



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS

CHIRLAINE CRISTINE GONÇALVES

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE EXTRATOS DE MARACUJÁ (*Passiflora
edulis*) NO TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS DESENVOLVIDAS
EM RATOS WISTAR**

CAMPINA GRANDE, 2013

CHIRLAINE CRISTINE GONÇALVES

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE EXTRATOS DE MARACUJÁ (*Passiflora
edulis*) NO TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS DESENVOLVIDAS
EM RATOS WISTAR**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Engenharia de Processos da Universidade Federal de Campina Grande, Área de Concentração: Desenvolvimento de Processos, como exigência final para obtenção do título de Doutor em Engenharia de Processos.

ORIENTADORES: Prof. Dra. Josivanda Palmeira Gomes
Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook

CAMPINA GRANDE, 2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

G635d Gonçalves, Chirlaine Cristine.
Desenvolvimento e avaliação de extratos de maracujá (*Passiflora edulis*) no tratamento de feridas cutâneas desenvolvidas em ratos wistar / Chirlaine Cristine Gonçalves. – Campina Grande, 2013.
99 f. : il. color.

Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2013.

"Orientação: Prof. Dr. Josivanda Palmeira Gomes, Prof. Dr. Marcus Vinicius Lia Fook".
Referências.

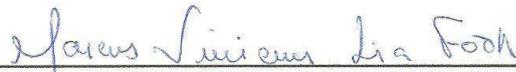
1. *Passiflora Edulis*. 2. Extrato Vegetal. 3. Lesões Cutâneas. 4. Cicatrização. 5. Ratos wistar. I. Gomes, Josivanda Palmeira. II. Fook, Marcus Vinicius Lia. III. Título.

CDU 634.776.3(043)

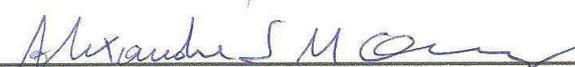
**MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO DE
CHIRLAINE CRISTINE GONÇALVES APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS DO CENTRO DE CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE.**

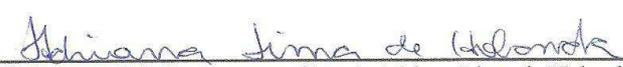
Tese de doutorado **aprovada** em 17 de outubro de 2013

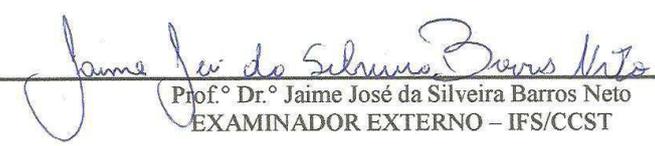

Prof.ª Dr.ª Josivanda Palmeira Gomes
ORIENTADORA – UFCG/CTRN


Prof.º Dr.º Marcus Vinícius Lia Fook
ORIENTADOR – UFCG/DEMa


Prof.º Dr.º Francisco de Assis Cardoso de Almeida (membro UFCG)
EXAMINADOR INTERNO – UFCG/CTRN


Prof.º Dr.º Alexandre José de Melo Queiroz (membro UFCG)
EXAMINADOR INTERNO – CTRN/UFCG


Prof.ª Dr.ª Adriana Lima de Holanda
EXAMINADORA EXTERNA – CESED/FCM


Prof.º Dr.º Jaime José da Silveira Barros Neto
EXAMINADOR EXTERNO – IFS/CCST

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, fonte de inspiração nessa caminhada, por me ensinar a caminhar de forma íntegra, por acreditar no meu potencial, pelo amor, carinho e dedicação, sem vocês não teria conseguido.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pelo dom da vida, por ter me concedido mais essa vitória, toda honra e toda glória sejam dadas a Ele, consagro essa pesquisa ao Senhor.

Aos meus pais, **Carlos Alberto Gonçalves e Maria José Célia Gonçalves**, pelo amor incondicional, aos meus irmãos **Vagner Henrique Gonçalves e Stefan Yohansson Gonçalves** simplesmente por existirem em minha vida, amo demais essa família que o Senhor me presenteou.

A **Silvio Barbosa de Macêdo** pelo apoio, torcida e parceria todo esse tempo. Obrigado por ter cuidado de Boris, nas minhas ausências.

Ao Prof.º Dr. **Francisco de Assis Cardoso de Almeida** pela disponibilidade em sempre me ajudar, por ter compartilhado um pouco do seu conhecimento comigo, pelo exemplo de ser humano, e homem íntegro e temente a Deus, sem o senhor não teria conseguido, muito obrigado.

A Professora. Dra. **Josivanda Palmeira Gomes**, pela orientação, pela alegria que contagia a todos, e por acima de tudo ter acreditado em mim, muito obrigado professora por tudo.

Ao professor orientador, Dr. **Marcus Vinícius Lia Fook**, o professor que me apresentou o doutorado em engenharia de processos, com quem eu dei os meus primeiros passos na realização desse sonho, meu muito obrigado.

Aos professores Prof.º Dr.º **Jaime José da Silveira Barros Neto**, Prof.ª Dr.ª **Adriana Lima de Holanda** e o Prof.º Dr.º **Alexandre José de Melo Queiroz** pela disponibilidade em participar da minha banca.

A professora Dr.ª **Claudia Vaz**, proprietária da clínica de patologia F.Diniz, meu muito obrigado por ter partilhado comigo um pouco do seu saber.

As minhas amigas que me ajudaram no cuidado com os animais **Isabella Guedes, Ana Paula Bezerra, Priscilla Canuto, Jessika Aguiar** e em especial a **Isabella Barros**, minha amiga, parceira, irmã, você sabe o quanto te amo.

A minha amiga e irmã de coração, a melhor veterinária do planeta, **Thárcia Kiara Besera Oliveira**, que me ensinou a trabalhar respeitando os animais, sempre de forma ética, te amo minha amiga.

A professora **Ademilda Garcia**, minha amiga, madrinha, pelo exemplo de profissional e mulher, nunca esquecerei seus ensinamentos, muito obrigado.

A Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande, lugar onde cresci profissionalmente, me tornando uma profissional ética, instituição a qual admiro pela excelência no ensino e pela forma ética que sua diretora presidente a conduz, a professora **Gisele Bianca Nery Gadelha**, a qual eu agradeço a confiança depositada todos esses anos.

Ao corpo docente do Programa de Pós-graduação em Engenharia de Processos, pelo conhecimento adquirido e empenho em transmitir o saber, ao CNPq pelo incentivo a pesquisa.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para que o sonho se tornasse realidade, meus agradecimentos.

