	38
4.4 Análise Microscópica.....	39
5 DISCUSSÃO.....	47
6 CONCLUSÃO.....	50
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

1 INTRODUÇÃO

É de conhecimento Médico Veterinário compreender o processo cicatricial de feridas para melhor tratá-las. Basicamente, esse processo de reparação ocorre de forma dinâmica e se divide em quatro fases distintas, porém sobrepostas, são elas: inflamatória, debridamento, reparo e maturação (MACPHAIL, 2014).

Com esse entendimento clínico-cirúrgico, a otimização desse reparo tecidual pode ocorrer de forma mais efetiva, utilizando-se fármacos tópicos, sistêmicos ou ambos. A presença de bactérias assim como de corpos estranhos e tecidos necrosados podem interferir na cicatrização e retardar esse processo. Contudo, o uso indiscriminado de antibióticos também pode levar a intoxicações e à seletividade, e consequentemente, resistência bacteriana, o que aumenta o custo do tratamento e do reparo tecidual (ALAVI et al., 2014; POWERS et al., 2016).

Muitas indústrias farmacêuticas médicas, médicas veterinárias e engenharia de biomateriais vêm, nos últimos anos, desenvolvendo tipos diferentes de curativo e incentivando estudos acadêmicos experimentais utilizando plantas medicinais no intuito de obter novas e melhores formas de tratar feridas contaminadas visando a otimização no tratamento. O hidrogel é indicada para feridas secas e com presença de tecidos necrosados, com o intuito de hidratar este tecido, o hidrogel age promovendo um debridamento autolítico e assim uma melhor cicatrização.

Aloe vera e *Melaleuca alternifolia* se destacam como plantas medicinais com propriedades cicatrizante e antimicrobiana, respectivamente, e podem ser utilizadas para confecção de curativos. Desta forma, este trabalho tem por objetivo realizar as avaliações clínico-patológica e microbiológica da cicatrização de feridas cutâneas contaminadas, tratadas com hidrogel à base de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* e mucilagem de *Aloe vera*

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cicatrização das Feridas

A cicatrização ou reparação de uma ferida aberta é um processo biológico complexo que visa a restauração da continuidade tecidual. Este processo se inicia logo após a origem da lesão e ocorre de forma dinâmica com uma combinação de eventos biológicos, químicos e físicos (CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007; MACPHAIL 2014; STANLEY; CORNEL, 2017). Segundo Pavletic (2018), o processo de reparação de uma ferida aberta se divide basicamente em quatro fases, que ocorrem de maneiras distintas, mas sobrepostas: etapa inflamatória, seguida por debridamento, fase de reparo e por fim a fase de maturação.

A fase inflamatória se inicia logo após a lesão; a qual ocorre clinicamente a formação de um tampão plaquetário limitando o sangramento na região, e a nível celular se inicia a sinalização de citocinas. A primeira resposta na fase inflamatória é a hemostática, com o desenvolvimento de coágulo de fibrina e ativação da cascata de coagulação (SCHÄFFER; WITTE; BECKER, 2002). Ao alcançarem e se exporem à lesão; as plaquetas se ativam liberando mediadores como a adenosina difosfato (ADP), tromboxano A₂, fibronectina e trombospondina que juntamente com a trombina ativarão a conversão de fibrinogênio em fibrina, o que promove a agregação plaquetária, secreção e formação de um tampão (LI; CHEN; KIRSNER, 2007). De acordo com Balbino, Pereira e Curi (2005), essa matriz provisória formada pela agregação plaquetária e principalmente

por proteínas da matriz extracelular e do sistema de coagulação, servirá de alicerce para migração celular. As plaquetas também liberam fatores quimiotáticos e do crescimento como o peptídeo ativador de tecido conjuntivo (CTAP-III) e fator de crescimento transformador (TGF) α e β que facilitam o recrutamento de células inflamatórias e liberam o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) que estimula a proliferação e quimiotaxia dos neutrófilos, macrófagos, fibroblastos e células musculares lisas para o local da lesão (MACPHAIL, 2014; STANLEY; CORNEL, 2017).

Nesta fase também ocorre a mediação de substâncias como fator de necrose tumoral (TNF), histamina, proteases, leucotrienos, fatores de crescimento TGF- β e PDGF que promoverão a quimiotaxia de células inflamatórias para a área lesada. Esses mediadores descritos acima, promovem vasodilatação na ferida, e favorecem a diapedese de leucócitos com predominância inicial de neutrófilos e posteriormente de macrófagos (MACPHAIL, 2014; STANLEY; CORNEL, 2017).

Na fase de desbridamento, se destaca a ação dos leucócitos, em especial os neutrófilos inicialmente, no combate às infecções, a fagocitose dos debrís celulares, remoção de corpos estranhos e secreção de collagenase. Com a ação dos neutrófilos, ocorre a ativação de monócitos. Os monócitos são importantes durante o processo de reparação do ferimento porque fagocitam detritos celulares, secretam citocinas e proteínas de remodelação de matriz e produzem fatores de crescimento. Nos tecidos, esses monócitos se diferenciam em macrófagos. Os macrófagos são essenciais para esta fase, pois regulam a resposta inflamatória local ao sintetizar mediadores como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), que fagocitam neutrófilos e detritos celulares remanescentes e liberam TGF- β para migração de células endoteliais e fibroblastos; também promovem, indiretamente, a formação de matriz extracelular e iniciam a reepitelização (PAVLETIC, 2018)

A terceira fase do processo de cicatrização chama-se reparação ou fase proliferativa ou fibroblástica. De acordo com Ribeiro e colaboradores (2013), esta fase é caracterizada pela proliferação de fibroblastos ativados para a produção posterior de colágeno no local. Ocorre uma neovascularização; o tecido de granulação tem por objetivo servir de superfície para migração epitelial e fontes de miofibroblastos, importantes na contração da ferida.

Na última fase, a fase de maturação ou remodelamento, observa-se a substituição do tecido de granulação pelo tecido cicatricial. Durante a fase anterior, a matriz é composta principalmente de colágeno do tipo III. Na fase de maturação da ferida, a troca do colágeno do tipo III para tipo I ocorre gradativamente. Esse processo é realizado por metaloproteinasas; ao final desse processo há um fortalecimento do tecido reparado com a cicatriz constituída de até 90% de colágeno do tipo I (SCHÄFFER; WITTE; BECKER, 2002; PAVLETIC, 2018)

2.2 Classificação das Feridas

Segundo Williams e Moore (2009) e Pavletic (2018), as feridas podem ser classificadas quanto ao tipo (abertas ou fechadas), o grau de contaminação e a duração da contaminação. As feridas são classificadas em fechadas quando há uma integridade da camada superficial da pele, ou seja, não há a exposição das camadas mais internas da pele e demais tecidos internos, contudo seus tecidos adjacentes podem estar lesados. Contudo, nas feridas abertas, há uma interrupção no nível da pele, e dessa maneira se destacam as feridas do tipo avulsão, incisões, lacerações, queimaduras e perfurações.

Quanto ao grau de contaminação, os mesmos autores diferenciam as feridas em quatro categorias: limpas, limpas contaminadas, contaminadas e infectadas. A ferida limpa é aquela realizada cirurgicamente sem falha na assepsia, sem contaminação e

inflamação aguda, que não tiveram acesso aos sistemas respiratório, digestivo e gênito-urinário. São em sua grande maioria aproximadas com suturas utilizando-se fios cirúrgicos. As feridas limpas contaminadas são feridas em estruturas anatômicas e sistemas que sabidamente há uma quantidade maior de microbiotas e com isso podem comprometer a cicatrização de uma ferida, são elas: tratos respiratório, gênito-urinário e gastrointestinal. As feridas contaminadas são feridas abertas e traumáticas, que possuem um volume de moderado a acentuado de microrganismos, com comprometimento asséptico elevado das condições clínicas da ferida, apresentam sujidades, probabilidade de infecção e com processo inflamatório moderado. E por fim, as feridas infectadas ou sujas, são aquelas que além de serem também abertas traumáticas, então em condições mais crônicas, e clinicamente com aspecto purulento/ exsudativo, odor fétido, com processo inflamatório acentuado e tecidos desvitalizados/necróticos.

Para Pavletic (2018), as feridas podem ser classificadas quanto à duração da contaminação em classes 1, 2 e 3. Sendo a classe 1, feridas expostas a contaminação bacteriana com menos de seis horas, classe 2, feridas expostas de 6 a 12 horas. E feridas classe 3, com mais de 12 horas de exposição.

Apesar de ser visto rotineiramente, e de ser do conhecimento Médico Veterinário geral, o tratamento correto de feridas cutâneas não é tão simples, pois para que ocorra a cicatrização adequada é necessário ter conhecimento sobre as fases da cicatrização, além de se estabelecer a melhor abordagem terapêutica para cada tipo de ferida, o que inclui a compreensão das particularidades das espécies animais envolvidas. O intuito principal do tratamento de uma ferida é acelerar o processo de cura e minimizar os seus efeitos deletérios; para isso, utilizam-se drogas de formas tópicas ou locais, associadas ou não a outras substâncias de forma sistêmica, por via oral ou parenteral (RAINA et al., 2008).

2.3 Tratamento de Feridas

De acordo com Silva e colaboradores (2021), existem inúmeros produtos tópicos que podem ser utilizados para o tratamento de feridas. Dentre elas se destacam as soluções para limpeza, antimicrobianos e potencializadores, além de diversos tipos de curativos (alginato de cálcio, géis, extratos, óleos...). O intuito destes produtos é de manter o ambiente úmido, eliminar os microrganismos e acelerar o processo de cicatrização.

2.3.1. Solução de limpeza

Macphail (2014) descreve que as soluções de limpeza devem possuir características com ação antisséptica e baixa citotoxicidade para diminuir a carga bacteriana e reduzir debris do tecido necrosado. Uma destas soluções é a clorexidina, que pode ser encontrada no formato de acetato, gluconato e dicloridrato. Possui ação antibacteriana contra agentes gram-positivos e gram-negativos, mas com ação limitada contra fungos e vírus. Em feridas limpas, a clorexidina é contraindicada pois pode retardar o processo de cicatrização, sendo então recomendada na concentração de 0,05% para feridas limpas contaminadas em diante.

A iodopovidona apresenta um espectro de ação mais amplo que a clorexidina; ela possui ação antimicrobiana, e atua contra gram-positivos e gram-negativos, fungos, vírus e protozoários (BIGLIARDI et al., 2017), podendo ainda ser utilizada na concentração de 0,1 a 1%, utilizando-se, preferencialmente, concentrações de até 0,1% pois segundo Hengel et al. (2013) e MacPhail (2014), às concentrações acima de 0,5% são tóxicas para os fibroblastos e com isso retardam o processo de cicatrização. Contudo, Ghafouri et al. (2016) descrevem que em humanos não há diferença significativa na limpeza de feridas entre solução salina estéril 0,9% e a iodopovidona a 1%.

Outra solução para limpeza de feridas é o Tris-EDTA (sal de cálcio dissódico de

ácido etilenodiamino tetra-acético com tris hidroximetil aminometano). Esta solução pode ser adicionada na limpeza das feridas pois aumenta a permeabilidade de bactérias gram-negativas para solutos extracelulares, sendo mais susceptíveis à destruição por antissépticos e antibióticos. Quando esta solução é adicionada ao gluconato de clorexidina a 0,01%, sua ação antimicrobiana é aumentada em aproximadamente 1000 vezes (MACPHAIL, 2014).

Segundo Macphail (2014), as soluções de limpeza devem possuir, preferencialmente, propriedades antissépticas com mínima citotoxicidade. Estas soluções devem ser evitadas em feridas limpas, sendo assim utilizadas em feridas que possuam algum grau de contaminação; elas são indicadas nas fases iniciais para diminuir a carga microbiana e remoção de debris e tecidos necrosados do ferimento. Segundo Fonder et al. (2008), uma das principais complicações no processo de cicatrização de feridas são as infecções por *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, e muitas vezes é necessário o uso de antibióticos e agentes antimicrobianos, além dos curativos.

2.3.2. Agentes antimicrobianos

A função dos agentes antimicrobianos e antibióticos é reduzir ou até eliminar os microrganismos presentes em feridas contaminadas. Podem ser utilizadas de forma tópica, sistêmica e combinados. Os antimicrobianos unicamente tópicos são mais adequados para feridas abertas contaminadas e possuem menor toxicidade para o paciente (HENGEL et al., 2013; MACPHAIL, 2014). Porém o uso combinado das terapias tópicas e sistêmicas é vantajoso em feridas crônicas com grau de contaminação elevado, contudo há um maior custo durante o tratamento (KOGA et al., 2020).

Segundo Hengel et al. (2013) e Macphail (2014) os principais tipos de antimicrobianos são a sulfadiazina de prata e a pomada antibiótica tripla (PAT). O creme de sulfadiazina de prata a 1% possui uma boa ação antimicrobiana, e atua principalmente em *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* e *Klebsiella* sp. (FERREIRA, PAULA, 2013; MACPHAIL, 2014), porém há baixa ação cicatrizante. Seu uso tópico é muito indicado e é referência no tratamento de queimaduras superficiais e profundas (FERREIRA, PAULA, 2013; LOPES et al, 2023). Alguns efeitos adversos podem ocorrer em seres humanos no uso tópico, tais como: toxicidade hepática e renal, leucopenia e descoloração azul-acinzentada da pele, devido à absorção da sulfadiazina (FERREIRA, PAULA, 2013; ADHYA et al, 2015; SILVA et al, 2021).

A pomada antibiótica tripla (PAT) é composta de neomicina, bacitracina e polimixina; e de acordo com MacPhail (2014) possui amplo espectro contra bactérias, porém é ineficaz contra *Pseudomonas* spp. O mesmo autor descreve que esta pomada possui boa estimulação na fase de epitelização no processo de cicatrização, mas pode retardar na fase de maturação, devido à presença do zinco na composição da bacitracina. Desta forma, sugere-se o uso em feridas com contaminações moderadas ou na prevenção em feridas limpas.

Outra pomada utilizada para cicatrização de ferida é a collagenase, composta por clostridiopeptidase A e enzimas proteolíticas. Seu mecanismo de ação é remover o tecido desvitalizado de uma ferida e promover limpeza enzimática das áreas lesadas, ou seja, promove uma retirada enzimática dos tecidos necrosados e de crostas em feridas. Essa limpeza pode se estender em até 14 dias do tratamento da ferida, porém, na maioria dos casos a ação da pomada torna-se evidente nos primeiros seis dias de tratamento. Além disso, a collagenase decompõe o colágeno em seu estado natural ou desnaturado e contribui na formação de tecido novo de granulação e reepitelização das feridas (FRANCO, GONÇALVES, 2007).

A pomada de collagenase é indicada em feridas com tecidos desvitalizados (KISCHER, SCHETLAR, 1974; ALVES et al., 2011). Franco e Gonçalves (2007)

descrevem que, quando não há tecidos necrosados, a pomada de collagenase estimula o processo de epitelização e crescimento do tecido de granulação da ferida, bem como acelera o crescimento e preenche a lesão.

O cloranfenicol (Figura 1) é um antibiótico semi-sintético de efeito bactericida e bacteriostático. Seu mecanismo de ação envolve a sua ligação à subunidade 50 S do ribossoma, e dessa forma inibe o movimento dos ribossomos ao longo do RNAm pela inibição da peptidiltransferase. Além disso, o cloranfenicol impede a ligação do RNAt com consequente não codificação de novos aminoácidos necessários à síntese proteica (VON NUSSBAUM et al., 2006; SCHERER et al., 2016; SILVA, 2022). Devido ao seu amplo espectro para bactérias gram-positivas e gram-negativas, incluindo cepas resistentes, o cloranfenicol é indicado em infecções bacterianas graves. Sua absorção e distribuição é rápida e ampla nos tecidos, sendo valioso nos tratamentos bacterianos sistêmicos e locais (VON NUSSBAUM et al., 2006; SILVA 2022). Contudo, seu uso pode ser considerado restrito, por interferir na produção de células sanguíneas na medula óssea, reações alérgicas, náuseas, vômitos, diarreia, tonturas, mal-estar, dores de cabeça e dores musculares (SILVA, 2022).

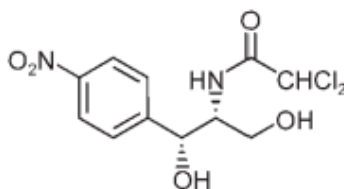


Figura 1- Estrutura Química do Cloranfenicol. Fonte: Von Nussbaum et al (2006).

Na interação da collagenase com cloranfenicol, há sinergismo, que oferece vantagens para um bom tratamento de feridas cutâneas contaminadas. A collagenase age no debridamento enzimático, “limpando” a área infectada e por sua vez, o cloranfenicol oferece uma melhor penetração no tecido, e combate melhor a infecção bacteriana, promovendo a cura (ALVES et al., 2011). Porém essa combinação deve ser usada com cuidado. Apesar da collagenase promover remoção dos tecidos desvitalizados em uma ferida, pode ocorrer ocasionalmente irritação ou reação inflamatória local. O cloranfenicol pode produzir efeitos adversos como supressão da medula óssea em uso prolongado e o paciente deve ser acompanhado e monitorado, a fim de se avaliar os aspectos clínicos evolutivos da ferida e possíveis efeitos colaterais dessa interação (FRANCO, GONÇALVES, 2007; SILVA, 2022).

Ainda assim, essa combinação pode apresentar uma abordagem eficaz no manejo de infecções cutâneas complexas. Silva et al. (2010) descrevem a utilização da pomada de collagenase associada ao cloranfenicol com resultados satisfatórios em feridas cutâneas por pressão em pacientes hospitalizados. Junior et al. (2019) apresentaram um levantamento de dados de prescrições médicas de antibioticoterapias em uma unidade de terapia intensiva adulta no Estado do Maranhão. Nesse estudo, os autores também descrevem a satisfatória interação da collagenase com cloranfenicol no tratamento de úlcera de decúbito e infecções de partes moles.