MENSAGEM

“Ao homem pertencem os planos do coração, mas do Senhor vem a resposta da língua. Todos os caminhos do homem lhe parecem puros, mas o Senhor avalia o espírito. Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem-sucedidos...” Provérbios 16

RESUMO

O desenvolvimento, a demanda e a oferta dos fitoterápicos em curativos tem aumentado gradativamente com estudos científicos em diversas áreas tecnológicas, com o intuito de baratear o material, fazendo surgir a necessidade de conhecer novos insumos utilizados na regeneração tecidual, principalmente os de origem vegetal, visto que estes compostos podem constituir-se em importantes agentes de controle da cicatrização devido à fácil obtenção e utilização, além disso, sabe-se que as maiores espécies com fins medicamentosos do mundo estão no Brasil, o que tem feito o país investir em políticas públicas direcionadas as chamadas práticas integrativas e complementares. Esta pesquisa teve como objetivo geral desenvolver e avaliar o extrato vegetal das folhas de *Passiflora edulis*, no tratamento de lesões cutâneas em ratos Wistar. A pesquisa teve como cenários o Laboratório de Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas da UFCG, o laboratório de microbiologia e imunologia e o biotério da FCM-CG, a Diagnovet e o laboratório de Patologia F. Diniz. Para obtenção do extrato hidroalcolico foi utilizada as folhas da *Passiflora edulis*, coletadas em um pomar experimental no município de Lagoa Seca, pertencente a Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba de plantas adultas no mês de setembro de 2012. Foram utilizados na pesquisa 28 ratos Wistar, que foram divididos em quatro grupos, a saber: grupo que utilizou extrato a 100% (GE10), grupo que utilizou extrato a 50% (GE5), grupo controle que utilizou água destilada (GC), grupo que utilizou clorexidina a 1% (GEC). Para contaminação dos animais foi empregado o método de difusão em agar, das cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, incubadas em caldo de Bain Hart Infusion. As substâncias utilizadas no estudo foram aplicadas durante 21 dias. A análise macroscópica foi realizada pela captação de imagens através de câmera digital e preenchimento diário de uma ficha previamente elaborada para este fim. No que se refere aos dados relacionados a citotoxicidade foram analisados os resultados bioquímicos das concentrações de TGP/ALT, creatinina e ureia, além dos histológicos da pele, fígado e rim dos animais. Para o cálculo de área foi utilizado o programa AutoCad/Aurodesk, sendo utilizado para análise estatística o software Assistat versão 7.7. Observou-se através da media vertical e horizontal das lesões uma diferença no fechamento da lesão cutânea no sentido horizontal, sendo esse fechamento mais acelerado nos animais que fizeram uso do extrato hidroalcolico das folhas da *Passiflora edulis* a 100% (15,49 mm), comparado ao extrato a 50% (17,54 mm), à água destilada (17,84) e a clorexidina a 1% (19,83 mm); consequentemente os animais do grupo GE10, apresentaram uma área de lesão inferior aos demais no 21º dia de tratamento. Com relação ao tempo, verificou-se maior fechamento da lesão horizontal a medida que este avança, em que no final de 21 dias a eficiência foi de 61,13% (11,66 mm) em relação ao tamanho da lesão inicial (30 mm). A análise da variância relacionada a proliferação vascular, fibroblástica, a colageneização e a reepitelização nas lesões encontradas no último dia da pesquisa, revelou resultado bastante significativo, sendo possível observar que houve uma evolução positiva no que se refere ao processo de cicatrização, nos animais que utilizaram o extrato. Não foi detectada nenhuma alteração renal nem hepática nos animais que utilizaram o extrato em estudo Conclui-se que o uso tópico em ratos, do extrato de *Passiflora edulis*, apresenta efeito significativo no processo de cicatrização das lesões cutâneas estudados, com destaque para concentração de 100%.

PALAVRAS CHAVES: *Passiflora edulis*; extrato vegetal; lesões cutâneas; cicatrização; ratos Wistar

ABSTRACT

The development, the demand and supply of herbal medicines has increased in dressings gradual with scientific studies in various technological areas, in order to lower the material, giving rise to the need to meet new inputs used in the regeneration tecidual, mainly those of vegetable origin, since these compounds can be incorporated into important control agents, wound healing because of easy procurement and use, furthermore, it is known that the larger species with medicinal purposes in the world are in Brazil, which has made the country invest in public policies directed calls integrative and complementary. This research aimed to develop and evaluate the plant extract of leaves of *Passiflora edulis*, in the treatment of cutaneous lesions in rats. The research was the lab scenarios processing and storage of agricultural products (UFCG), the laboratory of microbiology and immunology and vivarium (FCM-CG), the Diagnovet and pathology laboratory F. Diniz. To obtain the hydroalcoholic extract of the leaves was used *Passiflora edulis*, collected in an experimental orchard in Lagoa Seca, belonging to a State Enterprise for Agricultural Committee of Paraíba adult plants in September 2012. Were used in the study 28 Wistar rats were divided into four groups, namely group that used to extract 100 %, the group that used to extract 50 %, control group used distilled water, group receiving 1 % chlorhexidine. To contamination of the animals were used the agar diffusion method, the bacterial strains of *Staphylococcus aureus*, incubated at Bain Hart Infusion broth. The substances used in this study were applied for 21 days. Macroscopic analysis was performed by capturing images through the camera and fill digital diary of a record previously prepared for this purpose. With regard to data related to cytotoxicity results were analyzed biochemical concentrations of TGP/ALT, creatinine and urea, and the histological features of the skin, liver, and kidneys of animals. For the area calculation program was used AutoCad/Aurodesk being used for statistical analysis software version 7.7 ASSISTAT. It was observed by the average vertical and horizontal lesion a difference in closing the skin lesion in the horizontal direction, and this closing faster in animals that have made use of the hydroalcoholic extract of leaves of *Passiflora edulis* to 100% (15.49 mm) compared to the extract at 50% (17.54 mm), distilled water (17.84) and chlorhexidine 1% (19.83 mm); consequently the animals in the GE10, presented a lesion area below the others on day 21 of treatment. With respect to time, there is greater horizontal closing of the injury as it advances, wherein the end of 21 days efficiency was 61.13 % (11.66 mm) compared to the original lesion size (30 mm). The analysis of variance related to vascular proliferation, fibroblast, and the colageneização, reepithelization lesions found on the last day of the survey revealed very significant result, which shows that there was a positive trend with regard to the healing process in animals that received the extract. There were no complications in kidney or liver in animals which used the extract under study. Concluded that topical use in rats, the extract of *Passiflora edulis*, has significant effect on the healing of skin lesions studied data especially 100% concentration.

KEYWORDS : *Passiflora edulis*; plant extract; skin lesions; healing; Wistar rats

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Ilustração da pele e algumas de suas estruturas especializada	19
Figura 2	Ilustração da secagem das folhas de <i>Passiflora edulis</i> , realizada através da estufa programada a 40°C.....	36
Figura 3	Obtenção do extrato vegetal das folhas de <i>Passiflora edulis</i>	37
Figura 4	Ilustração do método de difusão em agar, segundo Bauer et al (1996), das cepas bacterianas de <i>Staphylococcus aureus</i> , incubadas em caldo de Bain Hart Infusion	38
Figura 5	Ilustração dos poços por difusão em Agar, após colocação do extrato de <i>Passiflora edulis</i> , confirmando o efeito positivo do extrato sobre o <i>Staphylococcus aureus</i>	39
Figura 6	Ilustração da realização da incisão realizada nos ratos Wistar utilizados na pesquisa.....	41
Figura 7	Ilustração da contaminação da lesão através do método de difusão em agar, das cepas bacterianas de <i>Staphylococcus aureus</i> , incubadas em caldo de Bain Hart Infusion segundo Bauer et al (1996)	42
Figura 8	Ilustração do tipo de gaiola utilizada na pesquisa, para confinamento dos animais utilizados	42
Figura 9	Grupo GE10 imagens obtidas no 7,14 e 21° dia da pesquisa.....	48
Figura 10	Grupo GE5, imagens obtidas no 7 ,14 e 21° dia da pesquisa	49
Figura 11	Grupo GC, imagens obtidas no 7 ,14 e 21° dia da pesquisa	50
Figura 12	Grupo GEC, imagens obtidas no 7 ,14 e 21° dia da pesquisa	52
Figura 13	Imagem histológica de reparação tecidual da pele de ratos dos grupos GE10, GE5, GC, GEC, no 21 ° dia, em destaque proliferação vascular (setas)	60
Figura 14	Imagem histológica de reparação tecidual da pele de ratos dos grupos GE10, no 21° dia, da proliferação fibroblástica e colagenização.....	61
Figura 15	Imagem histológica de reparação tecidual da pele de ratos dos grupos GE10, no 21° dia, da reepitelização	62
Figura 16	Imagem histológica do fígado de ratos dos grupos GE10, GE5, GC, GEC, respectivamente, órgão retirado no 21° dia	63
Figura 17	Imagem histológica do rim de ratos dos grupos GE10, GE5, GC, respectivamente, órgão retirado no 21° dia	64

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Planimetria grupo GE10.....	54
Quadro 2	Planimetria grupo GE5.....	55
Quadro 3	Planimetria grupo GC.....	56
Quadro 4	Planimetria grupo GEC.....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Maracujá – produção brasileira em toneladas	29
Tabela 2	Distribuição dos ratos Wistar a serem utilizados na pesquisa conforme grupos.....	40
Tabela 3	Classificação e atribuição de índice aos achados histológicos de HE.....	46
Tabela 4	Resultados dos exames bioquímicos realizados nos animais no primeiro e no 21º dia do experimento, em destaque dois animais por grupo.....	58
Tabela 5	Análise de variância de medida horizontal de lesões em ratos Wistar tratadas com extratos hidroalcoólico de <i>Passiflora Edulis</i> , água destilada e clorexidina a 1% depois do 7º, 14º, e 21º, dia da aplicação.....	65
Tabela 6	Valores médios de medida horizontal (mm) de lesões em ratos Wistar tratadas com quatro substância durante 21 dias.....	65
Tabela 7	Análise de variância de medida vertical de lesões em ratos Wistar tratadas com extratos hidroalcoólico de <i>Passiflora Edulis</i> , água destilada e clorexidina a 1% depois do 7º, 14º, e 21º, dia da aplicação.....	66
Tabela 8	Valores médios de medida vertical (mm) de lesões em ratos Wistar tratadas com quatro substância durante 21 dias.....	67
Tabela 9	Análise de variância da proliferação vascular nas lesões em ratos Wistar tratadas com extratos hidroalcoólico de <i>Passiflora Edulis</i> a 100%, a 50%, com água destilada e com clorexidina a 1% no 21º, dia da aplicação.....	68
Tabela 10	Média de tratamento relacionadas a proliferação vascular nos quatros grupos de tratamento.....	68
Tabela 11	Análise de variância da proliferação fibroblástica e da colagenização nas lesões em ratos Wistar tratadas com extratos hidroalcoólico de <i>Passiflora Edulis</i> a 100%, a 50%, com água destilada e com clorexidina a 1% no 21º, dia da aplicação.....	69
Tabela 12	Média de tratamento relacionadas a proliferação fibroblástica e colageneização nos quatro grupos de tratamento.....	69
Tabela 13	Análise de variância da reepitelização nas lesões em ratos Wistar tratadas com extratos hidroalcoólico de <i>Passiflora Edulis</i> a 100%, a 50%, com água destilada e com clorexidina a 1% no 21º, dia da aplicação.....	69
Tabela 14	Média de tratamento relacionadas a reepitelização, nos quatro grupos de tratamentos...	70

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	18
2.1	Objetivo geral	18
2.2	Objetivos específicos	18
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1	Anatomia e fisiologia da pele	19
3.2	Lesões cutâneas: breve histórico	21
3.3	Classificação das lesões cutâneas e o processo de cicatrização	22
3.4	Fitoterapia	27
3.5	Pesquisa envolvendo animais e sua importância	29
3.6	A enfermagem e o tratamento de lesões cutâneas	30
3.7	Tratamento de feridas através de extratos vegetais	31
4	MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1	Cenário de pesquisa	35
4.1.1	<i>Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas (LAPPA)</i>	35
4.1.2	<i>Laboratório de Microbiologia e Imunologia da FCM-CG</i>	38
4.1.3	<i>Biotério da Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande, PB (FCM-CG)</i>	39
4.2	Aplicação das substâncias	42
4.3	Análise dos dados	43
4.3.1	<i>Análise macroscópica</i>	43
4.3.2	<i>Análise bioquímica</i>	43
4.3.3	<i>Análise histopatológica</i>	44
4.3.4	<i>Análise do cálculo de área da lesão através do AutoCad/Aurodesk</i>	46
4.3.5	<i>Análise estatística</i>	46
4.4	Aspectos éticos	47
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	48
5.1	Análise macroscópica	48
5.2	Análise de cálculo de área	53
5.3	Análise bioquímica	58
5.4	Análise histológica	59
5.4.1	<i>Reação inflamatória aguda da lesão</i>	59
5.4.2	<i>Reação inflamatória crônica da lesão</i>	61

5.4.3	<i>Reação hepática</i>	62
5.4.4	<i>Reação renal</i>	64
5.5	Análise estatística	64
5.5.1	<i>Análise das medidas horizontal da lesão</i>	65
5.5.2	<i>Análise das medidas horizontal da lesão</i>	66
5.5.3	<i>Análise da reação inflamatória aguda da lesão</i>	67
5.5.4	<i>Análise da reação inflamatória crônica da lesão</i>	69
6	CONCLUSÕES	71
7	PERSPECTIVAS FUTURAS	72
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
	APÊNDICES	78
	ANEXO	99

1 INTRODUÇÃO

A pele, também conhecida como sistema tegumentar, é o maior órgão do corpo, e corresponde a aproximadamente 10% do peso corporal. As lesões da pele, lesão tecidual, deformidade ou interrupção de continuidade da pele, podem atingir desde a epiderme, até as estruturas mais profundas, como fâscias, músculos, aponeurose, articulações, cartilagens, tendões, órgãos cavitários, ossos ou qualquer outra estrutura do corpo, de forma a desenvolver esses traumas de várias maneiras, que vão de agressões feitas por agentes físicos, químicos, térmicos e até mesmo biológicos (GIOVANINI et al., 2010).

Segundo Diccini et al. (2009), 30% da população adulta apresentará lesão cutânea aguda e precisará utilizar algum dispositivo na lesão.

Atualmente, tem-se no mercado uma grande variedade de curativos originados de diversas substâncias naturais como, alginato de cálcio, ácidos graxos essenciais, carvão ativado, papaína, celulose, entre outros.

O desenvolvimento, a demanda e a oferta dos fitoterápicos em curativos tem aumentado gradativamente com estudos científicos em diversas áreas tecnológicas, com o intuito de baratear o material. Desse modo surge a necessidade de conhecer novos insumos utilizados na regeneração tecidual, principalmente os de origem vegetal, visto que estes compostos podem constituir-se em importantes agentes de controle da cicatrização devido à fácil obtenção e utilização, e ainda minimizam os problemas apresentados pelos produtos químicos sintéticos.