Na Medicina e na Medicina Veterinária, o uso indiscriminado de medicamentos sem prescrição médica, pode parecer inofensiva, porém pode gerar sérios danos à saúde, reações adversas medicamentosas, intoxicações, dificuldade no diagnóstico clínico e na implantação da terapia adequada e dificultar a resistência bacteriana (RIVA, PASTOR, SILVA, 2018). Há cada vez mais isolamento de bactérias como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* multirresistentes, principalmente em feridas crônicas, e esses

aumento dificulta o uso de antibióticos nas formas tópica e sistêmica (FONDER et al., 2008). Com isso, estudos nas áreas de farmacologia e biomateriais vêm desenvolvendo novos tipos de materiais para curativos, como os hidrogéis que possuem uma propriedade de realizar liberação do fármaco de forma controlada e gradativa (ALAVI et al., 2014; POWERS et al. 2016). Seguindo essa linha de raciocínio da resistência bacteriana, o uso das plantas medicinais surge como uma boa alternativa. Os benefícios do uso medicinal das plantas no tratamento de feridas, sob forma de pomadas, óleos, infusões e hidrogéis vão desde a acessibilidade e baixo custo até minimização de efeitos colaterais (PIRIZ et al., 2014), e configura um possível substituto desses antibióticos. A associação de curativos com sistema de liberação controlada com fitoterápicos de ação cicatrizante e antibacteriana é uma alternativa promissora para o tratamento de feridas crônicas e contaminadas (ORLANDINI et al., 2017; KOGA et al., 2020). Orlandini et al. (2017) descrevem em um relato de caso o uso de creme de papaína e extrato liofilizado das raízes de salsa (*Petroselinum crispum*) contra *Escherichia coli* multirresistente em abscesso em equino, o qual obteve um resultado satisfatório. Silva et al (2025), também descrevem outro relato de caso com bom resultado cicatricial utilizando pomada de barbatimão.

Outras possibilidades de fitoterápicos de ação cicatrizante e antimicrobiana destacam-se *Aloe vera* (babosa) e *Melaleuca alternifolia* (Tea tree) (MERCÊS et al., 2017; LIRA et al., 2020).

2.3.3 *Aloe vera*

Aloe vera pertence ao gênero *Aloe*, e à família *Asphodelaceae*, em que mais de 300 espécies já foram identificadas, e têm sido amplamente utilizadas para fins medicinais ou na indústria de cosméticos (Figura 2). Popularmente chamada de babosa, *A. vera* possui propriedades farmacológicas bem conhecidas com seu potencial hipolipidêmico, anti-inflamatória, hipoglicemiante e cicatrizante (JUNIOR et al., 2020).



Figura 2- *Aloe vera*, vulgarmente conhecida como Babosa. Fonte: <https://www.aplantadavez.com.br/2022/01/babosa-aloe-vera-l-burmf.html>. Acesso em 08 de fevereiro de 2025.

Segundo Ferreira e Paula (2013), a babosa atua principalmente na fase de reparo de uma ferida, estimulando os fibroblastos e aumentando a síntese de colágeno. Freitas, Rodrigues e Gaspi (2014) descrevem que nas folhas da babosa há um predomínio de polissacarídeos, água, flavonoides, vitaminas, diversos aminoácidos, além de zinco, magnésio, cálcio e potássio. E que estes polissacarídeos, apresentam-se como os mais importantes para o processo de cicatrização, principalmente a acemanana. Estes autores descrevem ainda que este polissacarídeo pode atuar na estimulação e proliferação de fibroblastos, na produção de colágeno do tipo I, na estimulação da secreção do fator de

crescimento de queratinócitos e na estimulação do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF).

Junior et al. (2020) descrevem que *A. vera* pode ser utilizada de diversas formas farmacêuticas, tais como: gel, extrato, unguento e nanopartículas. Porém há maior prevalência no formato gel, pois esta forma farmacêutica permite maior fixação na superfície da ferida e maior agregação de grandes moléculas. Alves et al. (2011) realizaram um estudo experimental comparativo de feridas cirúrgicas tratadas por extrato de *Musa sapientum* (banana prata verde), tratadas com *Aloe vera* e tratadas com colagenase. Foram realizadas feridas nos dorsos de ratos, utilizando-se um “punch”, e realizou-se o tratamento clínico com dois fitoterápicos, com a colagenase e o grupo controle que não recebeu tratamento. As avaliações clínicas macroscópicas foram realizadas diariamente em um período de nove dias, os quais observaram crostas, tecido de granulação e supuração. Os autores desse estudo relataram que, no grupo *Musa sapientum*, a formação de crostas se desenvolveu no meio do experimento (5º dia) em 40% dos ratos e, em 10% dos animais, no final do experimento (9º dia). No grupo *Aloe vera* ocorreu formação de crostas em 70% dos ratos no 3º dia, e do 3º dia até o 9º dia as crostas se mantiveram em 30% dos animais. No grupo da colagenase verificaram-se crostas em 10% dos ratos no 3º dia, no 5º dia, 50% dos ratos apresentaram crostas e no último, 20% dos ratos. No grupo controle apareceram as crostas em 10% dos ratos no 3º dia; no 5º dia, as crostas foram observadas em 50% dos animais, e manteve este valor até o último dia da análise. Portanto, pode-se analisar que o grupo banana apresentou menor quantidade de crostas e desenvolveu a cicatrização prévia, sendo o grupo de melhor eficácia neste aspecto.

Quanto à formação do tecido de granulação, observou-se que os grupos da banana e babosa tiveram resultados semelhantes no item granulação, com formação de tecido novo pré-formado no 3º dia e ausente no final do experimento. Nos grupos banana e babosa não ocorreu supuração. No grupo da colagenase houve supuração no 3º dia em 30% dos ratos e após este tempo, esteve ausente. E no grupo controle houve supuração no 3º dia em 40% dos ratos. Sendo assim, foi possível descrever que o extrato da *Musa sapientum* nas feridas realizadas não atuou positivamente na cicatrização por segunda intenção na pele de ratos, com grande poder de cicatrização, quando comparado com os demais tratamentos (ALVES et al., 2011).

Em 2020, Lira e seus colaboradores realizaram um estudo experimental comparativo com feridas cirúrgicas em ratos, tratando-as com solução salina estéril 0,9% (grupo controle negativo), pomada Nebacetin (grupo controle positivo) e três grupos experimentais com extrato de *Aloe vera* nas concentrações de 20%, 50% e 100%. As feridas foram avaliadas microscopicamente e com análises clínicas e macroscópicas. Durante o período experimental, os autores descrevem que quanto à análise macroscópica das lesões, a cicatrização com maior rapidez forma nos grupos que obtiveram a aplicação de *Aloe vera* a 50% e 100% quando comparadas ao grupo controle e ao grupo Nebacetin. O Grupo *Aloe vera* 20% apresentaram um período de cicatrização prolongado, possivelmente devido à menor concentração do extrato da planta, e não agiu efetivamente na lesão. Na análise microscópica, os grupos *A. vera* 50% e 100% foram os que apresentaram, em sua maioria, infiltrado inflamatório leve, além da ausência de focos hemorrágicos, confirmando os achados da análise macroscópica. Sendo que o grupo *A. vera* 100% foi o que mais se aproximou dos resultados do grupo Nebacetin. Os demais grupos apresentaram moderado infiltrado inflamatório.

Em outro estudo experimental, Mercês et al. (2017) também compararam o tratamento de feridas cirúrgicas na região do dorso de ratos tratados com soro fisiológico 0,9%, Regederm® (gel creme à base de frações proteicas bioativas extraídas do látex da

seringueira *Hevea brasiliensis*), e grupo extrato de *Aloe vera* 10%. Após análises microscópicas e macroscópicas, os autores concluíram que o extrato de *A. vera* 10% demonstraram resultados semelhantes quanto à velocidade de cicatrização do grupo Regederm. Os aspectos estéticos e plásticos do grupo experimental apresentaram resultados satisfatórios, com pequenas retrações cicatriciais e sem elevações. Tendo assim, uma aplicabilidade farmacêutica na concentração proposta.

2.3.4 *Melaleuca alternifolia*

Outra planta com ação medicinal é a *Melaleuca alternifolia*, do gênero *Melaleuca*, família *Myrtaceae*; vulgarmente chamada de *Tea Tree Oil* (Figura 3). Devido ao seu óleo essencial é extremamente volátil composto por hidrocarbonetos terpenos, responsável pelas suas propriedades medicinais; dentre essas propriedades medicinais se destacam a ação bactericida, fungicida, antisséptica, anti-inflamatória e imuno-estimulante (CORREIA et al., 2018; OLIVEIRA, BOSQUETTI, 2018; SILVA et al., 2019; NASCIMENTO et al., 2022).



Figura 3- Imagem ilustrativa da *Melaleuca alternifolia*. Fonte: <https://www.raizerplantasparaabelhas.com.br/a-arvore-do-cha-melaleuca-alternifolia-melifera>. Acessado em 08 de fevereiro de 2025.

Amri et al. (2012) estudaram a composição química e as atividades biológicas e microbianas de óleo de *Melaleuca* sp. Os autores puderam afirmar que quanto à atividade bactericida, o óleo demonstrou eficácia contra diferentes cepas como *Staphylococcus aureus*. De Groot e Schmidt (2016) descrevem que a *Melaleuca* sp. pode ser incorporada em diversas formulações tópicas para tratamento de infecções cutâneas devido às suas propriedades antimicrobianas e antifúngicas. Com isso, haveria uma mudança quanto ao tratamento convencional, visando uma menor resistência do microrganismo, e minimizando os efeitos colaterais das medicações alopáticas. Neves et al. (2015), descrevem experimentalmente o uso da *Melaleuca alternifolia* *in vitro* e *in vivo*, no tratamento de otites bacterianas e por leveduras em cães. Os autores relatam que o óleo na concentração de 5% induziu a remissão das otites bacterianas e reduziu a quantidade de leveduras nas otites micóticas. As conclusões deste estudo indicam a viabilidade do óleo de *Melaleuca alternifolia* como opção terapêutica em otites externas em cães, sem apresentar risco de ototoxicidade.

Em outro estudo *in vitro*, Severo et al. (2022) visaram a produção e caracterização de hidrogéis à base de poli (álcool vinílico (PVA) e quitosana (CS) funcionalizados com o óleo essencial visando a aplicação como curativos, e procurando um efeito sinérgico de biomateriais e fitoterápicos com amplos espectros de ação biológica possível de acelerar e ser eficiente no reparo e cicatrização. Os autores concluíram que os hidrogéis funcionalizados com o óleo essencial de *Melaleuca* sp. apresentaram características e propriedades potencialmente úteis para serem utilizados como curativos no tratamento de queimaduras, através de estudos *in vitro*.

Chin e Cordell (2013) realizaram um estudo experimental em feridas contaminadas por *Staphylococcus aureus*, tratados com extrato do óleo de *Melaleuca alternifolia*. Os autores notaram que as feridas tratadas com o óleo exibiram uma cicatrização mais acelerada, com diminuição da concentração bacteriana e revitalização mais rápida da pele. Oliveira e Bosquetti (2018) descrevem o efeito cicatrizante do óleo de *Melaleuca alternifolia* em ratos. Esse estudo revelou que houve uma significativa e discreta diferença entre as feridas tratadas com o óleo fitoterápico quando comparado ao grupo controle (solução salina estéril) no período de até 14 dias de tratamento.

Rocha e colaboradores (2021), realizaram um estudo experimental para avaliar o efeito do hidrolato das folhas de *Melaleuca* sp., sobre a cicatrização de feridas em ratos. Ao final do estudo, os autores concluíram que as feridas dos animais tratados com hidrolato estavam fechadas, correspondente a 91,3% em relação ao controle negativo (solução salina estéril), enquanto, animais com fibrinase (grupo controle positivo) chegaram a apenas 63,9% a mais dos animais controles.

Os benefícios do uso medicinal das plantas no tratamento de feridas, sob forma de pomadas, óleos, infusões e hidrogéis vão desde a acessibilidade e baixo custo até minimização de efeitos colaterais (PIRIZ et al., 2014); sendo assim, um possível substituto desses antibióticos, tornando essa associação de curativos com sistema de liberação controlada com fitoterápicos de ação cicatrizante e antibacteriana uma alternativa promissora para o tratamento dessas feridas crônicas e contaminadas (ORLANDINI et al., 2017; KOGA et al., 2020).

Na Medicina e na Medicina Veterinária, o uso indiscriminado de medicamentos sem prescrição médica, pode parecer inofensiva, porém pode gerar sérios danos à saúde, reações adversas medicamentosas, intoxicações, dificuldade no diagnóstico clínico e na implantação da terapia adequada e inibição da resistência bacteriana (RIVA, PASTOR, SILVA, 2018). Há cada vez uma maior frequência de isolamento de bactérias com a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* multirresistentes principalmente em feridas crônicas dificultando o uso de antibióticos de forma tópica e sistêmica (FONDER et al., 2008). Com isso, estudos nas áreas de farmacologia e biomateriais vem desenvolvendo novos tipos de materiais para curativos, como os hidrogéis que possuem uma propriedade de realizarem uma liberação do fármaco de forma controlada e gradativa (ALAVI et al., 2014; POWERS et al. 2016).

Segundo Franco e Gonçalves (2007) existem inúmeros tipos de curativos que podem ser utilizados com bases antibióticas, antimicrobianas, antissépticas, fitoterápicas e/ou combinadas para tratamento de uma ferida. Para Koga et al. (2020), os requisitos de um bom curativo são a alta absorção de exsudato, de fácil manuseio, que acelere a cicatrização, boa barreira bacteriana e baixo custo.

2.4 Tipos de Curativos

Há uma grande variedade de curativos industrializados, de diferentes bases farmacêuticas e com diversas propostas terapêuticas, que possibilitam um melhor manejo para as distintas condições das feridas. Diversos fatores podem influenciar na escolha do curativo, tais como: o aspecto clínico da ferida, o grau de contaminação, recurso financeiro do paciente, entre outros (FRANCO, GONÇALVES, 2007; KOGA et al., 2020). Quanto aos aspectos clínicos de uma ferida aberta, os curativos que mantêm o aspecto de meio úmido possuem algumas vantagens quando comparadas ao meio seco, como acelerar a angiogênese, estimular a epitelização e formação do tecido de granulação e facilitar a remoção de tecido necrótico e fibrina. Contudo, os curativos úmidos produzem secreções de diferentes tipos, que precisam ser bem identificadas. As feridas

exsudativas, por exemplo, devem ser avaliadas em relação às características e quantidades do exsudato produzido (FRANCO, GONÇALVES, 2007; FONDER et al., 2008).

De acordo com Stoeckel et al. (2006), com os avanços tecnológicos, médicos e farmacêuticos, os curativos que aceleram o processo de cicatrização têm facilitado o manejo das feridas para pacientes humanos e animais. Os hidrocolóides, por exemplo, permitem uma periodicidade de troca de 1 a 7 dias, dependendo do volume de exsudação e podem ser molhados durante o banho sem perder suas propriedades. Os hidrocolóides são constituídos externamente por uma espuma de poliuretano e internamente com pectina, gelatina e carboximetilcelulose (CMC) sódica. Os curativos com estas particularidades possuem um mecanismo de ação que estimula a angiogênese e realiza o desbridamento autolítico, bem como acelera o processo de granulação tecidual. São indicados em feridas abertas não infectadas, com leve a moderada exsudação (FONDER et al., 2008; FRANCO, GONÇALVES, 2007).

Stoeckel et al. (2006) descrevem resultados interessantes dos curativos a vácuo, principalmente em feridas complexas, crônicas e de difíceis resoluções. Sua periodicidade de troca é de dois a cinco dias em média, possui vantagens em relação à efetividade nestas feridas mais profundas e de maior complexidade, porém há a desvantagem em relação ao custo e da necessidade de se manter conectado a bomba de vácuo (FRANCO, GONÇALVES, 2007).

Para Alavi et al. (2014) e Powers et al. (2016), os curativos mais adequados para o controle e aplicação de drogas em feridas crônicas e contaminadas, são os que utilizam os sistemas de liberação controlada, e que necessitam de menos trocas. Um dos curativos que se encaixam dentro das especificações são os hidrogéis. O hidrogel tem um aspecto transparente composto por 2,3 % carboximetilcelulose (CMC), 20% de propilenoglicol (PPG) e 77,7% de água. Este hidrogel de CMC e PPG têm a função de absorver e debridar tecidos necróticos e fibróticos e ainda pode ser utilizado em conjunto com fármacos antibacterianos, reduz a dor e edema, e favorece o processo de cicatrização (RODRIGUES et al., 2015; MONTEIRO et al., 2020). A periodicidade das trocas dos curativos é a cada um a três dias em média; são indicados em feridas superficiais moderadas de baixa produção de exsudato, para remoção de tecidos desvitalizados, crostas e fibrinas (FRANCO, GOLÇALVES, 2007).

O hidrogel de CMC é um tipo de sistema de liberação controlada de fármacos muito utilizado para o tratamento de feridas crônicas. Eles são projetados para absorver exsudato de uma ferida e reidratá-la. Muitos autores indicam a utilização desses hidrogéis para o tratamento de úlceras diabéticas, que são sabidamente feridas crônicas e muitas vezes colonizadas por *Staphylococcus aureus* (DUMVILLE et al., 2013; CALÓ, KHUTORYANSKIY, 2015; REMY et al., 2016).

Apesar de inúmeros curativos e fármacos sintéticos terem sido desenvolvidos nos últimos anos, as substâncias de origem animal e vegetal para fins medicinais ainda vêm sendo utilizados como alternativas de tratamentos na cicatrização de feridas, com crescente investimento em pesquisas e na produção desses produtos de origem natural. Um dos principais benefícios do uso medicinal das plantas no tratamento de feridas vão desde a acessibilidade, baixo custo, e menores efeitos colaterais quanto à toxicidade em comparação com um agente químico sintético (ESTEVÃO et al., 2013; PIRIZ et al., 2014).

3 MATERIAL E MÉTODOS

A experimentação prática seguiu os princípios éticos em conformidade ao COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal), com base no Protocolo para

Uso de Animais na Pesquisa, e posterior aprovação do mesmo pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estácio de Sá, número 001/2023, em 31 de janeiro de 2023.

3.1 Preparo da Associação Fitoterápica

O óleo essencial de *Melaleuca* (*Melaleuca alternifolia*) foi adquirido comercialmente da empresa Via Aroma. A mucilagem foi extraída das folhas da planta *Aloe vera* obtida da Farmácia Viva da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) (exsicata RBR00056828) com a colaboração do grupo de pesquisa do professor Douglas Siqueira de Almeida Chaves do Laboratório de Química de Bioativos Naturais (LQBioN) do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. As folhas foram lavadas em água corrente para remoção de resíduos, cortadas em sua extremidade e mantidas em posição vertical por até duas horas para eliminação da aloína. Em seguida, a mucilagem foi extraída das folhas e triturada com auxílio de liquificador seguido de ultraturrax até completa homogeneização.

O hidrogel à base do polímero carboximetilcelulose foi desenvolvido e a mucilagem de *aloe vera* e óleo essencial de *melaleuca* foram incorporados ao mesmo. As formulações foram avaliadas quanto às características físico-químicas como aspecto, pH e viscosidade e submetidas a ensaios de estabilidade física preliminar, centrifugação, ciclo de congelamento e descongelamento, temperatura, a fim de garantir a qualidade físico-química da formulação. O desenvolvimento e caracterização do hidrogel foram realizados com a colaboração do grupo de pesquisa da professora Yara Peluso Cid do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária, Setor de Desenvolvimento e Análises Farmacêuticas (LQEPV-DAFAr) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

3.2 Amostragem Experimental

Foram utilizados 24 ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar, machos, hípidos, pesando entre 200 e 300 gramas, oriundos do biotério do Núcleo de Animais de Laboratórios (NAL), da Universidade Federal Fluminense, localizada na Alameda Barros Terra, Niterói, RJ. Os animais foram ambientados e climatizados por 7 dias para adaptação, recebiam água e alimento *ad libitum* e foram alojados em gaiolas individuais, forradas por maravalha trocada a cada 3 dias. Os animais foram mantidos em temperatura média de 21°C para melhor conforto e ciclo de claro-escuro (7:00-19:00 claridade; 19:00-7:00 escuro).

3.3 Ferida Experimental

Para a anestesia destes ratos utilizou-se a associação de cloridrato de cetamina 10% (Ketamina Agener 10%, Agener, São Paulo) na dose de 0,1ml/100g e cloridrato de xilazina 2% (Xilazin, Syntec, Tamporé) na dose de 0,25ml/100g por via intraperitoneal, e após essa, indução anestésica. Com os animais em decúbito ventral, realizou-se a tricotomia ampla da região dorsal. Após a antisepsia da região com digliconato de clorexidina degermante a 2% (Riohex 2%, Rioquímica, São José do Rio Preto) e digliconato de clorexidine alcoólico a 0,5% (Riohex 0,5%, Rioquímica, São José do Rio Preto), realizaram-se duas feridas esféricas de aproximadamente 1,5cm de diâmetro, se estendendo da pele e panículo carnoso até a fáscia muscular superficial. Estas feridas foram contaminadas por colônias de bactérias de *Staphylococcus aureus* multirresistentes, provenientes do laboratório de microbiologia da UFRRJ.

3.4 Produção e Aplicação do Inóculo Bacteriano

A formulação fitoterápica proposta foi avaliada quanto à atividade bacteriana, através do teste de difusão em disco, frente às cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus* provenientes da bacterioteca do Labac (Laboratório de Bacteriologia) do Instituto de Veterinária da UFRRJ, com a colaboração do grupo de pesquisa da professora Shana de Mattos de Oliveira Coelho, do Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

Para a preparação do inóculo, utilizou-se haste de microbiologia reutilizadas, as placas com os cultivos bacterianos, frasco de vidro com 0,5ml de soro fisiológico. De forma asséptica, a haste passava por aquecimento e desinfecção, coletava-se o material na placa de Petri e dispunha este conteúdo em um tubo de vidro contendo 0,5 ml de soro fisiológico 0,9%. Com uma seringa de 1ml, esse inóculo era puncionado e aplicado em cada ferida 0,25 ml (Figura 4). Após a aplicação do inóculo, no dia seguinte a este procedimento eram realizadas citologias das feridas para confirmar a contaminação das feridas e início do tratamento.

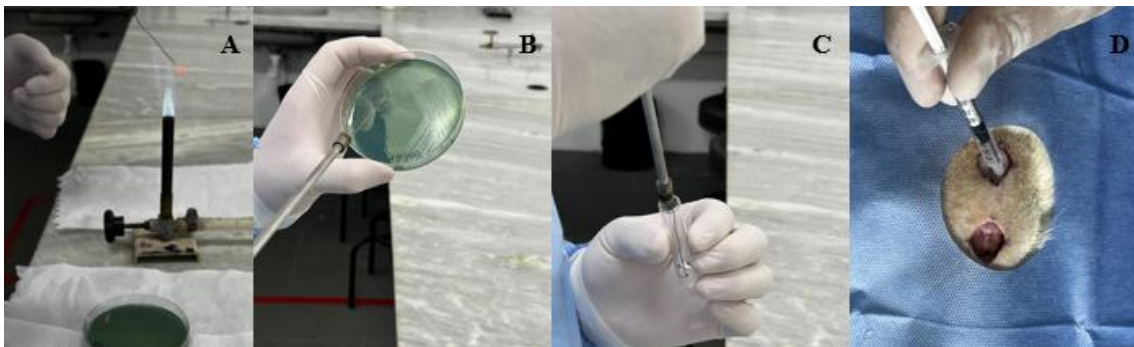


Figura 4- Produção do inóculo e de sua aplicação. A. Aquecimento da haste microbiológica reutilizável. B. Coleta da cepa de *S. aureus* na placa de Petri. C. Mistura da cepa com soro fisiológico 0,9%. D. Aplicação do inóculo nas feridas.

As feridas foram classificadas como G1 (feridas contaminadas por cepas de *S. aureus* multirresistente e tratadas unicamente com soro fisiológico); G2 (feridas contaminadas por cepas *S. aureus* multirresistentes, tratadas com pomada de collagenase com cloranfenicol) e G3 (feridas contaminadas por cepas *S. aureus* multirresistentes, tratadas com hidrogel de extrato de *Aloe vera* e *Melaleuca alternifolia*). As contaminações das feridas foram confirmadas com suas citologias, 24 horas após sua inoculação.

3.5 Grupos Experimentais

Visando redução do número de animais utilizados e seguindo metodologia semelhante à descrita por Santos, Júnior e Cunha (2019); no experimento foram realizadas duas feridas esféricas em cada animal, com um espaço entre as feridas de 1,5 cm (Figura 2). Foi determinado que as feridas craniais seriam sempre classificadas como G1, ou seja, o controle negativo. E as feridas caudais seriam as classificadas em G2 e G3, ou seja, grupo controle positivo e grupo experimental respectivamente. Os animais foram organizados então em conjuntos, os quais um grupo fez o comparativo entre controle negativo (ferida cranial - G1) e controle positivo (feridas caudais - G2), e outro conjunto com um grupo que fez comparativo entre controle negativo (ferida cranial - G1) e experimental (feridas caudais - G3). As avaliações macroscópicas, histológicas,

citológicas e anatomopatológicas foram realizadas nos 3º, 7º e 14 dias após o início do tratamento. Cada grupo experimental possuía quatro animais



Figura 5- Imagem ilustrativa das duas feridas esféricas, localizadas no dorso do animal para realização do experimento com as identificações das feridas craniais e caudais.

Portanto, os grupos do presente estudo se organizaram da seguinte forma:

Grupo G1G2 3 dias – Feridas contaminadas com *S. aureus*; tratadas com soro fisiológico (ferida cranial) e collagenase com cloranfenicol (ferida caudal). As avaliações macroscópicas, histológicas, citológicas e anatomopatológicas foram realizadas no 3º dia após o início do tratamento.

Grupo G1G2 7 dias - Feridas contaminadas com *S. aureus*; tratadas com soro fisiológico (ferida cranial) e collagenase com cloranfenicol (ferida caudal). As avaliações macroscópicas, histológicas, citológicas e anatomopatológicas foram realizadas no 7º dia após o início do tratamento.

Grupo G1G2 - 14 dias - Feridas contaminadas com *S. aureus*; tratadas com soro fisiológico (ferida cranial) e collagenase com cloranfenicol (ferida caudal). As avaliações macroscópicas, histológicas, citológicas e anatomopatológicas foram realizadas no 14º dia após o início do tratamento.

Grupo G1G3 3 dias - Feridas contaminadas com *S. aureus*; tratadas com soro fisiológico (ferida cranial) e gel fitoterápico (ferida caudal). As avaliações macroscópicas, histológicas, citológicas e anatomopatológicas foram realizadas no 3º dia após o início do tratamento.

Grupo G1G3 7 dias - Feridas contaminadas com *S. aureus*; tratadas com soro fisiológico (ferida cranial) e gel fitoterápico (ferida caudal). As avaliações macroscópicas, histológicas, citológicas e anatomopatológicas foram realizadas no 7º dia após o início do tratamento.

Grupo G1G3 14 dias - Feridas contaminadas com *S. aureus*; tratadas com soro fisiológico (ferida cranial) e gel fitoterápico (ferida caudal). As avaliações macroscópicas, histológicas, citológicas e anatomopatológicas foram realizadas no 14º dia após o início do tratamento.

3.6 Eutanásia

Os animais foram eutanasiados nos dias 3, 7 e 14º pós-operatório conforme as normas do CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal). Para este procedimento realizou-se Isoflurano 5% (Isoflurano 100%, Biochimico, Rio de Janeiro) por meio de uma câmara de plástico rígida e transparente até a indução da hipnose e após o “relaxamento” do animal foi aplicado Tiopental (Thiopentax 1g, Cristália, Itapira) na dose de 120 mg/kg, por via intraperitoneal.

3.7 Análise “*Ante Mortem*”

As feridas foram avaliadas macroscopicamente com observação dos seguintes parâmetros: edema, coloração das feridas, tecidos desvitalizados, aspecto da exsudação e crostas; os dados foram registrados por fotos nos dias 3, 7 e 14 dias; e o estudo morfométrico, através da mensuração do halo da ferida desde o dia da indução da mesma utilizando-se um paquímetro digital, marca MTX Vernier Caliper (Figura 6). Antes da eutanásia ética dos animais, o processo cicatricial da lesão era analisado de forma morfométrica, e com auxílio de uma lâmina de vidro para microscopia, realizava-se o “*imprint*” das lesões e estas foram coradas com panótico para avaliação citológica para mensuração de processo inflamatório e infeccioso. Neste processo foram realizadas as contagens de células como neutrófilo, macrófagos, células bacterianas e eritrócitos. A densidade de células e bactérias foi avaliada visualmente e classificada de forma semiquantitativa, como: “ausente”, “rara”, “moderada” ou “acentuada”.

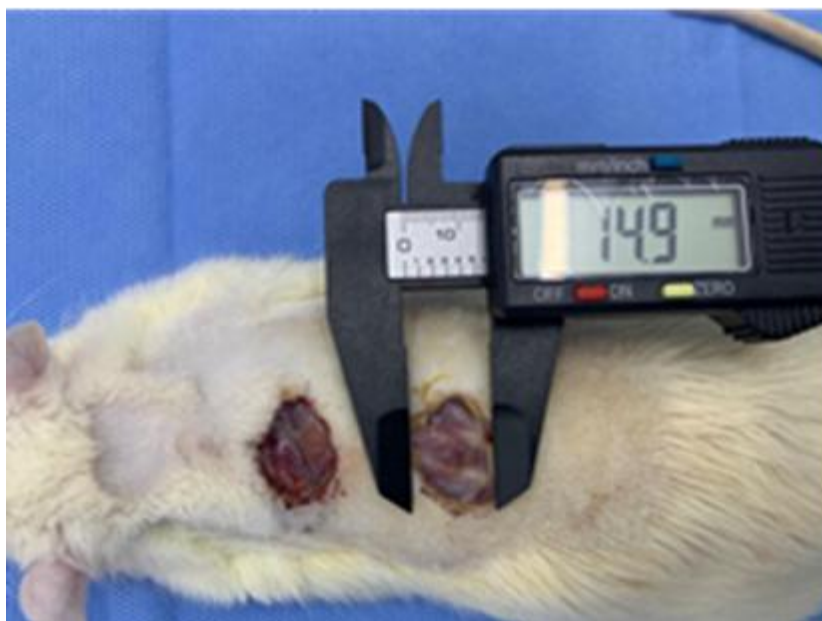


Figura 6- Imagem ilustrativa das medições realizadas “*ante mortem*” das feridas com paquímetro digital

Para melhor classificação, foi criada uma tabela adaptada por Fernandes (2020), com pontuações conforme as observações encontradas como: edema, coloração das feridas, tecidos desvitalizados, aspecto da exsudação e formação de crostas (Tabela 1).

Tabela 1. Aspectos macroscópicos das feridas experimentais contaminadas, produzidas nos dorsos dos ratos com bases nos parâmetros em pontuações, adaptada de Fernandes (2020).

Achados Clínicos	Intensidades dos Achados Macroscópicos das Feridas Contaminadas			
	Ausente	Discreto	Moderado	Acentuado
Edema	0	1	2	3
Tecido Desvitalizado	0	1	2	3
Crostras	0	1	2	3
Exsudação	0	1	2	3
	Ausente	Translúcido	Purulento	Hemorrágico
Aspecto da Exsudação	0	1	2	3
	Pálido	Róseo	Azulado	Enegrecido
Coloração da Ferida	0	1	2	3

3.8 Avaliações “*Post Mortem*”

Após a eutanásia seguindo os preceitos experimentais e éticos, foram removidos fragmentos de pele com as lesões. Com auxílio de uma lâmina de bisturi, pinças e tesouras cirúrgicas, as áreas das lesões foram retiradas contendo pele e a camada mais profunda com a fáscia muscular superficial. As amostras foram armazenadas em frascos plásticos, devidamente identificadas e fixadas em solução de formaldeído a 10 % tamponado.

As análises foram realizadas pelo Laboratório de Histopatologia do Setor de Anatomia Patológica da UFRRJ. Após fixação, as amostras foram clivadas, desidratadas, emblocadas em parafina previamente aquecida e cortadas em micrótomo com espessura de 4µ para confecção das lâminas, que foram coradas em Hematoxilina–Eosina (HE) e Tricrômico de Masson (*kit Suetam*). Foram avaliadas de forma qualitativa e quantitativa (graus leve, moderado ou acentuado), presença de infiltrado inflamatório, angiogênese e fibroplasia.

Para melhor avaliação histológica da formação crostosa, infiltrado de processo inflamatório, deposição de matriz extracelular, neovascularização e reepitelização, conforme o protocolo de Estevão et al. (2019), criou-se uma escala de 0 a 3 para cada parâmetro, o qual o escore zero (0) representa ausência do parâmetro testado; escore um (1) discreto; dois (2) moderado e três (3) acentuado.

Após remover as feridas, os animais foram posicionados em decúbito dorsal e realizaram-se celiotomias medianas pré-retroumbilicais para remoção e mensuração de rins, fígado e baço (Figura 7), encaminhados para análise histológica a fim avaliar possível toxicidade referente ao gel fitoterápico utilizado.

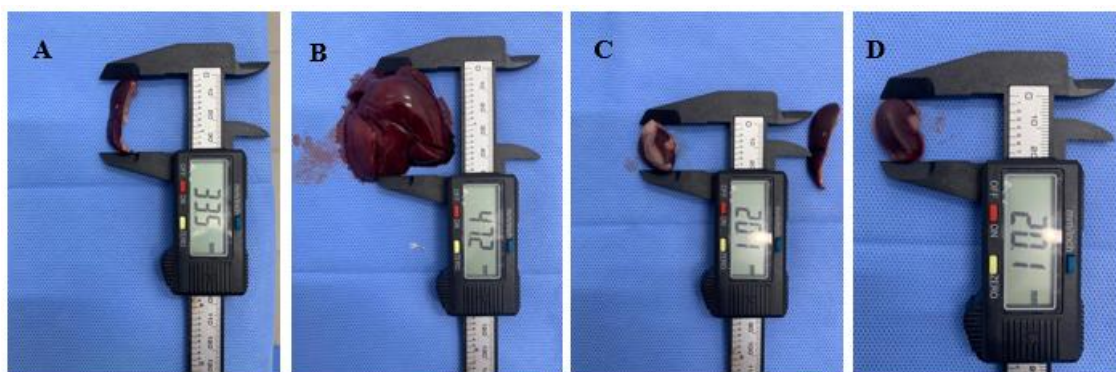


Figura 7 – Imagem ilustrativa da avaliação morfológica e morfométrica dos órgãos com paquímetro. **A.** Baço; **B.** Fígado; **C.** Rim direito; **D.** Rim esquerdo.

3.9 Análises Estatísticas

Este estudo foi conduzido utilizando-se o *software* R, versão 4.4.2 (R Core Team, 2024). Todas as análises foram realizadas considerando-se um nível de significância de 5% ($p < 0,05$), sendo que valores de p inferiores a esse limite foram interpretados como estatisticamente significativos. Como o presente estudo possuía múltiplas variáveis simultaneamente e de dimensionalidade elevada, optou-se por realizar a Análise de Componentes Principais (PCA).

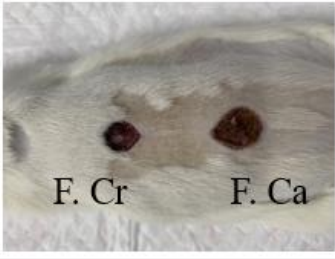
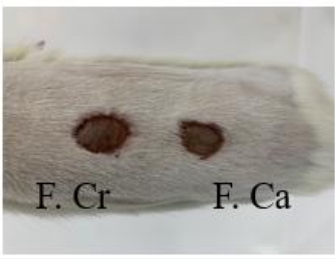
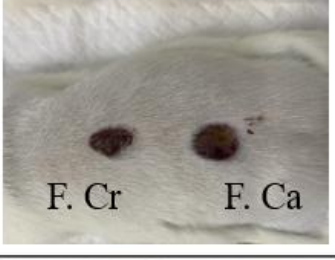
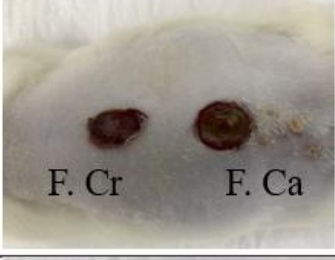
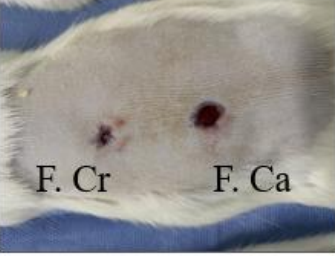
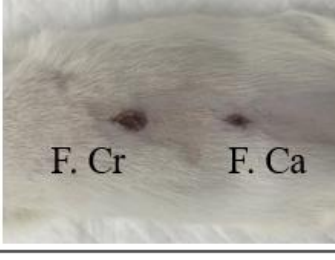
A normalidade dos dados foi testada pelo teste de *Shapiro-Wilk* e teste de *Breusch-Pagan* para garantir que a heterocedasticidade não era um problema significativo no modelo escolhido.