No Brasil, observa-se nas últimas décadas um avanço considerável na formulação e implementação de políticas públicas, programas e legislações que valorizem o uso das plantas medicinais, como exemplo temos a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares e a Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos. Nas duas políticas nota-se a preocupação em garantir o acesso seguro e racional dessas plantas.

Dentre os fitoterápicos utilizados no Brasil, a *Passiflora edulis* (maracujá amarelo) se destaca por já possuir efeitos positivos na população em especial na região Nordeste onde se concentra sua maior produção. Ainda há muito o que se explorar no maracujá no intuito de beneficiar a sociedade, despertando assim o interesse em utilidades cicatrizantes deste, diminuindo os custos elevados dos curativos biológicos atualmente existentes no mercado principalmente para as populações menos favorecidas da região Nordeste.

Neste cenário a enfermagem ocupa um lugar de destaque já que a estomaterapia é hoje uma das mais importantes especialidades desta profissão, tendo em vista, que o cuidar de feridas

é uma assistência, que tem o enfermeiro como o principal cuidador.

Desta forma, o interesse em adquirir conhecimentos, assim como, o desenvolvimento de pesquisas que venham contribuir no tratamento e evolução desta temática é também responsabilidade do enfermeiro como profissional de saúde.

Neste contexto, a busca incessante em desenvolver técnicas e tratamentos de saúde através dos estudos científicos, com o intuito de melhorar a qualidade de vida das pessoas, mostra o comprometimento dos profissionais da área de saúde com sua profissão e com a sociedade.

Para tanto, o desenvolvimento da pesquisa científica com materiais que auxilie no tratamento do tecido lesionado, assim, como o conhecimento teórico e prático dos fitoterápicos já disponíveis para essa finalidade, deve ser tema de relevante preocupação e estudo para os profissionais enfermeiros, tendo em vista que o acompanhamento das feridas deve ser realizado de forma sistematizada, tornando necessário que o enfermeiro tenha um profundo domínio sobre essa problemática.

É oportuno destacar que tal avanço só será possível através da interdisciplinaridade resultante da união e do desenvolvimento em conjunto de áreas como Ciências Biológicas, Ciências Médicas e Veterinária, concomitantemente com o progressivo avanço tecnológico das Ciências Exatas e Engenharias, só assim é possível minimizar desconfortos e melhorar a qualidade de vida dos pacientes portadores de lesões cutâneas.

Os experimentos com animais, ganham evidência nesse cenário, auxiliando na avaliação clínica. Daí a importância de se iniciar novas alternativas de tratamentos cutâneos em animais, respeitando os aspectos éticos envolvidos; para que posteriormente tais insumos sejam utilizados em seres humanos com maior viabilidade e segurança.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver e avaliar o extrato vegetal das folhas de *Passiflora edulis*, no tratamento de lesões cutâneas em ratos Wistar.

2.2 Objetivos específicos

- a) Desenvolver o extrato hidroalcolico vegetal das folhas de *Passiflora edulis* a 100 e a 50%;
- b) Estudar, o efeito do extrato a 100 e a 50% em relação ao uso da água destilada e da clorexidina a 1% na cicatrização de feridas cutâneas em ratos Wistar;
- c) Avaliar o efeito do extrato quanto a citotoxicidade; através da análise bioquímica das doses séricas de enzimas hepáticas e renais, após aplicação do extrato
- d) Analisar histopatologicamente o rim, o fígado e a epiderme dos animais que participaram da pesquisa.
- e) Avaliar o emprego do extrato de *Passiflora edulis*, no controle de contaminação cutânea com *Staphylococcus aureus*

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Anatomia e fisiologia da pele

A pele é o maior sistema orgânico do corpo, sendo indispensável para a vida humana, já que uma de suas funções é formar uma barreira entre os órgãos internos e o meio ambiente externo.

Hess (2002), descreve algumas das funções da pele: proteção, atua como barreira física contra microorganismo como vírus, bactérias e outras substâncias estranhas, protegendo contra infecções e perda excessiva de líquidos; sensibilidade através das terminações nervosas existentes na pele, permitindo que as pessoas sintam dor, pressão, calor e frio; termorregulação que permite controlar a temperatura do corpo mediante a vasoconstrição, vasodilatação e sudorese; excreção onde com a ajuda da termorregulação excreta resíduos, como eletrólitos e água; e a função de metabolismo que proporciona a síntese de vitamina D através da exposição da pele à luz solar, ativando com isso o metabolismo de cálcio fósforo e minerais que desempenham um papel importante na formação óssea.

A anatomicamente a pele é dividida em três camadas: epiderme, derme e tecido subcutâneo (Figura 1) e cada uma delas desempenha funções importantes.

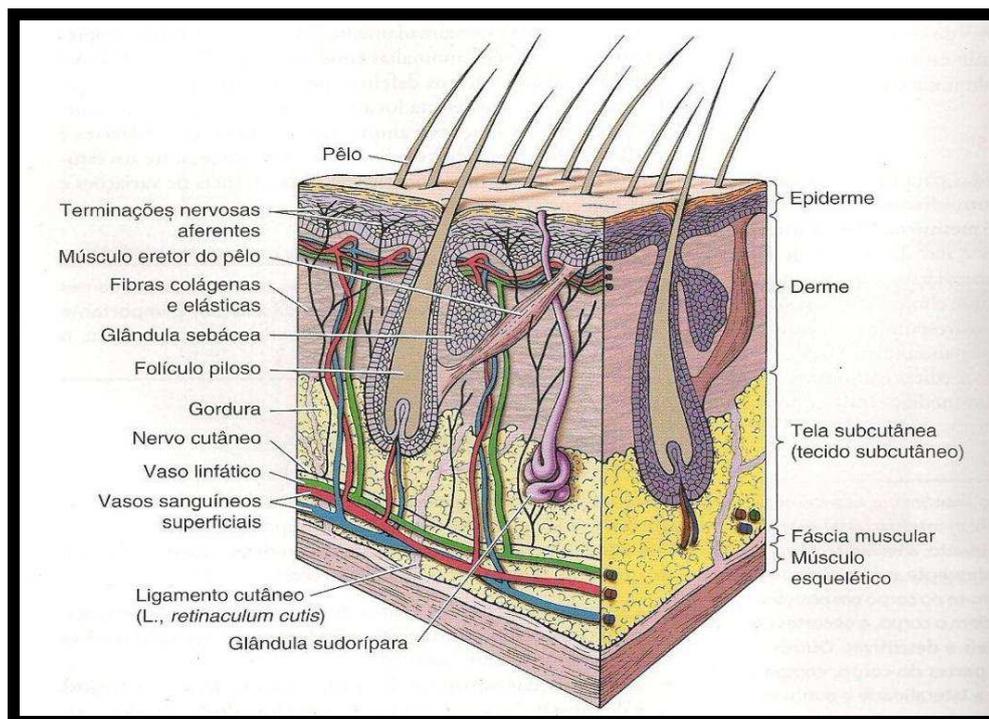


Figura 1. Ilustração da pele e algumas de suas estruturas especializada
Fonte: Moore e Dalley (2007).

A epiderme é uma fina camada queratinizada composta de tecido epitelial estratificado,

dividida em camadas celulares distintas. Os queratinócitos, que produzem queratina uma proteína insolúvel que confere a pele propriedade protetora (PORTO, 2005). Os melanócitos, produtores de melanina as quais protege a pele das radiações ultra-violeta são responsáveis pela coloração da pele. As células de Langerhans possuem uma função de extrema importância fazendo com que os antígenos exógenos sejam captados pelos linfócitos T onde os mesmos são ativados (SILVA et al., 2010).

A organização da epiderme se dá por uma divisão de cinco subcamadas: germinativa que faz limite com a derme, estrato espinhoso, estrato granuloso, estrato lúcido e o córneo o mais externo (BLANES, 2004).

A derme constitui a maior porção da pele, servindo de sustentação para a epiderme composta de fibroblasto, fibras elásticas e de colágeno, tornando assim a pele resistente e elástica, rica em vasos sanguíneos, folículos pilosos, vasos linfáticos, terminações nervosa, órgãos sensoriais, glândulas sebáceas e sudoríparas (GEOVANINI et al., 2010). A derme possui duas camadas: a papilar e a reticulada. A papilar que está localizada abaixo da epiderme é rica em fibroblasto, produz junto com a camada reticular, o colágeno presente no tecido conjuntivo (SMELTZER; BARE, 2008).

Abaixo da derme tem-se a hipoderme ou tecido subcutâneo camada mais profunda da pele, constituída especialmente de tecido adiposo, que serve de isolamento térmico, impedindo a perda de calor, protegendo a pele contra traumas mecânicos além de servir de reserva nutritiva (GEOVANINI et al., 2010).

Moore e Dalley (2007) ressaltam ainda que o tecido subcutâneo apresenta glândulas sudoríparas, vasos sanguíneos superficiais, vasos linfáticos e nervos cutâneos.

Todas as funções da pele tem sua especificidade para o corpo humano e são de extrema importância como a de proteção já citada. É também um órgão imunológico visto que os queratinócitos agem na regulação da resposta linfática e das reações inflamatórias. As terminações nervosas fazem com que a pele possua função sensorial capaz de captar estímulos térmicos, dolorosos, táteis e de pressão (ROTTA, 2008). A pele ainda possui função de termorregulação ou seja, mantém o controle homeostático da temperatura corporal através da sudorese e da constricção e dilatação da rede vascular (SILVA et al., 2010).

O tegumento (pele) é um órgão de extrema sensibilidade susceptível a invasões de corpos estranhos (microrganismos, fungos, bactérias), podendo levar a um quadro infeccioso. Quando lesionada por agentes físicos ou químicos é necessário ser reparada, visto que sua integridade foi rompida, isto se dá pela cicatrização, um processo fisiológico que irá restaurar os tecidos vivos.

Dai a necessidade de se utilizar métodos terapêuticos para tal fim (MALAGUTTI; KAKIHARA, 2010)

O aspecto geral da pele permite avaliar o cliente de forma que os achados cutâneos e as queixas dermatológicas são um dos principais motivos que o levam a procurar um tratamento de saúde, isso acontece por que a pele é o espelho da condição do paciente, muitas das alterações sistêmicas são nela refletidas, a mudança na coloração é uma delas que pode representar falta de oxigênio no sangue, como consequência a pele fica azulada, mais se o caso for uma inflamação ou febre a pele vai se apresentar avermelhada, mas uma das principais alterações que vem comprometer a sua integridade são as lesões cutâneas que ocorrem quando a epiderme, derme e/ou tecido subcutâneo são rompidos (SMELTZER; BARE 2008).

3.2 Lesões cutâneas: breve histórico

Em diversos achados históricos é suscitada a preocupação do tratamento da ferida, como parte da vivência dos primórdios humanos a milênios de anos atrás, onde verifica-se em passagens Bíblicas muitos relatos sobre o desenvolvimento da prática e orientações no cuidar dessas lesões (PEREIRA, 2006).

Dantas (2008) ressalta que há evidências de que na pré-História eram utilizados plantas ou seus extratos como cataplasmas e umidificadores de feridas abertas, confirmando com isso que a preocupação com o tratamento de feridas também estava presente nos povos da Antiguidade.

De acordo com Silva et al. (2007) várias civilizações da antiguidade desenvolveram tratamentos para feridas, principalmente a egípcia, os mesopotâmicos, os hindus e os chineses.

Blanes (2004), relata que na Mesopotâmia as feridas eram lavadas com água ou leite, o mel era utilizado como curativo, já a lã de carneiro e a folha e cascas de árvores serviam como cobertura para lesão.

Os egípcios tratavam seus ferimentos utilizando excremento de mosca e lagartixa, urina de humano, fezes de crianças recém-nascidas, pão mofado entre outros produtos, que eram considerado por muitos como “farmácia da sujeira” (DANTAS, 2008). Outra característica desta civilização é a utilização de tiras de pano para manter as margens da lesão unidas, vez que uma ferida fechada cicatrizava mais rápido que a aberta (BLANES, 2004).

Desta forma, destaca-se que os diferentes tipos de tratamento revelavam a realidade de cada época e de cada civilização (GIOVANINI et al., 2010). Além disso, outro fator que deve ser

destacado é o apelo religioso onde as feridas eram percebidas como punição e sua cura tinha ligação com milagres (SILVA et al., 2007)

O processo empírico de cura, relacionado com o misticismo era empregado em ferimentos das mais diversas ordens, pois se acreditava que a cura se dava pelas rezas, rituais de fé, magias e sacrifícios, associados ao uso de ervas retiradas da flora e inúmeras porções de drogas (GIOVANINI et al., 2010).

Silva et al. (2007) relata que a religião perde influência no início da Era Cristã, com a evidência da medicina de Hipócrates, que concentrava mais seus estudos no doente e não na doença, relacionando a saúde como um estado de equilíbrio físico e mental. Através de seus estudos Hipócrates (300 a.C) sugeriu o tratamento de feridas infectadas com calor e o uso de pomadas para promover a supuração e a remoção do material necrosado e assim reduzir a inflamação (BLANES, 2004).

No entanto, mesmo com os inúmeros avanços no tratamento da lesão de pele ainda é possível perceber a influência da religião nos dias atuais, como destaca Dantas (2008), ao afirmar a existência para muitos de santos ou taumaturgos protetores de feridas, como, São Sebastião, São Bartolomeu e São Cosme e Damião.

Ainda de acordo com o mesmo autor no final do século XIX, Pasteur desenvolve a “Teoria dos Germes” conceituando que as feridas deveriam ser preservadas secas e tratadas com substâncias antibacterianas.

Na Primeira Guerra Mundial a medicina dá um grande avanço para o controle das infecções, com o surgimento da penicilina, logo após no final da década de 1950, começam a surgir os primeiros estudos sobre cicatrização de feridas em ambiente úmido como facilitadora da cicatrização (CANDIDO, 2001).

No Brasil, somente na década de 90 começaram a surgir as primeiras pesquisas sobre cicatrização de feridas em ambiente úmido, e só no final desta década entraram no mercado nacional os produtos específicos com esta finalidade (DANTAS, 2008).