4. RESULTADOS

4.1 Avaliação Morfométrica

Durante o período proposto para o tratamento das feridas experimentais, o processo de cicatrização foi acompanhado realizando registros fotográficos no 3º, 7º e 14º dia do tratamento, como demonstrado no Quadro 1. Os curativos foram realizados diariamente nos mesmos horários, sempre pelo mesmo manipulador e de forma asséptica.

Quadro 1 – Registros fotográficos das evoluções cicatriciais dos grupos G1G2 e G1G3 nos dias 3, 7 e 14 dias de tratamento. F.Cr. - Ferida cranial; F.Ca.- Ferida Caudal.

Dia	Grupo G1G2	Grupo G1G3
3		
7		
14		

Durante todo o processo de avaliação clínica das feridas, nos grupos G1G2 e G1G3, não se observou exsudação; somente um animal do Grupo G1G3 (7 dias), apresentou discreta exsudação serohemorrágica na ferida cranial, que posteriormente cicatriza de forma satisfatória. Entre os 3º e 7º dias do tratamento houve a formação de crosta nas lesões e, desta forma, no 7º dia, foi realizado o debridamento mecânico conservador com auxílio de uma lâmina de bisturi tamanho 15. Esta manobra foi realizada em todos os animais a fim de evitar a permanência das crostas e assim retardar o processo de cicatrização. Mesmo após remoção, ainda foi possível observar pequena quantidade de crosta nos grupos G1G2 (14 dias) e G1G3 (14 dias), em uma ferida caudal G3 de um animal (Rato 1) e em três feridas caudais G2 nos Ratos 1, 2 e 4. As feridas tratadas com hidrogel de extrato de *Aloe vera* e *Melaleuca alternifolia* produziram menos crostas do que as feridas tratadas com soro fisiológico estéril 0,9% e com pomada à base de cloranfenicol e collagenase.

A diminuição das lesões ocorreu em todos os grupos experimentais, com diminuição mais significativa a partir do 7º dia, iniciando-se das margens para o centro da ferida. No 14º dia, as feridas estavam quase totalmente cicatrizadas, porém as feridas G3 apresentaram uma discreta evolução no tempo de cicatrização quando comparados às feridas G1 e G2.

Cada um dos seis grupos experimentais foi composto por 4 animais e conforme descrito anteriormente, cada grupo recebeu avaliação morfométrica nos dias 3, 7 e 14 dias de tratamento, nos quais as medições do grupo G1G2 foram mensuradas com auxílio de um paquímetro digital (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2 – Valores morfométricos das feridas do grupo G1G2 quanto à largura, comprimento e altura, destacado em 3, 7 e 14 dias de tratamento. F. Cr (feridas craniais), F. Ca. (feridas caudais).

Grupo Experimental G1G2								
3 dias								
Medidas das feridas (cm)								
Aspectos Morfométricos	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4	
	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.
Largura	1,4	1,56	1,5	1,4	1,61	1,52	1,49	1,48
Comprimento	1,5	1,46	1,4	1,6	1,58	1,55	1,5	1,55
Altura	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,14	0,16
7 dias								
Medidas das feridas (cm)								
Aspectos Morfométricos	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4	
	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.
Largura	0,68	0,78	0,75	1,22	0,75	0,65	0,76	1,15
Comprimento	0,74	1,32	0,85	1,51	1	0,72	1,2	1,45
Altura	0,1	0,1	0,12	0,13	0,14	0,12	0,13	0,12
14 dias								
Medidas das feridas (cm)								
Aspectos Morfométricos	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4	
	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.
Largura	0,48	0,44	0,29	0,59	0,31	0,53	0,27	0,39
Comprimento	0,72	0,57	0,29	0,64	0,71	0,94	0,4	0,51
Altura	0,04	0,06	0,06	0,06	0,07	0,08	0,03	0,06

Tabela 3 – Valores da média e desvio padrão obtidas das análises estatísticas referentes às medições de altura, comprimento e largura das feridas experimentais do grupo G1G2, destacadas em 3, 7 e 14 dias após tratamento.

G1G2				
	Feridas	Aspectos	Média	Desvio Padrão
3 dias	Cranial	Largura	1,5	0,086
		Comprimento	1,495	0,0737
		Altura	0,145	0,0058
	Caudal	Largura	1,49	0,0683
		Comprimento	1,54	0,0583
		Altura	0,1525	0,005
	Feridas	Aspectos	Média	Desvio Padrão
7 dias	Cranial	Largura	0,735	0,037
		Comprimento	0,9475	0,1992
		Altura	0,1225	0,0171
	Caudal	Largura	0,95	0,278
		Comprimento	1,25	0,3621
		Altura	0,1175	0,0126
	Feridas	Aspectos	Média	Desvio Padrão
14 dias	Cranial	Largura	0,3375	0,0964
		Comprimento	0,53	0,21
		Altura	0,3375	0,0964
	Caudal	Largura	0,4875	0,0896
		Comprimento	0,665	0,1909
		Altura	0,05	0,0183

Os grupos G1G3 de 3, 7 e 14 dias de tratamento também foram organizados em tabelas para melhor interpretação dos dados estatísticos. A mensuração das feridas também foi realizada com paquímetro digital (Tabelas 4 e 5).

Tabela 4 - Valores morfométricos das feridas do grupo G1G3 quanto a largura, comprimento e altura, destacado em 3, 7 e 14 dias de tratamento. F. Cr (feridas craniais), F. Ca. (feridas caudais).

Grupo Experimental G1G3								
3 dias								
Medidas das feridas (cm)								
Aspectos	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4	
	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.
Largura	1,38	1,38	1,28	1,27	1,41	1,2	1,3	1,4
Comprimento	1,36	1,39	1,38	1,35	1,46	1,25	1,38	1,4
Altura	0,2	0,15	0,2	0,12	0,15	0,12	0,18	0,15
7 dias								
Medidas das feridas (cm)								
Aspectos	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4	
	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.
Largura	0,87	1	0,93	1,2	0,95	1	0,65	1
Comprimento	1,3	1,38	1,37	1,3	1,18	1	0,75	1,09
Altura	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,15
14 dias								
Medidas das feridas (cm)								
Aspectos	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4	
	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.
Largura	0,28	0,38	0,35	0,32	0,32	0,25	0,37	0,33
Comprimento	0,58	0,68	0,56	0,45	0,48	0,49	0,69	0,41
Altura	0,08	0,08	0,08	0,07	0,07	0,07	0,07	0,08

Tabela 5 - Valores da média e desvio padrão obtidas das análises estatísticas referentes às medições de altura, comprimento e largura das feridas experimentais do grupo G1G3, destacadas em 3, 7 e 14 dias pós tratamento.

G1G3				
Feridas		Aspectos	Média	Desvio Padrão
3 dias	Cranial	Largura	1,3425	0,0624
		Comprimento	1,395	0,0443
		Altura	0,1825	0,0236
	Caudal	Largura	1,3125	0,0943
		Comprimento	1,3475	0,0685
		Altura	0,135	0,0173
Feridas		Aspectos	Média	Desvio Padrão
7 dias	Cranial	Largura	0,85	0,1376
		Comprimento	1,15	0,278
		Altura	0,1	0
	Caudal	Largura	1,05	0,1
		Comprimento	1,1925	0,1773
		Altura	0,1125	0,025
Feridas		Aspectos	Média	Desvio Padrão
14 dias	Cranial	Largura	0,33	0,0964
		Comprimento	0,5775	0,0866
		Altura	0,075	0,0058
	Caudal	Largura	0,32	0,0535
		Comprimento	0,5075	0,1195
		Altura	0,075	0,0058

Gráfico 1 – Gráfico representativo do processo de cicatrização em relação à altura média das lesões nos períodos de tempo de 3, 7 e 14 dias de tratamento. G1 (feridas contaminadas por cepas de *S. aureus* multirresistentes e tratadas unicamente com soro fisiológico); G2 (feridas contaminadas por cepas de *S. aureus* multirresistentes, tratadas com pomada de collagenase com cloranfenicol) e G3 (feridas contaminadas por cepas de *S. aureus* multirresistentes, tratadas com hidrogel de mucilagem de *Aloe vera* e óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*).

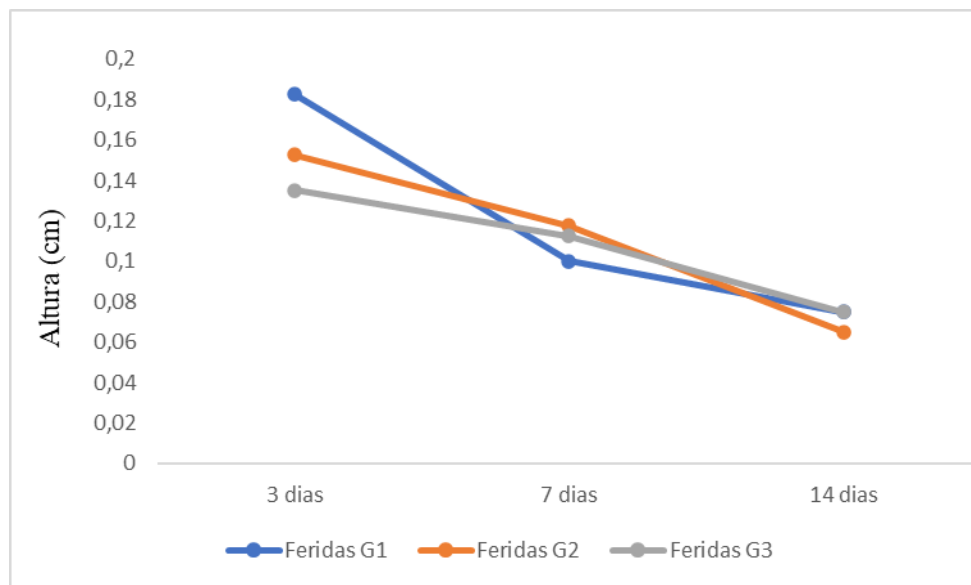


Gráfico 2 – Gráfico representativo da evolução cicatricial em relação à largura média das lesões no período de 3, 7 e 14 dias de tratamento. G1 (feridas contaminadas por cepas de *S. aureus* multirresistentes e tratadas unicamente com soro fisiológico); G2 (feridas contaminadas por cepas de *S. aureus* multirresistentes, tratadas com pomada de collagenase com cloranfenicol) e G3 (feridas contaminadas com cepas de *S. aureus* multirresistente tratadas com hidrogel de mucilagem de *Aloe vera* e óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*).

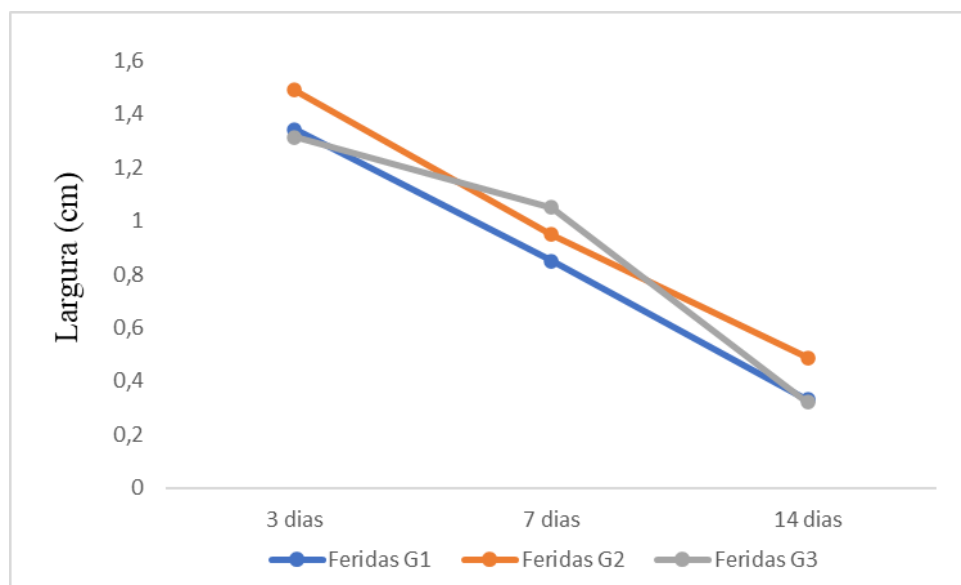
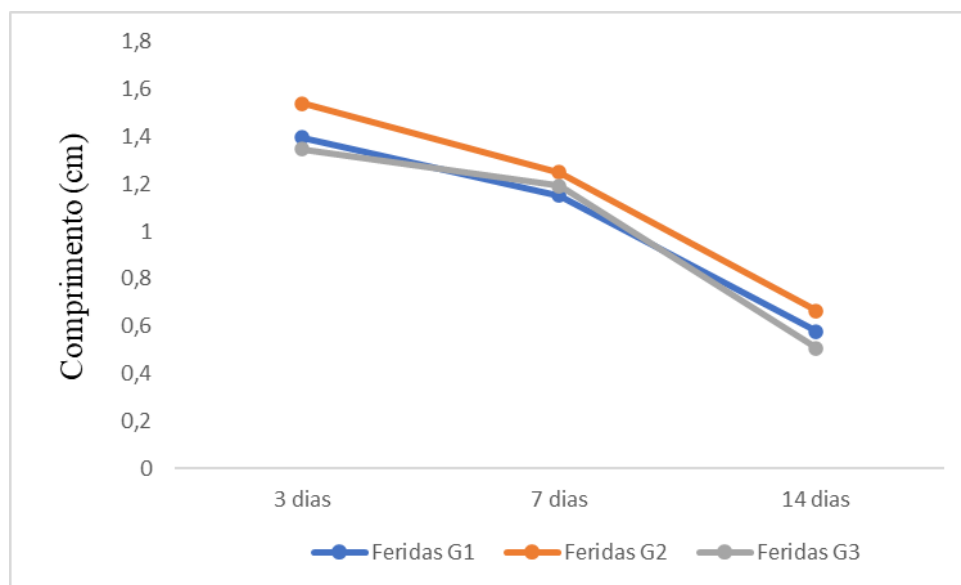


Gráfico 3 – Representação gráfica do processo evolutivo das lesões em relação ao comprimento médio no período de tempo de 3, 7 e 14 dias de tratamento. G1 (feridas contaminadas por cepas de *S. aureus* multirresistentes e tratadas unicamente com soro fisiológico); G2 (feridas contaminadas por cepas de *S. aureus* multirresistentes, tratadas com pomada de collagenase com cloranfenicol) e G3 (feridas contaminadas por cepas de *S. aureus* multirresistentes, tratadas com hidrogel de mucilagem de *Aloe vera* e óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*).



4.2 Avaliação Macroscópica

Assim como as avaliações morfométricas, o processo cicatricial das lesões também foi avaliado quanto aos aspectos clínicos e macroscópicos, obtendo-se parâmetros quantitativos e qualitativos. Em relação às análises clínicas das feridas, foram avaliadas nos seis grupos experimentais presença de edema, coloração das feridas, tecidos desvitalizados, aspecto da exsudação e crostas. Abaixo, encontram-se as Tabelas 6 e 7 que demonstram esses aspectos ao longo do período cirúrgico experimental de 3, 7 e 14 dias.

Tabela 6 – Escores das feridas do grupo G1G2 quanto aos aspectos clínicos de edema, a coloração das feridas, de tecidos desvitalizado, aspecto da exsudação e crostas, organizados quanto ao período de tempo proposto de 3, 7 e 14 dias de tratamento. F. Cr (feridas craniais), F. Ca. (feridas caudais).

G1G2								
3 dias								
Aspectos	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4	
	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.
Edema	0	0	0	0	1	0	0	0
Coloração	1	1	1	1	2	1	2	1
Tecido Desvitalizado	0	0	0	0	1	0	0	0
Exsudação (quantidade)	0	0	1	1	1	1	1	0
Exsudação (aspecto)	0	0	1	1	1	1	1	0
Presença de crosta	2	1	2	2	2	1	2	1
7 dias								
Aspectos	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4	
	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.
Edema	0	0	0	0	0	0	0	0
Coloração	1	0	1	0	1	0	1	0
Tec. Desvitalizado	0	0	0	0	1	0	0	0
Exsudação (quantidade)	1	0	0	0	1	0	1	1
Exsudação (aspecto)	1	0	0	0	2	0	1	1
Presença de crosta	2	2	2	2	2	2	2	2
14 dias								
Aspectos	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4	
	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.
Edema	0	0	0	0	0	0	0	0
Coloração	1	1	1	1	1	1	0	1
Tec. Desvitalizado	0	0	0	0	0	0	0	0
Exsudação (quantidade)	0	0	0	0	0	0	0	0
Exsudação (aspecto)	0	0	0	0	0	0	0	0
Presença de crosta	1	1	1	1	1	0	0	1

Tabela 7 – Pontuações das feridas do grupo G1G3 quanto aos aspectos clínicos de edema, a coloração das feridas, tecido desvitalizado, aspecto da secreção e crostas, organizadas quanto ao período de tempo proposto de 3, 7 e 14 dias de tratamento. Legendas: F. Cr (feridas craniais), F. Ca. (feridas caudais).

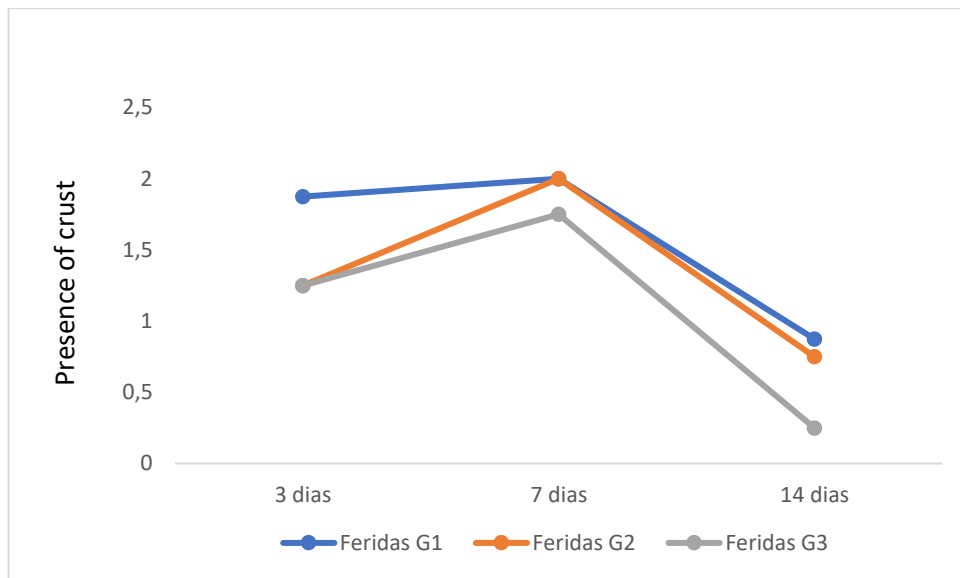
G1G3								
3 dias								
Aspectos	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4	
	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.
Edema	0	0	0	0	0	0	0	0
Coloração	1	1	1	1	1	1	1	1
Tec. Desvitalizado	0	0	0	0	0	0	0	0
Exsudação (quantidade)	1	0	0	0	0	0	1	0
Exsudação (aspecto)	1	0	0	0	0	0	1	0
Presença de crosta	2	1	2	2	2	1	1	1

7 dias								
Aspectos	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4	
	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.
Edema	0	0	0	0	0	0	0	0
Coloração	1	1	1	1	1	1	1	1
Tecido Desvitalizado	0	0	0	0	0	0	0	0
Exsudação (quantidade)	0	0	0	0	0	0	1	0
Exsudação (aspecto)	0	0	0	0	0	0	3	0
Crosta	2	2	2	1	2	2	2	2

14 dias								
Aspectos	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4	
	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.	F. Cr.	F. Ca.
Edema	0	0	0	0	0	0	0	0
Coloração	1	1	1	1	1	1	1	1
Tecido Desvitalizado	0	0	0	0	0	0	0	0
Exsudação (quantidade)	0	0	0	0	0	0	0	0
Exsudação (aspecto)	0	0	0	0	0	0	0	0
Crosta	1	1	1	0	1	0	1	0

Os indicadores qualitativos, tais como, edema, presença e características da exsudação, crostas e coloração das feridas, são de classificações interpretativas. Para isso, optou-se em produzir uma classificação tendo como base parâmetros de pontuações, descritos por Fernandes (2020), o que facilitou um melhor entendimento dos dados estatísticos ao longo da evolução cicatricial no tempo proposto. Um indicador clínico importante para avaliação no processo de cicatrização foi a formação de crosta. Durante o processo de cicatrização, houve um aumento na produção de crosta, em média, de todas as feridas do 3º para o 7º dia de tratamento, porém do 7º ao 14º dia, houve um decréscimo substancial, principalmente nas feridas tratadas pelo hidrogel fitoterápico (Gráfico 4).

Gráfico 4 – Gráfico representativo da produção média de crostas das feridas experimentais G1, G2 e G3 nos dias 3, 7 e 14 de tratamento. G1 (feridas contaminadas por cepas de *S. aureus* multirresistentes e tratadas unicamente com soro fisiológico); G2 (feridas contaminadas por cepas de *S. aureus* multirresistentes, tratadas com pomada de collagenase com cloranfenicol) e G3 (feridas contaminadas por cepas de *S. aureus* multirresistentes, tratadas com hidrogel de mucilagem de *Aloe vera* e óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*).



Em relação à coloração das feridas, não houve mudanças significativas, mantendo-se estável (leve) na maioria dos grupos, tendo em sua maioria uma maior classificação de feridas de coloração rósea e pálida. Em nenhuma das classificações verificou-se coloração enegrecida. Em relação à presença de exsudação nas lesões, houve um maior predomínio de feridas sem exsudação (n=36), e tanto no grupo G1G2 quanto no G1G3 de 14 dias, não havia exsudação em nenhum dos animais, possivelmente devido à fase final da cicatrização das feridas, na fase de maturação.

Outro dado importante, quanto aos aspectos clínicos das feridas no presente estudo, foi o fato de nenhum dos seis grupos experimentais possuir exsudação de característica purulenta. Podemos afirmar que tanto o hidrogel fitoterápico quanto a pomada de collagenase e cloranfenicol possuíram clinicamente uma satisfatória atividade antimicrobiana.

Para a análise estatística das variáveis quantitativas (comprimento, largura e altura) e qualitativas (clínicas e macroscópicas), optou-se pela técnica de redução de dimensionalidade, como a Análise de Componentes Principais (PCA). No presente experimento, os dados foram reduzidos a uma dimensão, representada pelo primeiro componente principal (Dim 1). As variáveis altura, largura e comprimento, foram fortemente associadas a Dim 1, o que significa que a Dim1 capturou, essencialmente, as variações morfométricas das feridas. A formação de crosta teve uma relação oposta (negativa), o que faz sentido, pois quando acentuada, atrapalha o processo de cicatrização (Figura 8).

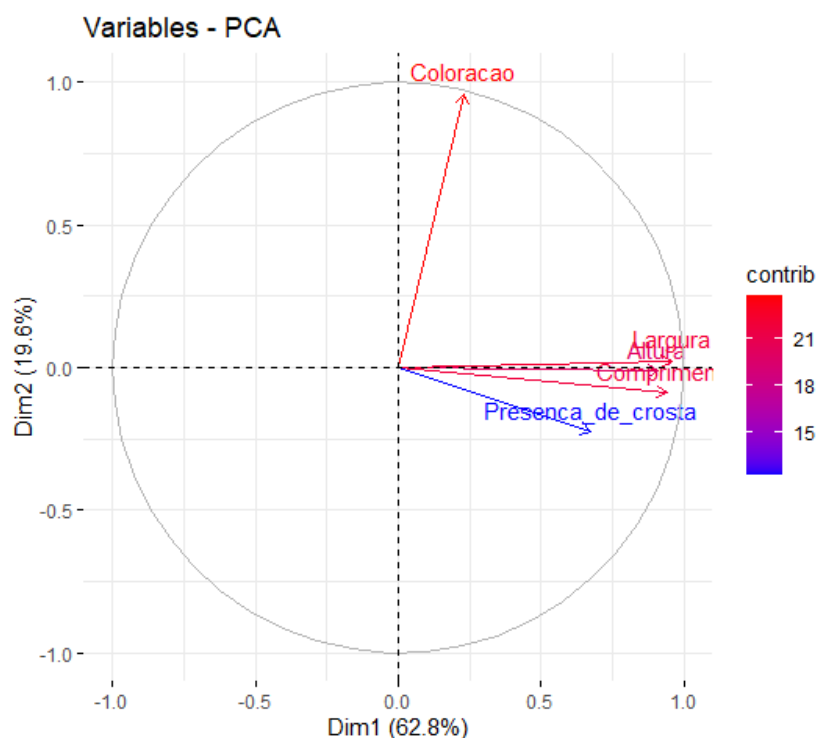


Figura 8 – Aplicação gráfica da Análise de Componentes Principais (PCA).

A figura 9, demonstra como a variável Dim1 auxiliou na interpretação estatística do índice de cicatrização ao longo do processo de regeneração das lesões. Pode-se perceber que não há diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos com pomada comercial e gel fitoterápico.

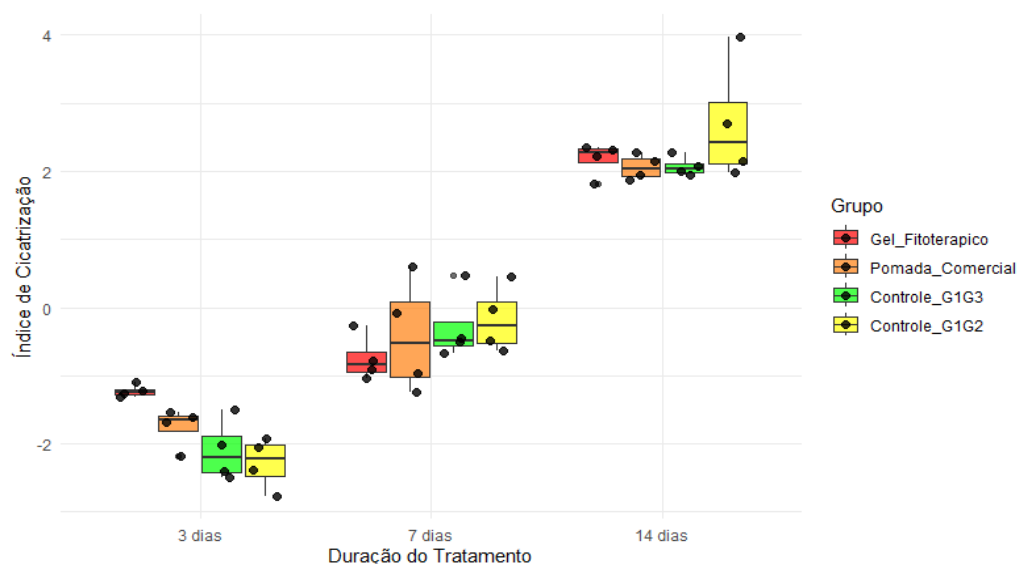


Figura 9 - Boxplot do índice de Cicatrização por Grupo e Duração

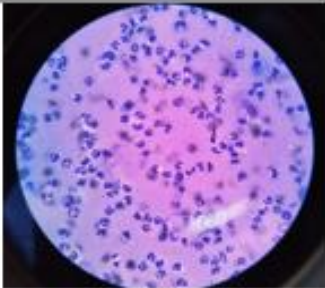
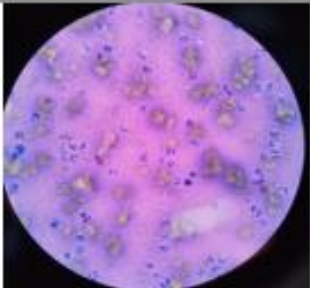
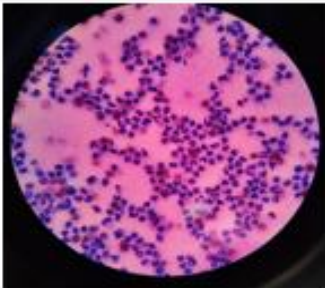
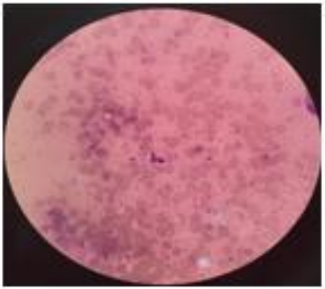
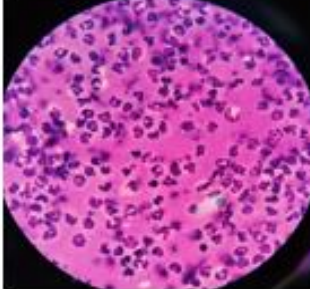
4.3 Avaliação Citológica

O Quadro 2 refere-se aos registros fotográficos feitos das citologias das feridas G2 e G3 nos períodos de 3, 7 e 14 dias de tratamento para avaliação antimicrobiana da

pomada de collagenase com cloranfenicol e do hidrogel fitoterápico, respectivamente. Para esta avaliação, realizou-se a contagem de células inflamatórias como neutrófilos e macrófagos, contagem de bactérias e de eritrócitos.

Pode-se observar que houve a redução da bacteremia da ferida em todas as amostras, a ferida tratada com o gel fitoterápico apresentou uma redução mais progressiva e consistente. Já as feridas G2 apresentaram uma redução mais intensa, abrupta e significativa do 7º para o 14º dia. As feridas tratadas pela pomada comercial, houve uma redução bacteriana de 25%, enquanto das feridas tratadas com o hidrogel uma redução de 17%.

Quadro 2 – Registros fotográficos das citologias das feridas G2 e G3 nos dias 3, 7 e 14 de tratamento. Aumento 4x.

Dia	Ferida G2	Ferida G3
3		
7		
14		

4.4 Análise Microscópica

As Figuras 10 a 19 representam as fotomicrografias das feridas dos grupos experimentais (G1G2 e G1G3) ao longo do período de tratamento proposto.

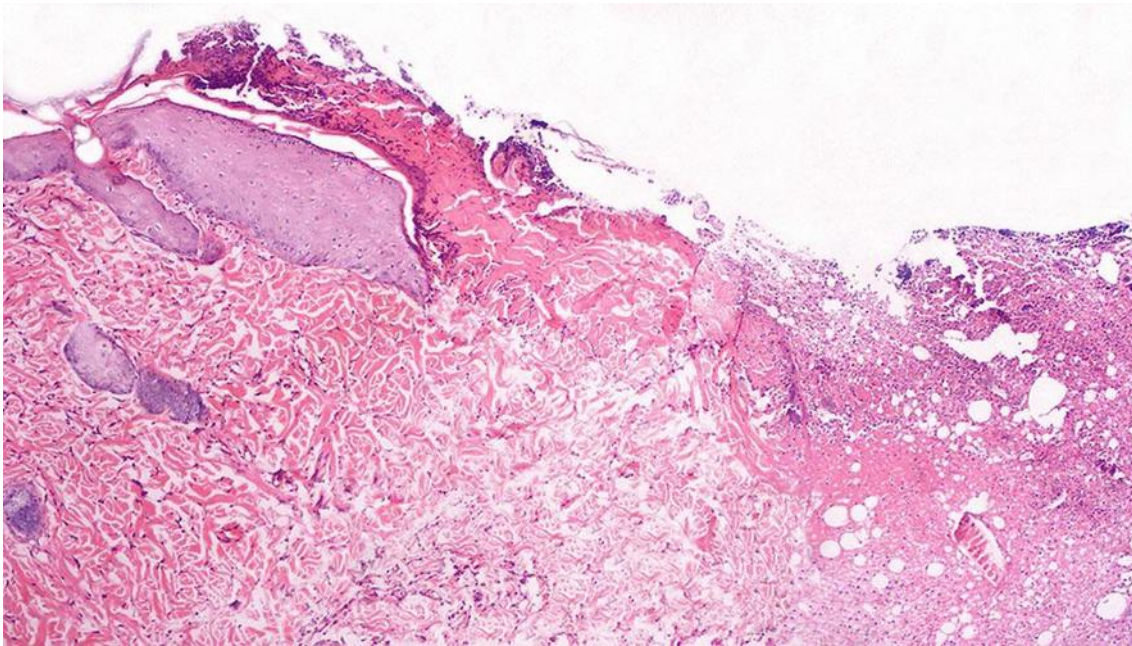


Figura 10 - Animal 4, G1G2, 3 dias (SAP 39533-E). Pele. Área da ferida do animal eutanasiado no 3º dia de tratamento com a pomada. Nota-se ausência de reepitelização, com ulceração e formação de crosta e moderado a acentuado infiltrado inflamatório misto. HE. Obj. 4x.

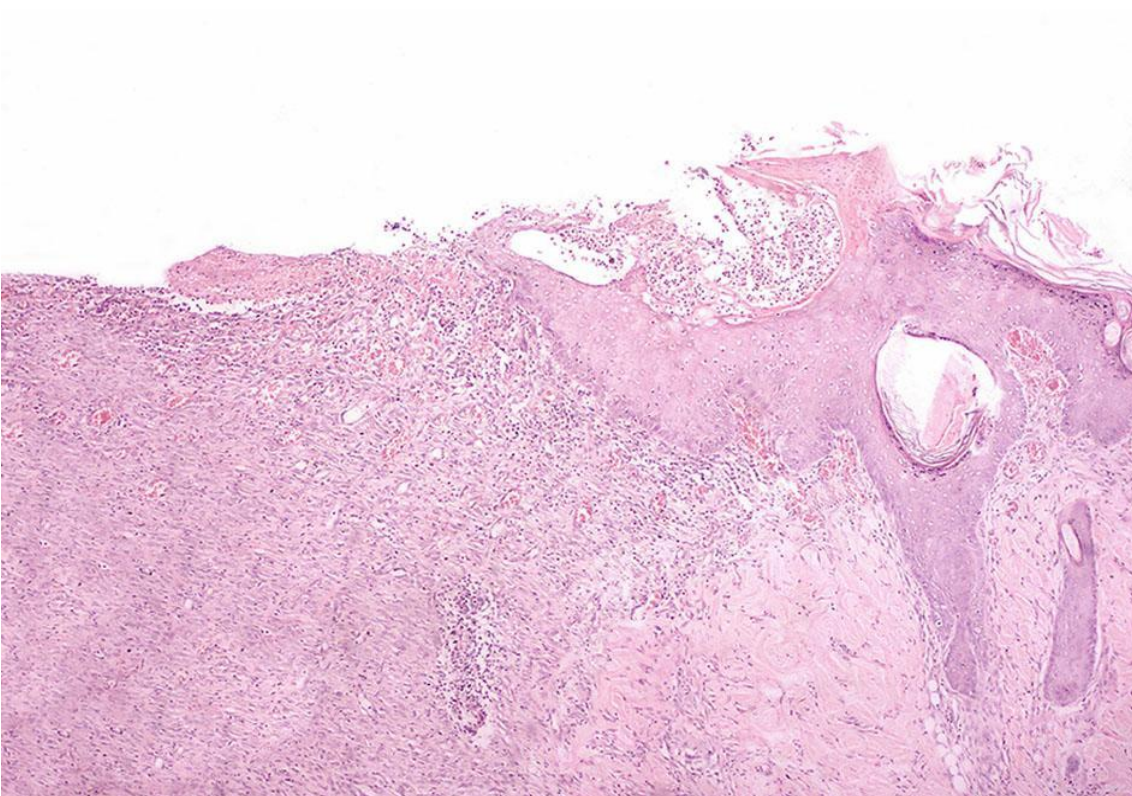


Figura 11 - Animal 3, G1G3, 7 dias (SAP 40598-B). Pele. Área da ferida do animal eutanasiado no 7º dia de tratamento com a pomada. Nota-se ausência de reepitelização, com ulceração, formação de crosta e moderado a acentuado infiltrado inflamatório misto e fibrose. HE. Obj. 4x

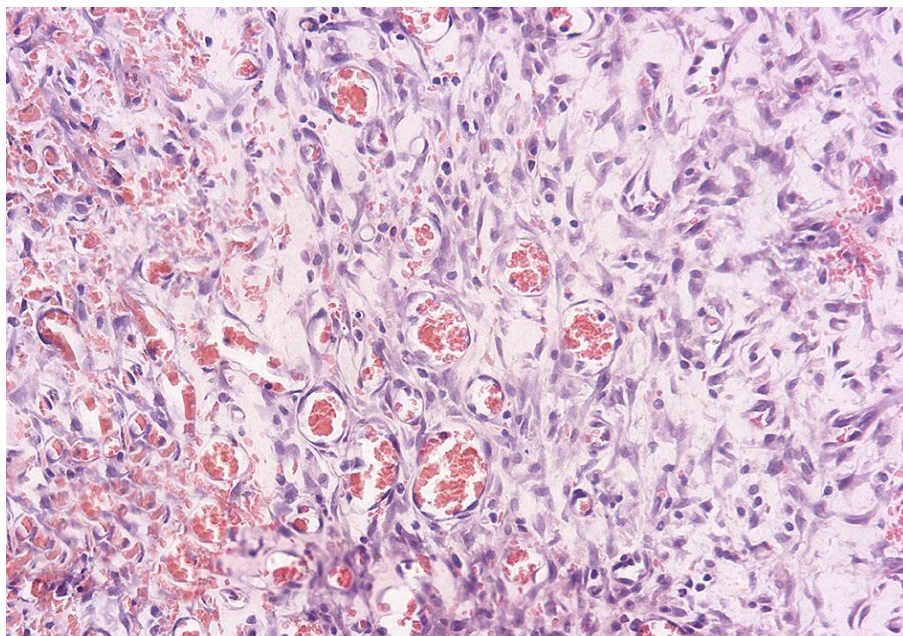


Figura 12 - Animal 3, G1G3, 7 dias (SAP 40598-B). Pele. Área da ferida do animal eutanasiado no 7º dia de tratamento com o fitoterápico. HE. Nota-se leve a moderada neovascularização e leve a moderada fibrose. HE. Obj. 20x.