3.3 Classificação das lesões cutâneas e o processo de cicatrização

De acordo com a UNICAMP (1999) a classificação das feridas é um processo de grande relevância que serve de suporte para prescrição do tratamento adequado.

Segundo Ribeiro (2003) as lesões de pele possuem diferentes etiologias, o que há em comum entre elas é a ruptura do tecido epitelial assim como o rompimento de vasos sanguíneos.

Quando atinge apenas as camadas da epiderme e derme; é denominada ferida superficial e, quando há comprometimento da epiderme, derme e tecido subcutâneo de ferida profunda superficial e quando atinge o tecido muscular e as estruturas adjacentes ferida profunda total (GIOVANINI et al., 2010).

De acordo com o grau de contaminação Fernandes (2005), classifica as feridas em:

- a) Limpas quando produzida em ambiente cirúrgico, sem a abertura de sistemas diretórios, genito-urinário e respiratório, a probabilidade de infecção desta ferida é de 1 a 5%;
- b) Limpas-contaminadas ou potencialmente contaminadas, nesta ferida há uma contaminação grosseira, por exemplo, um corte ocasionado por uma faca de cozinha, ou nas situações cirúrgicas em que houve abertura dos sistemas contaminados, o risco de infecção é de 3 a 11%;
- c) Contaminada: é considerada contaminada aquela que já passou seis horas após o ato que resultou na ferida, o risco de infecção varia de 10 a 17%;
- d) Infectada que é a ferida que apresenta sinais visíveis de infecção.

Ainda segundo o mesmo autor quanto à etiologia as feridas são classificadas em:

- a) Acidental ou traumática: é ocasionada de forma imprevisível como queimaduras, inoculação de veneno ou cortes com objetos perfurantes, cortantes entre outros;
- b) Intencional ou cirúrgica: é ocasionada quando há um fim terapêutico; patológica: são feridas decorrentes de uma determinada doença de base;
- c) Iatrogênica: são lesões resultantes de algum tratamento ou procedimento;
- d) Fatores ou causas externas: são lesões de pele onde a causa é uma pressão contínua do peso do corpo causando fricção e umidade (GIOVANINI et al., 2010).

De acordo com Dealey (2009), as feridas também podem ser classificadas como crônicas e agudas, sendo as crônicas lesões de longa duração ou quando aparecem com frequência, já as agudas são feridas de ocorrência traumática como corte, lacerações, queimaduras e outras, geralmente essas lesões cicatrizam rapidamente e não apresentam muitas complicações.

Quando a integridade da pele é alterada ocasionando uma lesão, inicia-se o processo de cicatrização. O processo de cicatrização de uma ferida é composto por uma série de estágios complexos que são interdependentes, concomitantes e sincrônicos em três fases consecutivas, havendo um dinamismo com sobreposição entre eles (BLANES, 2004).

O processo cicatricial se torna importante para a avaliação e evolução da ferida porque a condução do tratamento pode variar de acordo com a fase do processo de reparação tissular que corresponde as seguintes fases: inflamatória; proliferativa e maturação.

A fase inflamatória é um processo característico das respostas fisiológicas à lesão tecidual

ocasionado por trauma, resposta imune a um corpo estranho, privação de oxigênio ou nutrientes, agentes químicos, invasão de germes, temperatura extrema ou radiação ionizante. Logo em seguida ao dano ocorre a vasoconstrição que cessa o sangramento com o auxílio das plaquetas, ocorrendo também a ativação do sistema imune local e a liberação de substâncias quimiotáticas que atraem leucócitos polimorfo-nucleares e monócitos (MOREIRA, 2006). A inflamação manifesta-se clinicamente pelo aparecimento de calor, dor, edema, e perda da função, esses sinais podem progredir, se a infecção intensificar ou serem mínimos e provisórios (BRASIL, 2002). O objetivo da inflamação é limitar os efeitos nocivos das bactérias ou traumatismo, destruindo ou neutralizando germes por todo o organismo, este processo tem duração de aproximadamente três a quatro dias (GAMBA; BARBOSA, 2006).

A Fase proliferativa tem em seu processo algumas características que são descritas pelos seguintes fenômenos: deposição de colágeno, angiogênese, formação de tecido de granulação, contração da ferida e início da reepitelização (GAMBA; BARBOSA, 2006). Com a progressão da reconstituição, vão aparecendo novos vasos sanguíneos que começam durante o estágio inflamatório e terminam aproximadamente vinte quatro dias após (POTTER; PERRY, 2004). Na angiogênese (novos capilares) ocorre a granulação formação de novos tecidos (BRASIL, 2002). Com a evolução do tecido de granulação os fibroblastos estimulam a liberação de colágeno que fornece ao tecido força e integridade estrutural.

A Fase de maturação/remodelamento corresponde ao estágio final da cicatrização, dependendo da profundidade e extensão da ferida pode levar mais de um ano para sua finalização (POTTER; PERRY, 2004). Esta fase tem seu início com a formação do tecido de granulação e da reorganização das fibras de colágenos sendo responsável também pelo aumento da força de tração durante a remodelagem e a diminuição da atividade celular e o número de vasos sanguíneos (BRASIL, 2002). Por ocorrer uma redução da necessidade de fornecimento de nutrientes e oxigênio para o local lesionado, a ferida nesta fase torna-se menos vascularizada possuindo uma coloração mais clara que a pele normal (GAMBA; BARBOSA, 2006).

A cicatrização da ferida pode ocorrer por primeira intenção que tem como características a junção das bordas da lesão por meio de sutura ou aproximação, onde as mesmas não têm sinais de infecção e quanto ao grau de contaminação são limpas (GIOVANINI et al., 2010). Por segunda intenção que ocorre em lesões onde houve perda de tecido e não é possível juntar as extremidades da pele por ficarem distantes umas das outras, sendo necessário antes da contração e epitelização a formação de tecido de granulação (BLANES, 2004). E por *terceira intenção* que é um tipo de cicatrização que ocorre em feridas abertas que foram suturadas inicialmente, e

depois se romperam ou tiveram de ser reabertas, nesta fase existem fatores que retardam o processo de cicatrização, como a aplicação de drenos, ostomias e feridas cirúrgicas infectadas (GIOVANINI et al., 2010).

Desta forma, Gomes (2001) ressalta que para haver uma boa reparação do tecido lesionado se faz necessário um ambiente local que tenha temperatura, umidade e oxigenação adequada, e assim, propicie a divisão e migração celular, a formação do colágeno, estimulação da angiogênese e epitelização e permita a contração da ferida impedindo formação de crosta.

As fases da cicatrização podem ser retardadas pela influência de diversos fatores que podem ser sistêmicos ou locais, estes por sua vez interferem no processo fisiológico, fazendo com que os resultados não sejam satisfatórios (MEIRELES; SILVA, 2007).

Os fatores locais que retardam a o processo de reparação tissular incluem pressão, ambiente seco, trauma, edema, infecção e incontinência e os fatores sistêmicos conforme descreve o mesmo autor são: idade, biótipo, doenças crônicas, condições nutricionais, insuficiências vasculares, imunossupressão e radioterapia.