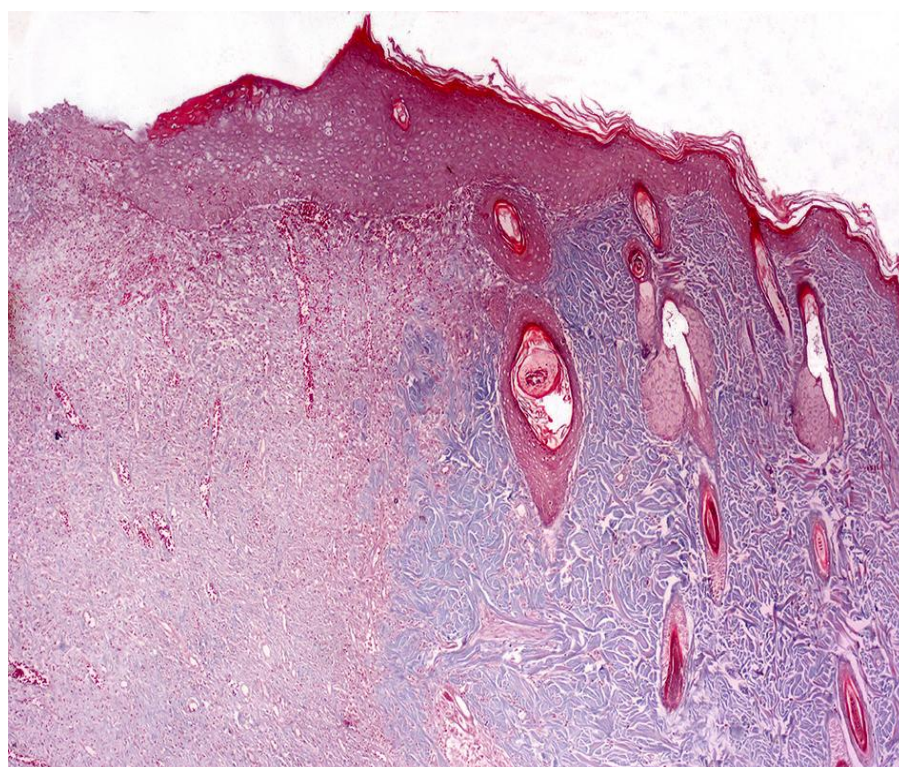


Figura 13 - Animal 3, G1G2, 7 dias (SAP 40590-B). Pele. Derme superficial com reepitelização (notar região de transição entre a epiderme original, com anexos cutâneos, e a ferida), focos discretos de infiltrado inflamatório misto e moderada proliferação de colágeno e neovascularização. Tricrômico de Masson. Obj. 4x

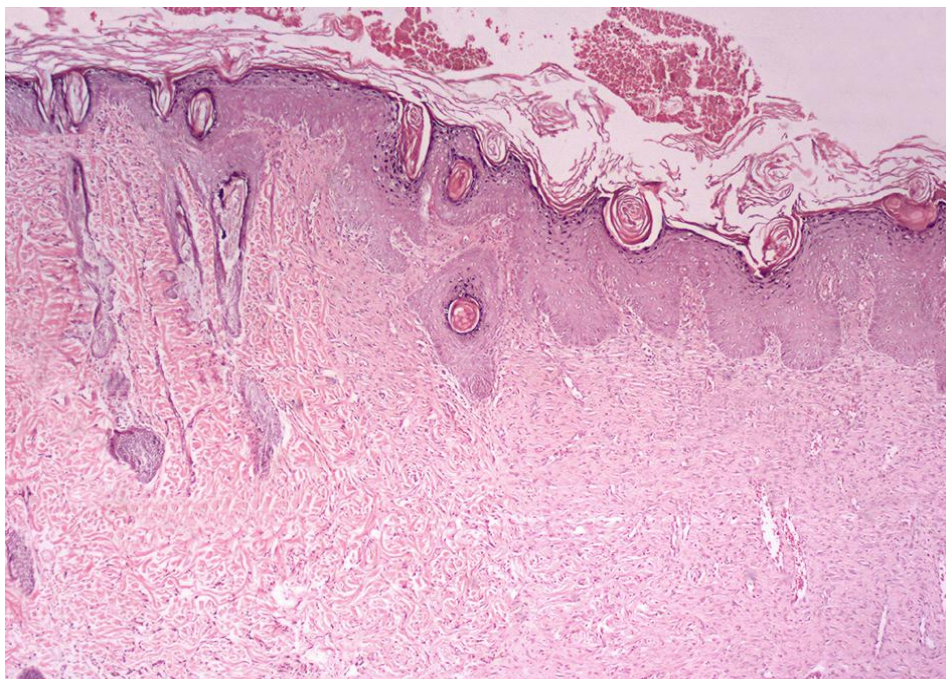


Figura 14 - Animal 3, G1G2, 14 dias (SAP 40741-B). Pele. HE. Moderada acantose, reepitelização, hiperqueratose com moderada fibrose e neovascularização. HE. Obj. 4x.

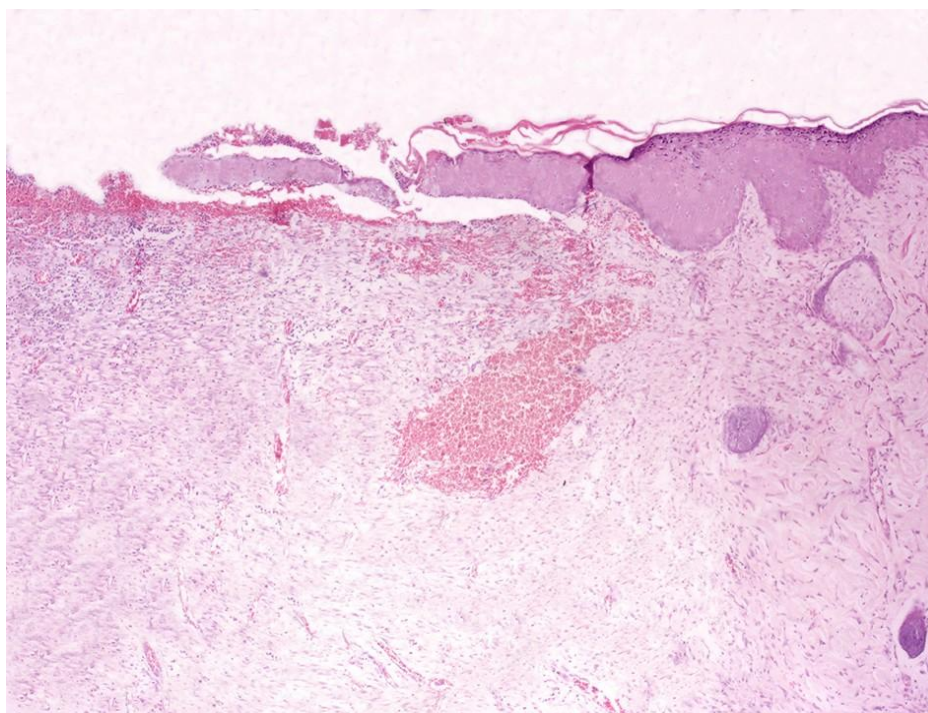


Figura 15 - Animal 3, G1G3, 14 dias (SAP 40595-B). Pele. Derme superficial com reepitelização (notar região de transição entre a epiderme original, com anexos cutâneos), e a ferida, focos discretos de infiltrado inflamatório misto e moderada proliferação de colágeno e hemorragia focal moderada. HE. Obj. 4x.

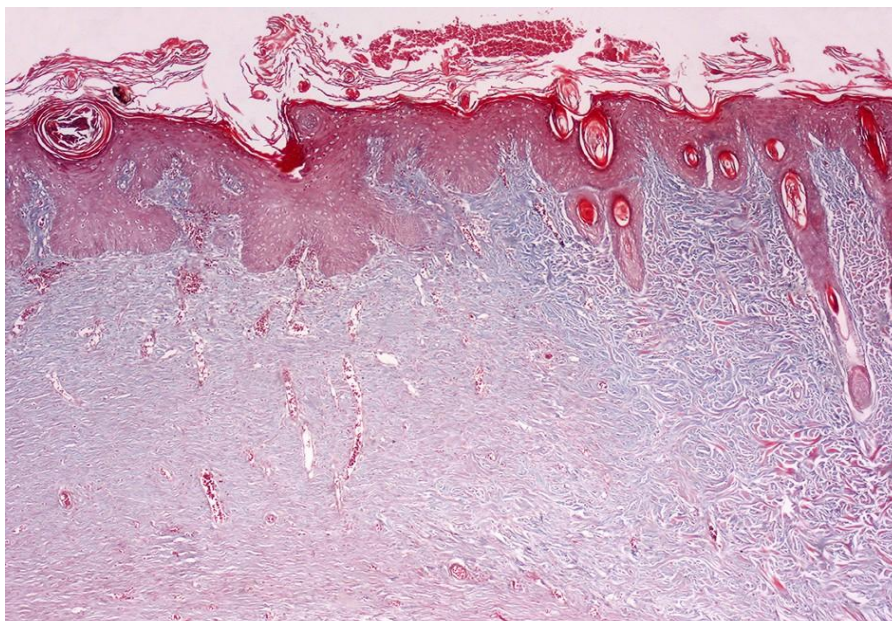


Figura 16 - Animal 3, G1G2, 14 dias, SAP 40741-B. Pele. Área da ferida do animal eutanasiado no 14º dia de tratamento com a pomada. Leve a moderada fibrose, moderada neovascularização e moderada reepitelização, além de moderada acantose. Tricrômico de Masson. Obj. 4x

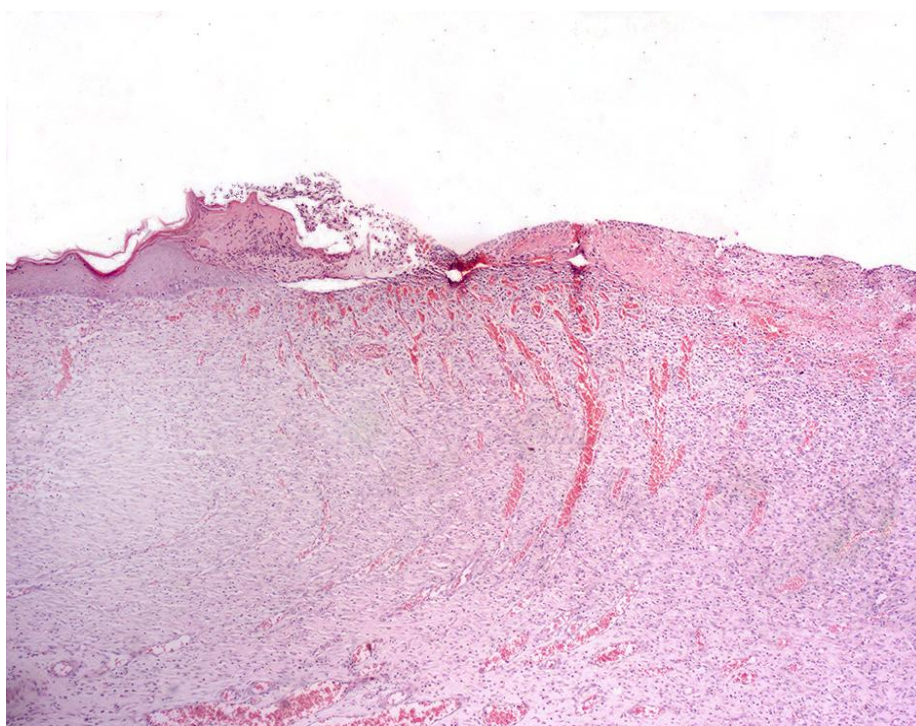


Figura 17 - Animal 4, G1G3, 14 dias (SAP 40594-A). Pele. Área da ferida do animal eutanasiado no 14º dia de tratamento com fitoterápico. Ausência de epitélio com leve reepitelização, formação de crosta, fibrose e neovascularização na derme superficial e profunda. HE. Obj. 4x

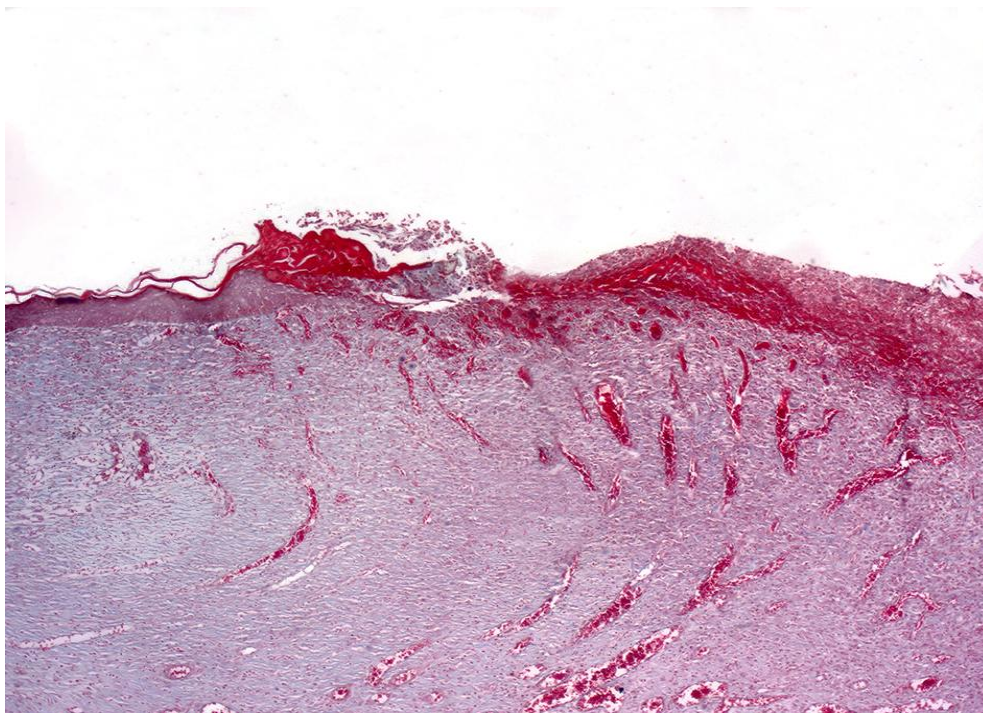


Figura 18- Animal 4, G1G3, 14 dias (SAP 40594-A). Pele. Ausência de epitélio com leve reepitelização, formação de crosta, edema e fibrose na derme superficial. Nota-se também, na derme, áreas multifocais de acentuado infiltrado inflamatório misto, além de moderada neovascularização em derme profunda. Tricrômico de Masson. Obj. 4x.

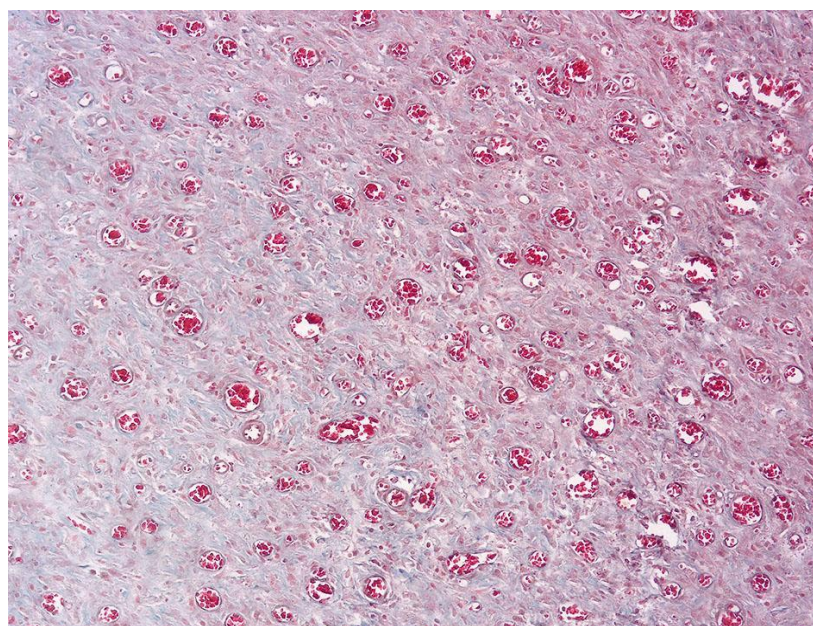


Figura 19 - Animal 2, G1G2, 14 dias (SAP 40740-B). Pele. Área da ferida do animal eutanasiado no 14º dia de tratamento com o fitoterápico. Leve a moderada neovascularização e leve a moderada fibrose. Tricrômico de Masson. Obj. 10x.

Nas tabelas 8 e 9 constam os resultados para os grupos experimentais G1G2 e G1G3 nos dias 3, 7 e 14 dias de tratamento, seguindo o padrão descrito por Estevão e colaboradores (2019), o qual realiza-se uma classificação numérica que varia de 0 a 3 para crosta, infiltrado inflamatório, deposição de matriz extracelular, neovascularização e reepitelização.