Desta forma, a avaliação criteriosa da lesão e de seu portador é essencial para a identificação de diversos fatores que possam levar a uma alteração da fisiologia normal das etapas de cicatrização (GIOVANINI et al., 2010).

A literatura é abrangente no que se refere aos fatores que retardam ou impedem a cicatrização da pele, no entanto as principais entre as locais e sistêmicas são:

- a) Infecção: para Iron (2005) a infecção se torna a maior preocupação em termos de uma cicatrização demorada, haja vista que os inúmeros tratamentos tópicos disponíveis no mercado utilizados para o controle de infecção de feridas são citotóxicos (venosos para células) propriedade que por si só retarda o processo cicatricial.
- b) Pressão: o retardo da cicatrização por este fator se dá quando os tecidos circundantes têm a irrigação sanguínea da rede capilar prejudicada atrapalhando o fluxo de sangue para este local, por uma pressão, fricção ou cisalhamento, seja de forma excessiva ou contínua.
- c) Tipo de cobertura: para Meireles e Silva (2007) o profissional de saúde ao escolher um tipo de curativo, deve levar em consideração as peculiaridades de cada ferida sendo esta decisão clínica, uma ação extremamente importante que pode contribuir ou não para a cicatrização da lesão. Alves e Marques (2003), ressaltam que quando a ferida é mantida em ambiente úmido, por meio de uma cobertura adequada, há um aumento significativo da migração celular favorecendo a epitelização.
- d) Edema: quando a ferida apresenta este sinal clínico ocorre uma interferência na prolifera-

ção celular e na síntese protéica, diminuindo o fluxo de sangue e o metabolismo local, o resultado deste processo favorece a necrose e o crescimento bacteriano (GIOVANINI et al., 2010)

- e) Necrose: o tecido morto e desvitalizado tem grande influência no retardo cicatricial da lesão, por esta razão o tecido necrótico deve ser removido do local da ferida. De acordo com Alves e Marques (2003) o tecido necrosado prolonga a fase de inflamação, contribuindo para cronificação da lesão, sendo sua presença associada a altos índices de contaminação.
- f) Tabagismo: o fumo reduz a quantidade de hemoglobina funcional no sangue, diminuindo assim a oxigenação tissular e conseqüentemente o processo cicatricial da lesão (POTTER; PERRY, 2004). Segundo Brasil (2002) a nicotina favorece a vasoconstrição que aumenta o risco de necrose tecidual e úlceras periféricas.
- g) Idade: este fator é considerado um dos mais importantes no que se refere aos aspectos sistêmicos do retardo cicatricial, sendo um risco tanto para o surgimento da lesão como para sua manutenção (BLANES, 2004).
- h) Estado nutricional: as condições nutricionais têm um efeito profundo na cicatrização, haja vista que para um crescimento de um tecido novo é necessário um adequado suprimento de proteínas (MEIRELES; SILVA, 2007). A deficiência de proteínas no organismo de um portador de lesão de pele retarda a vascularização, a formação linfática, a proliferação de fibroblastos, a síntese do colágeno e o remodelamento do ferimento.
- i) Doenças crônicas ou de base: o diabetes é um distúrbio metabólico que predispõe os clientes à dificuldades no processo de reparação tissular, devido à diminuição da síntese de colágeno, da angiogênese e da fagocitose. Potter e Perry (2004), justificam essas alterações devido aos seguintes fatores: o diabetes faz com que a hemoglobina tenha maior afinidade pelo oxigênio, com isso ocorre falha na liberação de oxigênio para os tecidos; a hiperglicemia altera a capacidade dos leucócitos em realizar a fagocitose e suportar o crescimento de infecções; e a um comprometimento dos pequenos vasos sanguíneos, a qual compromete a perfusão tissular. Outras doenças crônicas com o metabolismo alterado como, câncer, doença coronariana, doença vascular periférica, hipertensão arterial e insuficiência renal também tem o processo de cicatrização retardado (GIOVANINI et al., 2010).

A ferida não pode ser vista como um fenômeno que ocorre de forma isolada, as causas que podem levar a perda da continuidade da pele são muitas e interdependentes, por esta razão,

se torna imperioso fazer a avaliação da ferida considerando os fatores locais e sistêmicos.

3.4 Fitoterapia

A Fitoterapia é uma terapêutica caracterizada pelo uso de plantas medicinais em suas mais diferentes formas farmacêuticas, sem a utilização de substâncias ativas isoladas, ainda que de origem vegetal (BRASIL, 2006). O uso de plantas medicinais para o tratamento de doenças é o método terapêutico mais antigo que se tem conhecimento (GUIMARÃES et al., 2011).

De acordo com Oliveira et al. (2009), as plantas medicinais sempre desempenharam um papel significativo na vida do ser humano, seja pelo valor místico que certas culturas lhe atribuem, seja pelo uso terapêutico, bastante difundido em todas as culturas e povos. Até a primeira metade do século XX foi a terapêutica predominante, mas a partir dessa época começou a perder espaço para os medicamentos sintéticos.

A OMS vem valorizando o uso de plantas medicinais no âmbito sanitário visto que as maiores espécies com fins medicamentosos do mundo estão presente no Brasil. Desta forma em relação a fitoterapia a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) garante o acesso a plantas medicinais e fitoterápicos aos usuários do SUS, colaborando assim para a melhoria da integralidade da saúde, capacitando os profissionais para o conhecimento e manipulação do fitoterápico (BRASIL, 2006).

Entretanto, devido aos efeitos colaterais e ao alto custo dos medicamentos, a Fitoterapia vem novamente sendo colocada em destaque (TEIXEIRA et al., 2012). Na concepção de Guimarães et al. (2011) o crescimento do uso de fitoterápicos deve-se à competência científica de estudar, testar e recomendar a utilização de determinadas plantas para fins específicos. A utilização adequada dessas preparações traz uma série de benefícios para a saúde humana.

Nas últimas décadas houve um considerável avanço na formulação e implementação de políticas públicas, programas e legislações visando a valorização das plantas medicinais, destacando-se a própria PNPIC e a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) (BRASIL, 2012). Estas políticas objetivam garantir à população o acesso seguro e o uso racional das plantas medicinais. De acordo com Guimarães et al., (2011) a PNPMF é baseada em seis princípios: 1) ampliação das ações terapêuticas; 2) melhoria da atenção à saúde; 3) uso sustentável da biodiversidade; 4) valorização do conhecimento popular; 5) fortalecimento industrial e tecnológico e 6) participação popular.

Dessa forma, o uso de fitoterápicos justifica-se não apenas pela propriedade medicinal cientificamente comprovada, mas também pelo baixo custo e grande disponibilidade desse recurso. No entanto, é preciso que haja uma orientação quanto a utilização adequada dessa terapêutica evitando que essa prática tão comum em nosso meio surta efeitos indesejados.

O Conselho Federal de Enfermagem através da resolução 197/1997 no Art. 1º estabelecer e reconhece as Terapias Alternativas como especialidade e/ou qualificação do profissional de Enfermagem, para tal o profissional terá que concluir um curso de no mínimo 360 horas referente a terapia complementar escolhida (COFEN, 1997).