Tabela 8 – Tabela ilustrativa das feridas dos grupos experimentais G1G2 com 3, 7 e 14 dias de tratamento.

Avaliação microscópica das feridas dos grupos G1G2						
Análises Histológicas	3 dias		7 dias		14 dias	
	F. cranial (soro)	F. caudal (pomada)	F. cranial (soro)	F. caudal (pomada)	F. cranial (soro)	F. caudal (pomada)
Formação de crosta	50%-3, 50%-1	25%-2, 25%-1, 25%-3, 25%-0	50%-0, 25%-3, 25%1	50%-0, 50%-2	50%-0, 50%-1	25%-3, 25%-2, 25%-1 e 25%-0
Infiltrado inflamatório	50%-2, 50%-3	75%-2, 25%-1	100%-3	100%-3	50%-1, 50%-2	25%-0, 25%-1, 25%2a3 25%-3
Deposição de matriz extracelular	50% leve a moderada; 25% moderada; 25% moderada a acentuada	25% leve; 25% leve a moderada; 25% moderada e 25% moderada a acentuada	50% leve; 25% leve a moderada e 25% moderada	50% leve; 50% leve a moderada	25% leve; 75% moderada	25% leve; 50% moderada; 25% moderada a acentuada
Neovascularização	50%-1, 50%-2	75%-1, 25%-1a2	50%-1, 50%-2	75%-1, 25%-2	75%-2, 25%-3	75%-2, 25%-3
Reepitelização	75%-1, 25%-0a1	75%-1, 25%-0	25%-1, 75%-2	100%-1	25%-0, 50%-1, 25%	25%-0, 50%-1, 25%-2

Tabela 9 - Tabela ilustrativa das feridas dos grupos experimentais G1G3 com 3, 7 e 14 dias de tratamento.

Avaliação microscópica das feridas dos grupos G1G3						
Análises Histológicas	3 dias		7 dias		14 dias	
	F. cranial (soro)	F. caudal (hidrogel)	F. cranial (soro)	F. caudal (hidrogel)	F. cranial (soro)	F. caudal (hidrogel)
Formação de crosta	50%-0, 25%-2, 25%-3	25%-0, 25%-2, 50%3	25%-0, 25%-1, 25%-2, 25%-3	50%-1, 50%-2	75%-0, 25%-1	50%-0, 25%-1, 25%-2
Infiltrado inflamatório	25%-1a2, 50%-2, 25%-2a3	25%1a2, 50%-2, 25%-2a3	25%-2, 75%-3	25%-1, 75%-3	50%-1, 50%-2	75%-2, 25%-2a3
Deposição de matriz extracelular	50% moderada; 25% leve; 25% não conseguimos avaliar por causa do corte	75% moderada; 25% leve	25% moderada; 50% leve; 25% não conseguimos avaliar por causa	50% leve a moderada, 50% moderada	75% leve, 25% leve a moderada	100% leve a moderada
Neovascularização	25%-1, 25%-1a2 50%-2,	75%-1, 25%-2a3	50%-1, 25%-2, 25%-2a3	50%-1a2, 50%-2	50%-1, 25%-2, 25%-2a3	25%-1, 50%-2, 25%-3
Reepitelização	50%-0, 25%-1, 25%-2a3	50%-1, 50%-2	50%-1, 25%-1a2, 25%-3	50%-1, 50%-1a2	50%-2, 50%-3	75%-2, 25%-1

As feridas tratadas pelo hidrogel apresentaram um melhor resultado no quesito deposição de colágeno, pois 75% dos animais tratados no 3º dia já apresentavam moderada produção de fibroblastos com formação de matriz que preenche o local da lesão. Quanto à reepitelização, as feridas tratadas pelo hidrogel apresentaram um resultado melhor do que as feridas tratadas pela pomada. No 14º dia de tratamento, as feridas G3 apresentaram moderada reepitelização em 75% dos animais e leve em 25%. Nas feridas G2 houve discreta reepitelização em 50% dos animais, e moderada em 25%,

além de ausência desse processo em 1 animal, no 14º dia de tratamento.

Quanto à formação de crosta, as feridas G3 apresentaram também melhor resultado quando comparado ao G2, o qual 50% dos animais não apresentavam crosta e 25 % apresentavam em um nível discreto, e 25% moderado no 14º dia. As feridas G2 apresentavam acentuada formação de crosta (25%), moderada (25%), discreta (25%), e somente em um rato não se via crostas.

O grupo hidrogel foi ineficaz quando comparado ao grupo pomada comercial no quesito infiltrado inflamatório. Nessa análise histológica, 75% dos animais tratados com o fitoterápico no 14º dia apresentavam moderada inflamação e, 25%, moderada a intensa. No grupo tratado com a pomada, 25% não apresentou resposta inflamatória no mesmo dia equivalente. As células inflamatórias predominantes na área da crosta e ulceração foram os neutrófilos e, na derme superficial e profunda, os macrófagos.

Não foram observadas alterações histológicas no fígado, rins e baço. Havia acentuada congestão hepática em 100% dos ratos do grupo G3 e moderada vacuolização de hepatócitos. Notou-se moderada congestão esplênica e renal, mas esse achado também foi perceptível nos grupos G1 e G2.

5. DISCUSSÃO

Em todas as feridas tratadas foi possível observar a evolução do processo de cicatrização durante o período proposto nos 3º, 7º e 14º dias de tratamento. Esses registros fotográficos foram organizados de forma cronológica. Essa organização auxiliou no entendimento do processo evolutivo cicatricial macroscópico e facilitou a classificação das feridas quanto aos parâmetros morfológicos propostos no experimento. Mercês et al (2017) e Lira et al. (2020) também realizaram registros fotográficos da cicatrização das feridas em seus respectivos experimentos. Os autores descreveram também essa metodologia auxiliou a percepção da cicatrização das feridas e sua classificação.

A análise estatística descritiva das lesões mostrou que, ao longo do tempo, houve redução significativa nas dimensões das feridas (altura, largura e comprimento) em todos os grupos (Gráfico 1, Gráfico 2, Gráfico 3), indicando uma cicatrização progressiva. Tanto as feridas tratadas com a pomada de collagenase com cloranfenicol, quanto as feridas tratadas com hidrogel de extrato de *Aloe vera* e *Melaleuca alternifolia* apresentaram resultados consistentes, com o gel, demonstrado pelos menores valores iniciais e finais nas dimensões das feridas, o que sugere eficácia na cicatrização. Mesmo as feridas G2 apresentaram os maiores valores iniciais de largura e comprimento, e também mostraram redução significativa ao longo do tempo.

As variáveis de características quantitativas (comprimento, largura e altura) e características qualitativas (clínicas e macroscópicas) auxiliam no processo interpretativo da cicatrização de uma ferida, pois reflete nas dimensões físicas e nas particularidades morfológicas da lesão. No entanto, a análise de múltiplas variáveis simultaneamente pode apresentar desafios, especialmente quando há correlações entre elas ou quando a dimensionalidade dos dados é elevada. Para facilitar a interpretação estatística, utiliza-se técnicas de redução de dimensionalidade, como a Análise de Componentes Principais. A PCA permite transformar as variáveis originais em um conjunto menor de componentes principais, que capturam a maior parte da variabilidade dos dados, facilitando a interpretação e visualização dos resultados sem perder informações significativas (JOLLIFFE & CADIMA, 2016).

A escolha das variáveis quantitativas e qualitativas de interesse neste estudo foram comprimento, altura, largura e presença de crosta, devido à sua relevância clínica e

capacidade de descrever diferentes aspectos da cicatrização relacionados ao processo inflamatório e à formação de tecido cicatricial e nas dimensões das feridas. A redução da dimensionalidade dessas variáveis se fez necessária por dois motivos principais: o primeiro, com o intuito de simplificar a análise, evitando a redundância causada por correlações entre variáveis. E segundo, para facilitar a visualização e interpretação dos dados, especialmente em análises multivariadas. Além disso, a redução de dimensionalidade melhorou o desempenho dos modelos estatísticos, reduziu o risco de sobre ajuste e aumentou a generalização dos resultados. Essa redução da dimensionalidade foi representada por Dim 1. Como revelou a figura 8, a Dim 1 mostrou que as variáveis altura, comprimento e largura favorecem o processo cicatricial. Já a variável de presença de crosta segue um sentido antagônico.

Quanto ao índice de cicatrização, representado pela figura 9, o qual revelou estatisticamente a evolução do processo cicatricial das feridas G1, G2 e G3 ao longo do período avaliativo. Pode-se perceber que não houve diferença estatística do processo de cicatrização nas feridas tratadas com a pomada comercial e do gel fitoterápico

Lira e colaboradores (2020) realizaram um estudo experimental comparativo com feridas cirúrgicas em ratos tratando-as com solução salina estéril 0,9% (grupo controle negativo), pomada à base de sulfato de neomicina e bacitracina zínica (grupo controle positivo) e três grupos experimentais com extrato de *Aloe vera* nas concentrações de 20%, 50% e 100%. Os autores descrevem que houve uma cicatrização mais acelerada dos grupos *Aloe vera* na concentração de 50% e 100% dos demais grupos experimentais. Neste trabalho houve uma cicatrização discretamente mais rápida nas feridas tratadas com o hidrogel fitoterápico, o qual foi observada uma diminuição do halo da ferida de forma mais significativa a partir do 7º dia. Mercês et al. (2017) observaram que também houve maior diminuição das feridas tratadas por *Aloe vera*, e esse fato ocorreu mais rapidamente a partir do 7º dia e, no 14º dia, os ratos do grupo *Aloe vera* estavam quase totalmente cicatrizados, enquanto os dos grupos das feridas tratadas por soro fisiológico e Regederm® (gel creme à base de frações proteicas bioativas extraídas do látex da seringueira *Hevea brasiliensis*) apresentavam estágio parcial.

Em 75% dos animais tratados no 3º dia com o fitoterápico, observou-se moderada deposição de colágeno na área da ferida evidenciada pelo Tricrômico de Masson. As fibras colágenas produzidas pelos fibroblastos formam uma matriz e essas fibras vão preencher o local da lesão (SORG et al., 2016). A atividade cicatrizante com o uso da *Aloe vera* é evidenciada, principalmente, na fase proliferativa devido aos componentes presentes na mucilagem que são capazes de estimular a produção de fibroblastos (JÚNIOR et al., 2020).

Um dado importante que vale ressaltar, foi o processo de cicatrização satisfatório ocorrido nas feridas tratadas unicamente com soro fisiológico 0,9%, o que comprova que a regeneração tecidual pode ocorrer sem a necessidade de agentes cicatrizantes.

Na avaliação clínica das feridas não havia exsudação de aspecto purulento, o que demonstra que tanto a pomada comercial testada quanto o fitoterápico induziram resultados satisfatórios quanto à ação antimicrobiana. Entretanto, nas avaliações citológicas e histológicas das feridas pode-se avaliar com mais assertividade a presença de microorganismos ainda nas lesões com 14 dias de tratamento. Nessas avaliações microscópicas houve uma frequência maior nas feridas G2 do que G3, com diminuição da carga microbiana em 25% e 17% respectivamente. Alves et al. (2011) também não observaram, à avaliação macroscópica, exsudato purulento nas feridas experimentais tratadas com extrato de *Musa sapientum* (banana prata verde) e *Aloe vera*. Nas feridas tratadas com pomada colagenase houve supuração no 3º dia em 30% dos ratos e, após este tempo, esteve ausente. No grupo controle houve supuração no 3º dia em 40% dos

ratos.

Fonder et al. (2008) e Franco e Gonçalves (2007) descrevem que os curativos que mantêm na ferida um meio mais úmido favorecem a cicatrização por acelerar a angiogênese, estimular a reepitelização e formação do tecido de granulação e facilitar a remoção de tecido necrótico e fibrina. Porém, os curativos úmidos podem produzir exsudatos de diferentes tipos, inclusive supurativos. No presente estudo, não se observou esse tipo de exsudato nas feridas tratadas pelo hidrogel fitoterápico e nas feridas tratadas pela pomada.

A formação de crosta é um aspecto importante no processo de cicatrização de uma ferida aberta e, conforme demonstrado na avaliação estatística, a produção desta é um dificultador na variável morfométrica das feridas. Observou-se que houve maior produção de crosta entre o 3º e 7º dia, sendo realizado debridamento mecânico para não comprometer o processo cicatricial. Ainda assim, foi possível observar clinicamente crosta em três animais do grupo G1G2 aos 14 dias e em um rato do grupo G1G3 aos 14 dias. Na análise microscópica, 50% dos ratos tratados com o fitoterápico não exibiam crostas no 14º dia de tratamento, o que demonstra melhores resultados que a pomada colagenase, com a qual 25% dos animais tratados no mesmo dia ainda apresentavam moderada e acentuada formação de crosta e somente 25% não apresentaram. Acredita-se que as feridas G3 produziram maior umidade nas lesões, o que favorece uma menor formação de crosta em comparação aos demais grupos experimentais. Entretanto, Mônaco e Lawrence (2003) descreveram que a crosta forma uma barreira mecânica sobre a ferida, e protege contra a perda de eletrólitos e fluidos, e contra a contaminação de agentes nocivos, o que pode ter favorecido a menor concentração de microorganismos nas feridas tratadas com pomada à base de cloranfenicol e colagenase.

Mercês et al. (2017) descreveram que houve uma maior produção de crosta nas feridas dos grupos experimentais no 7º dia, e também foi necessário realizar a técnica de cover para a remoção, com objetivo de não retardar a evolução cicatricial. Após esta técnica, os autores observaram a produção de crostas apenas nos grupos tratados com soro fisiológico e não mais nos grupos *Aloe vera* e gel creme à base de frações proteicas bioativas extraídas do látex da seringueira *Hevea brasiliensis*. Oliveira e Bosquetti (2018) realizaram estudo experimental para avaliação da influência do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* na cicatrização de feridas cutâneas. Os autores não observaram diferenças significativas na produção de crosta nas feridas tratadas com o fitoterápico com os do grupo controle (solução salina estéril).

Para as análises histológicas foram avaliadas, nas feridas tratadas G1, G2 e G3, a formação crostosa, infiltrado de processo inflamatório, deposição de matriz extracelular, neovascularização e reepitelização. Quanto à neovascularização, 75% tiveram leve neovascularização no 3º dia de tratamento nas feridas tratadas pelo hidrogel e pela pomada. Porém, as feridas G3 com 14 dias de tratamento apresentavam 25% com leve neovascularização, 50% moderada e 25% intensa. E as feridas G2 com 75% com moderada e 25% com acentuada neovascularização. Sendo assim, pode-se afirmar que as feridas tratadas pelo hidrogel fitoterápico apresentaram melhor neovascularização. A angiogênese é fundamental para o suprimento de oxigênio e nutrientes, com uma maior produção de vasos na lesão e também mais células endoteliais que migram para a área da ferida e assim, um processo cicatricial mais acelerado (MANDELBAUM et al., 2003; KARPPINEN et al., 2019). O melhor resultado no quesito de neovascularização nas feridas tratadas pelo composto fitoterápico refletiu também no melhor aspecto da coloração, pois 100% das feridas tratadas com o fitoterápico estavam róseas no 3º, 7º e 12º dia de tratamento. A coloração reflete o balanço entre tecidos novos e tecidos neovascularizados. A coloração vermelha é característica de tecidos em cicatrização,

diferente de feridas amareladas e enegrecidas que possuem tecido desvitalizado, infecção, deposição de matriz extracelular, neovascularização e reepitelização.

Outro parâmetro histológico que obteve um resultado mais eficiente para as feridas tratadas com o hidrogel à base de *Aloe vera* e *Melaleuca alternifolia*, foi o quesito da reepitelização. No 14º dia de tratamento, os animais tratados com o fitoterápico apresentavam 75% com moderada reepitelização e 25% leve. Nos tratados com a pomada 25% não apresentou reepitelização, 50% apresentaram de forma leve e 25% de forma moderada. Como descrito anteriormente, com uma melhor neovascularização nas feridas tratadas pelo hidrogel, mais queratinócitos migraram para a ferida e promoveram uma melhor regeneração epitelial mais consistente.

As feridas G2 tiveram melhor resultado em relação às feridas G3 no quesito reação inflamatória. No 14º dia de tratamento, 75% dos animais tratados com o fitoterápico manifestaram moderada quantidade de células inflamatórias e, 25%, moderada a acentuada. Nas feridas G2, um rato não possuía inflamação na ferida, um teve discreta e os demais, moderada a acentuada. Assim como no presente estudo, o qual a pomada comercial foi a que apresentou melhor efetividade quanto à menor presença de infiltrado inflamatório, Lira et al. (2020) descrevem que feridas tratadas com pomada à base de sulfato de neomicina e bacitracina tiveram menor infiltração inflamatória, e o grupo que mais se assemelhou foi o das feridas tratada com *Aloe vera* na concentração de 100%.

Na área da crosta observaram-se, sobretudo, neutrófilos íntegros e degenerados. Na derme superficial e profunda predominou infiltrado mononuclear, principalmente de macrófagos. O macrófago será responsável pelo término do debridamento, iniciado pelo neutrófilo, auxiliando na angiogênese, fibroplasia e síntese de matriz extracelular.

Observou-se congestão hepática acentuada em 100% do grupo G3 e moderada vacuolização de hepatócitos além de moderada congestão no baço e nos rins, mas esse achado também foi perceptível nos grupos G1 e G2, e provavelmente ocorreu devido à eutanásia. O uso de plantas medicinais apresenta-se interessante, contudo, também pode induzir efeitos adversos com o seu uso indiscriminado (FREITAS et al., 2014; SILVA et al., 2019) e embora haja muitos trabalhos científicos desenvolvidos nos últimos anos acerca desse tema, há necessidade de mais trabalhos e produções científicas direcionadas para sua aplicabilidade clínica.

6. CONCLUSÕES

O uso do hidrogel à base de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* e mucilagem de *Aloe vera* demonstrou resultados satisfatórios na cicatrização de feridas contaminadas por *S. aureus* multirresistentes. Houve uma melhora cicatricial em todas as feridas, principalmente nas feridas tratadas pela pomada comercial e pelo gel fitoterápico ($p < 0,05$). E não houve diferença estatística do processo de cicatrização nas feridas tratadas com a pomada comercial e do gel fitoterápico.

Os parâmetros quanto à produção de crosta, deposição de colágeno, neovascularização e reepitelização da ferida se mostraram discretamente superior com a pomada comercial à base de colagenase e cloranfenicol, porém, nos quesitos reação inflamatória e diminuição da carga microbiana se mostrou inferior.

Apesar da pouca ação bactericida, o hidrogel fitoterápico apresentou boa eficácia no processo de cicatrização das feridas. O uso de plantas medicinais com potencial cicatricial e antimicrobiano, como as utilizadas neste estudo, pode ser uma boa alternativa para substituição de fármacos alopáticos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADHYA, A.; BAIN, J.; RAY, O.; HAZRA, A.; ADHIKARI, S.; DUTTA, G.; RAY, S.; MAJUMDAR, B. K. Healing of burn wounds by topical treatment: A randomized controlled comparison between silver sulfadiazine and nano-crystalline silver. **Journal of Basic and Clinical Pharmacy**. v. 6, n. 1, p. 29-34, 2015.
- ALAVI, A.; SIBBALD, R. G.; MAYER, D.; GOODMAN, L.; BOSTROS, M.; ARMSTRONG, D. G.; WOO, K.; BOENI, T.; AYELLO, E. A.; KIRSNER, R. S. Diabetic foot ulcers: Part II. Management. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 70, n. 1, p. 21- 24, 2014.
- ALVES, H.; MACHADO, M. T.; NORONHA, A. M. N. W. Análise Qualitativa do processo de reparo em cicatriz cirúrgica de ratos tratados com extrato de *Musa sapientum*, *Aloe vera*, colagenase e placebo. **Revista Ciências em Saúde**, v. 1, n.2, p. 8-18, 2011.
- AMRI, I.; MANCINI, E.; MARTINO, L.; MARANDINO, A.; LAMIA, H.; MOHSEN, H.; BASSEM, J.; SCOGNAMIGLIO, M.; REVERCHON, E.; FEO, V. Chemical composition and biological activities of the essential oils from three *Melaleuca* species grown in Tunisia. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 16580-16591, 2012.
- BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, n. 1, p. 27-51, 2005.
- BREUSCH, T. S.; PAGAN, A. R. A simple test for heteroscedasticity and random coefficient variation. **Econometrica**, v. 47, n. 5, p. 1287-1294, 1979.
- BIGLIARDI, P.; LANGER, S.; CRUZ, J. J.; KIM, S. W.; NAIR, H.; SRISAWASDI, G. Anasian perspective on povidone iodine in wound healing. **Dermatology**. v. 233, n. 2-3, p. 223- 233, 2017. doi: 0.1159/000479150
- CALÓ, E.; KHUTORYANSKIY, V. V. Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. **European Polymer Journal**, v. 65, p. 252-267, 2015.
- CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO A.; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 20, n. 1, p. 51-58, 2007
- CORREIA, A. M.; PEDRAZZANI, A. S.; MENDONÇA, R. C.; MASSUCATTO, A.; OZÓRIO, R. A.; TSUZUKI, M. Y. Basil, tea tree and clove essential oils as analgesics and anaesthetics in *Amphiprion clarkii* (Bennet, 1830). **Brazilian Journal of Biology**, v.78, n. 3, p. 436-442, 2018.
- CHIM, K. B.; CORDELL, B. The effect of tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*) on wound healing using a dressing model. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 19, n. 12, p. 942-945, 2013.
- DE GROOT, A. C.; SCHMIDT, E. Tea tree oil: contact allergy and Chemical composition. **Contact Dermatitis**, v. 75, n. 3, p. 129-143, 2016
- DUMVILLE, J. C.; O'MEARA, S.; DESHPANDE, S.; SPEAK, K. Hydrogel dressings for healing diabetic foot ulcers. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 7, p 1-44, 2013.

ESTEVÃO, L. M. R.; MENDONÇA, F. S.; BARATELLA-EVENCIO, L.; SIMÕES, R. S.; BARROS, M. E. G.; ARANTES, R. M. E.; RACHID, M. A.; EVÊNCIO-NETO, J. Effects of aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) oil on cutaneous wound healing in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 203-209, 2013.

ESTEVÃO, L. R. M.; VIEIRA, P. C.; LEITE, A. G. B.; BULHOES, A. A. V. C.; BARCELOS, L. S.; NETO, J. E. Morphological evaluation on wound healing events in the excisional wound healing model in rats. **Bio Protocol Journal** V. 5, n. 9, e. 3285, 2019.

FERNANDES, M. E. S. Influência do enxerto omental livre na cicatrização de feridas cutâneas experimentais em coelhos. **Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Patologia e Ciências Clínicas)**. Instituto de Veterinária, Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2020.

FERREIRA, F. V.; PAULA, L. B. Sulfadiazina de prata versus medicamentos fitoterápicos: estudo comparativo dos efeitos no tratamento de queimaduras. **Revista Brasileira de Queimaduras**, v. 12, n. 3, p. 132-139, 2013

FONDER, M. A.; LAZARUS, G. S.; COWAN, D. A.; ARONSON-COOK, B.; KOHLI, A.; MAMELAK, A. J. Treating the chronic wound: A practical approach to the care of nonhealing wounds and wound care dressings. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 58, n. 2, p. 185-206, 2008.

FRANCO, D.; GONÇALVES, L. F. Feridas Cutâneas: a escolha do curativo adequado. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 35, n. 3, p. 203-206, 2007.

FREITAS, V. S.; RODRIGUES, R. A. F.; GASPI, F. O. P. Propriedades farmacológicas da *Aloe vera* (L.) Brum. F. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 2, p. 299-307, 2014.

GHAFOURI, H. B.; ZAVAREH, M.; JALILI, F.; CHERAGHI, S. Is 1% povidone iodine solution superior to normal saline for simple traumatic wound irrigation. **Wound Medicine**. v. 15, n. 1, p. 1-5, 2016.

HASHIM, P. W.; FERNEINI, A. M. Wound healing. Complications in Maxillofacial. **Cosmetic Surgery: Strategies for Prevention and Management**, v. 20, n. 1, p. 37-45, 2017.

HENGEL, T V.; HAAR, G. T.; KIRPENSTEIJN, J. Wound management: a new protocol for dogs and cats. In: KIRPENSTEIJN, J.; HAAR, G. T. **Reconstructive surgery and Wound management of the Dog and Cat**. 1 ed. Londres: Manson Publishing, p. 21-45. 2013.

JOLLIFFE, I. T.; CADIMA, J. Principal componente analysis: a review and recente developments. **Philosophical Trans. R. Society**, v. 374, p. 1-16, 2016.

JUNIOR, F. A. L.; VIEIRA, E. M. S.; SILVA, B. S.; ARAUJO, T. D.; REIS, T. G. M.; MIRANDA, J. M.; LIMA, K. V. M.; BORGES, R. M.; LIMA, D. S.; MEDEIROS, F. H. A.; MEDEIROS, A. N. D. L. R.; LIMA, L. N. F.; PANTOJA, M. S. Perfil das prescrições de antibioticoterapia em uma unidade de terapia intensiva adulto de um hospital de referência cirúrgica no estado do Maranhão. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 34, p. 1 – 7, 2019.

JUNIOR, F. P. A.; ACIOLE, I. H. M.; SOUZA, A. K. O.; ALVES, T. W. B.; SOUZA, J. B. P. Uso de babosa (*Aloe vera*) com pró-cicatrizante em diferentes formas farmacêuticas: uma revisão integrativa. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 19, n. 2, p. 347-352, 2020.

KARPPINEN, S.M.; HELJASVAARA, R.; GULLBERG, D.; TASANEN, K.; PIHLAJANIEMI, T. Toward understanding scarless skin wound healing and pathological scarring. **F1000 Research**, v. 8, p. 787, 2019.

KISCHER, C. W.; SCHETLAR, M. R. Collagen and mucopolysaccharides in the hypertrophic scar. **Connective Tissue Research**, v. 2, p. 205-213, 1974

KOGA, A. Y.; FELIX, J. C.; SILVESTRE, R. G. M.; LIPINSKI, L. C.; CARLETTO, B.; KAWAHARA, F. A.; PEREIRA, A. V. EFFE of wound healing effect of alginate film containg *Aloe vera* gel and cross-linked with zinc chloride. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 35, n. 5, p. 1-12, 2020.

LI, J.; CHEN, J.; KIRSNER, R. Pathophysiology of acute wound healing. **Clinics in Dermatology**, v. 25, n. 1, p. 9-18, 2007.

LIRA, H. S. L.; NETO, H. N. R.; NETO, L. F. F. M.; ARAÚJO, M. A. M.; MOTA, R. A. R.; MONTE, M. M.; NETO, A. F. G.; FILHO, C. A. M.C.; VIANA, D. S. F.; ARAUJO, K. S. Efeitos do uso da *Aloe vera* na cicatrização de feridas. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n.53, p. 1-11, 2020.

LOPES, V. S.; WICKERT, B. E.; ROSADA, C. T. M.; FONZAR, U. J. V.; AMARAL, V.; MORAES, A. M. S. M.; GIACOMETTI, L. C. T. F.; RIBEIRO, E. H. W. Revisão integrative: avaliação de atividade cicatrizante da *Aloe vera* (*L.*) *Burn. F.*, comparada a sulfadiazine de prata, na cicatrização de feridas. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v.6, n.3, p.13076-13086, 2023.

MACPHAIL, C. M. Cirurgia do Sistema Tegumentar. In: FOSSUM, T. W. **Cirurgia de Pequenos Animais**, 4ed. Ed. Elsevier, 2014, p. 545-815..

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 78, n. 4, p. 393-408, 2003.

MERCÊS, P. L.; ARAÚJO, L. A.; ARAUJO, A. C. V.; SANTOS, M. H. A. S.; LEMES, S. R.; REIS, P. R. M. Avaliação da atividade cicatricial da *Aloe vera* em feridas em dorso de ratos. **Revista Estima**, v. 15, n. 1, p.35-42, 2017.

MÔNACO, J. L.; LAWRENCE, W. T. Acute wound healing. **Clinics in Plastic Surgery**, v. 30, n. 1, p. 1-12, 2003.

MONTEIRO, M. S. S. B.; SANTOS, T. M.; OLIVEIRA, C. A.; FREITAS, Z. M. F.; SANTOS, E. P. Desenvolvimento e avaliação de hidrogéis de carboximetilcelulose para o tratamento de feridas. **Revista Infarma Ciências Farmacêuticas**, v.32, e.1, p. 41-55, 2020.

NASCIMENTO, A. S., TAMIASSO, R. S. S., MORAIS, S. F. M., GNATTA, J. R., TURRINI, R. N. T., CALACHE, A. L. S. C., POVEDA, V. B. Óleos essenciais para cicatrização e/ou prevenção de infecção de feridas cirúrgicas: revisão sistemática. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 56 (spe), p. 1- 8, 2022.

- NEVES, R. C. S. M.; MAKINO, H.; PEREZ-CRUZ, T. P. S.; SILVEIRA, M. M.; GOMES, K. G. S.; SOUSA, V. R. F.; FERRAZ, V.; BELLI, C. B. Uso in vitro e in vivo do óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) em otites bacteriana e por leveduras em cães. **Revista MV & Z. Resumos – Congresso Brasileiro de Dermatologia Veterinária**, v. 13, n. 3, p.39, 2015.
- OLIVEIRA, R. B., BOSQUETTI, L. B. Avaliação do efeito cicatrizante do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* em ratos wistar (*Rattus norvegicus albinus*). **Revista Perquirere**, v. 15, n. 3, p. 200-213, 2018.
- ORLANDINI, C. F.; BOSCARATO, A. G.; MOURA, R. A.; SAPATEIRO, P.; GAZIM, Z. C.; LOURENÇO, E. L. B.; ALBERTON, L. R. Utilização de creme de papaína e extrato liofilizado das raízes de salsa (*Petroselinum crispum*) contra *Escherichia coli* multirresistente em abscesso em equino. **Acta Scientiae Veterinariae**, n. 45, suppl 1, p. 1-6, 2017.
- PAVLETIC, M. M. **Atlas of Small Animal Wound Management and Reconstructive Surgery**. 4^a ed. Wiley- Blackwell, 2018. 882p.
- PIRIZ, M. A.; LIMA, C. A. B.; JARDIM, V. M. R.; MESQUITA, M. K.; SOUZA, A. D. Z.; HECK, R. M. Plantas medicinais do processo de cicatrização de feridas: uma revisão de literatura. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 3, p. 628-636, 2014.
- POWERS, J. G.; HIGHAM, C.; BROUSSARD, K.; PHILLIPS, T. J. Wound healing and treating wounds. **American Academy of Dermatology**, v. 74, n. 4, p. 607-625, 2016.
- RIVA, M. M.; PASTOR, F. M.; SILVA, M. A. Uso indiscriminado de medicamentos veterinários na pecuária. In: TRIVILIN et al. **Tópicos especiais em ciência animal VII**, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 1^a ed., 2018, p. 125-142.
- RAINA, R.; PRAWES, S.; VERMA, P. K.; PANKAJ, N. K.; Medicinal plants and their role in wound healing. **Vetscan**, v. 3, n. 1, p. 1-7, 2008.
- REMY, C. D.; ESSEBE, C. N.; SOTTO A.; LAVIGNE, J. P. *Staphylococcus aureus* toxins and diabetic foot ulcers: role in pathogenesis and interest in diagnosis. **Toxins**, v. 9, n. 209, p. 1-20. 2016.
- RIBEIRO, G.; SILVA, M. A. G.; MARTINS, C. B.; BORGES, V. P.; LACERDA NETO, J. C. Associação fitoterápica no tratamento de feridas cutâneas induzidas em equinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65. n.5, p-1427-1433, 2013.
- ROCHA, G. D., WADT, N. S. Y., CARDOSO, V. O., CUNHA, R. A. S., BACH, E. E. Cicatrização de feridas cutâneas em ratos tratados com *Melaleuca alternifolia* (Maiden e Betche) Cheel. **Intellectus Revista Acadêmica Digital – Especial de Fitoterapia – Ciências da Saúde**, v. 63, n. 1, 2021
- RODRIGUES, L. M.; OLIVEIRA, B. G. R. B.; CASTILHO, S. R.; FUTURO, D. O. Avaliação tecnológica em saúde: uso da carboximetilcelulose a 2% no tratamento das úlceras de perna. **Revista Enfermagem UERJ**, v. 23, n. 4, p. 520-525, 2015.
- SANTOS, A. T.; JUNIOR, J. M.; CUNHA, G. N. Cicatrização por segunda intenção de feridas cutâneas em ratos Wistar com uso de *Stryphnodendron adstringens*. **Revista Ciência Animal**, v. 29, n. 1, p. 15-29, 2019.

SCHÄFFER, M.; WITTE, M.; BECKER, H. D. Models to study ischemia in chronic wounds. **The International Journal Lower Extremity Wounds**, v. 1, n. 2, p. 104-111, 2002.

SCHERER, C. B.; BOTONI, L. S.; COSTA-VAL, A. P. Mecanismos de ação de antimicrobianos e resistência bacteriana. **MEDVEP Dermato – Revista de Educação Continuada em Dermatologia e Alergologia Veterinária**, v. 4, n. 13, p.12-20, 2016.

SEVERO, A. M. C., FOOK, M. V. L., LEITE, I. F. Hidrogéis de PVA/quitosana funcionalizados com óleo de melaleuca visando aplicação como curativo. *Revista Matéria*, v. 27, n. 1, p. 1-13, 2022.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3/4, p. 591-611, 1965

SILVA, M. Cloranfenicol. **Revista Científica Internacional da RACs – Suplemento da RevSALUS**, Coimbra – Portugal, v. 4, 2022.

SILVA, L. L.; ALMEIDA, R.; VERÍCIMO, M. A.; MACEDO, H. W. Atividades terapêuticas do óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*). Uma revisão de literature. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 6, p. 6011-6021, 2019.

SILVA, T. S.; COELHO, M. C. O. C.; FILHO, R. S. S.; TRAJANO, S. C.; TUDURY, E. A. Tratamento de feridas em cães e gatos. **Enciclopédia Biosfera**, Ed. Centro Científico Conhcer – Jandaia – GO, v. 18, n.37, p.475-494, 2021.

SILVA, J. L. L.; CORDEIRO, D. A.; CASTRO, A. C. M.; OLIVEIRA, R. M. O tratamento de lesões teciduais por pressão com o uso de pomada com colagenase e cloranfenicol. **Enfermagem Brasil**, v. 9, n. 1, p. 48, 2010.

SILVA, C. R.; DOBERSTEIN, D. V. S.; SILVA, T. R. O.; MIRANDA, A. R.; FOLIATTI, D.; FERREIRA, J. O uso da pomada de barbatimão em feridas não iatrogênicas em cães. *Observatório de la economia latino-americana*, v. 23, n. 7, p. 1-10, 2025.

SORG, H.; TILKORN, D. J.; HAGER, S.; HOUSER, J.; MIRASTSCHISKI, U. Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts. **European Surgical Research**, v. 58, n. 1-2, p. 81–94, 2016.

SOUSA, D. L. S.; SILVA, V. C. L.; SOUZA, M.; COELHO, M. C. O. C.; RIOS, T. M. M.; RODRIGUES, U. V. Atividade cicatrizante da colagenase e colranfenicol em ferida cutânea em cão: Relato de caso. Link: https://www.researchgate.net/publication/268265627_ATIVIDADE_CICATRIZANTE_DA_COLAGENASE_E_CLORANFENICOL_EM_FERIDA_CUTANEA_EM_CAO_RELATO_DE_CASO_2016. Acessado em 06 de fevereiro de 2025.

STANLEY, B. J.; CORNELL, K. Wound Healing. In: JOHNSTON, S. A.; TOBIAS, K. M. **Veterinary Surgery Small Animal**. 2a ed., Ed. Elsevier, 2017, p. 486-529.

STOECKEL, W. T.; DAVID, L.; LEVINE, E. A.; ARGENTA, A. E.; PERRIER, N. D. Vacuum- assisted closure for the treatment of complex breast wounds. **The Breast**, v. 15, n.5, p.610-613, 2006.

VON NUSSBAUM, F.; BRANDS, M.; HINZEN, B.; WEIGAND, S.; HABICH, D. Anti bacterial natural products in medicinal chemistry - Exodus or Revival? **Angewandte**

Chemie International Edition – A Journal of the German Chemical Society, v.45, n.31, p. 5072-5129, 2006.

WILLIAMS, J.; MOORE, A. BSAVA Manual of Canine and Feline Wound Management and Reconstruction. 2^a ed., BSAVA - England, 2009, 288p