Sendo assim, os profissionais de saúde em especial o enfermeiro devem procurar garantir o acesso a novos produtos que apresentem um custo menos elevado, o que culmina em sua maioria na utilização de fitoterápicos, muitas vezes fundamentados no saber popular, no intuito de oferecer melhoria na qualidade de vida, valorizando o conhecimento existente na comunidade (REZENDE; COCCO, 2002).

Compostos de origem vegetal, os extratos podem constituir-se em importantes agentes de controle infeccioso devido à fácil obtenção e utilização, pelo baixo custo, e por minimizarem os problemas apresentados pelos produtos químicos sintéticos.

Dentre as possíveis plantas que viabilizam a produção de extrato, encontra-se a *Passiflora Edulis*, conhecida popularmente como maracujá amarelo, sendo este um fruto pertencente a família *Passifloraceae*, bastante apreciado para fins culinários e terapêuticos. cultivado devido seu saboroso fruto, e também já utilizado pela população para fins terapêuticos. Entretanto, pouco usado e estudado para tratamento de infecções e lesões cutâneas (GARROS et al., 2006).

Segundo Barbosa (2006), o maracujá tem seu nome de origem indígena derivado de marukuia (alimento em forma de cuia). Os seres humanos cultivam o maracujá de forma bastante diversificada por ser um alimento com características peculiares (alimentícias, ornamentais e medicinais). Destaca-se o valor medicinal deste possuindo efeitos naturais de calmantes e sedativos derivados dos frutos e folhas, juntamente com valores de vitamina C, cálcio e fósforo.

A *Passiflora edulis* possui diversos efeitos farmacológicos dentre eles propriedades analgésicas e antiinflamatórias. Em relação a sua composição química são encontrados os alcaloides (harmana, harmina, harmalina e harmol), flavanóides e carotenóides (SILVA et al., 2006).

Atualmente a produção de maracujá vem crescendo mundialmente, hoje países como Venezuela, Argentina, Colômbia, França, Espanha, entre outros, praticam o cultivo do mesmo,

entretanto o Brasil se destaca por ser o maior produtor mundial de Maracujá com uma área de 30.000 hectares e produção de 560.000 toneladas por ano (MUNIZ, 2008)

Sabe-se que o nordeste em relação aos outros estados brasileiros, é o principal produtor do maracujá, tendo a Bahia como o estado de maior produção no nordeste (Tabela 1).

Tabela 1. Maracujá – produção Brasileira em toneladas

Região	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
NORTE	38.301	44.789	51.077	52.254	49.371	41.310	36.985
NORDESTE	214.467	209.401	244.343	377.136	421.437	465.925	523.822
MA	270	412	219	322	388	335	333
PI	210	185	169	99,0	99,0	199	807
CE	41.113	28.856	40.261	101.035	116.026	112.804	129.001
RN	2.339	2.388	2.879	3.811	5.099	5.251	5.19
PB	6.031	6.070	6.072	6.453	7.862	7.898	6.533
PE	7.239	7.535	7.803	10.553	12.370	15.313	15.284
AL	10.752	9.272	5.504	4.982	4.944	4.547	4.384
SE	38.637	40.056	41.526	41.019	44.782	44.133	44.486
BA	107.876	114.627	139.910	207.962	229.876	275.445	317.475
SUDESTE	197.074	200.830	151.096	152.204	156.956	137.295	110.448
SUL	16.214	15.906	13.114	12.390	14.471	15.975	16.626
C.OESTE	19.286	20.684	19.583	21.212	22.051	23.871	25.634
BRASIL	485.342	491.619	479.813	615.196	664.286	684.376	713.515

Fonte: Agriannual, 2012

Desta forma, o extrato do maracujá, caso apresente efeito positivo no processo de cicatrização, pode vir a ser uma alternativa de controle de uma lesão.

3.5 Pesquisa envolvendo animais e sua importância

Além de ser um elemento fundamental e indispensável ao progresso da medicina, a viviseção é também de extrema utilidade na educação médica. O ensino nos Cursos de Biologia, Farmácia e Veterinária também são inconcebíveis sem as aulas práticas em animais.

Os resultados da experimentação animal justificam a sua utilização em pesquisa. Resultados válidos e precisos fornecem informações úteis para a decisão sobre os tratamentos que devem ser levados adiante em ensaios clínicos. No entanto, toda e qualquer pesquisa deverá antes de sua execução ser avaliada por uma comissão de ética no uso de animais, (CEUA).

O primeiro país a criar comissões de ética para pesquisa com animais foi a Suécia, em 1979. Os Estados Unidos adotaram essa prática em 1984, enquanto o Brasil somente passou a constituir tais grupos nesta década. É importante que dessas comissões façam parte pessoas capazes de avaliar a natureza e as consequências que determinado trabalho pode trazer. Os membros das comissões de ética e os legisladores têm a difícil tarefa de conciliar os aspectos éticos com os interesses científicos, econômicos, comerciais e legais.

Hoje no Brasil, a lei nº11.794, de outubro de 2008, regulamenta o inciso VII do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; e revoga a Lei nº6.638, de 8 de maio de 1979 (BRASIL, 2008). Essa que já existia veio reformulada e trás a tona o discurso do trabalho científico de uma forma ética, considerando que o animal não é um instrumento de trabalho, mas um ser vivo.

De forma geral ao se planejar qualquer prática em animais, seja para ensino ou para pesquisa, deve-se ter claro quais os objetivos do experimento. Os animais vivos somente devem ser utilizados nos casos em que forem indispensáveis. Os experimentos que não forem prejudicados por modelos *in vitro* ou por outras alternativas devem ser conduzidos desta forma.

3.6 A enfermagem e o tratamento de lesões cutâneas

O cuidado com as feridas enquanto atuação de profissionais de saúde contou na sua origem com a presença de médicos e estudantes de medicina, especialmente os que eram responsáveis pelo setor cirúrgico, no entanto, essa prática muda na década de 30 quando esse cuidado passou gradativamente a ser prestado por freiras, sendo posteriormente ainda no final desta mesma década, delegado as enfermeiras (NASCIMENTO, 2009).

No Brasil o tratamento de feridas tem sido objeto de estudos dos profissionais da área de saúde, tendo como destaque a atuação do profissional enfermeiro que tem muito contribuído para os avanços tecnológicos e para o sucesso no tratamento dos portadores de feridas (CUNHA, 2006).

A enfermagem possui papel fundamental e acima de tudo compromisso com os portadores de feridas, desta forma o enfermeiro deve estar sempre buscando novas medidas de

avaliação e tratamento, visando uma melhor reparação tecidual e com menos danos/traumas ao paciente. Torna-se indispensável que este profissional tenha disponível em seu trabalho materiais/treinamentos específicos e adequados, possibilitando realizar um plano de cuidados e condutas eficazes (MORAIS et al., 2008).

O enfermeiro ao observar um novo método de prevenção e tratamento de feridas dá início à construção de procedimentos possibilitando maior autonomia profissional e conhecimento prático científico onde a medida que são desenvolvidas novas técnicas melhora a qualidade de assistência prestada à população provocando reflexão quanto à atualização na profissão.

Hoje a enfermagem conta com a Sociedade Brasileira de Enfermagem Dermatológica (SOBEND) fundada em 1997 e a Associação Brasileira de Estomaterapia (SOBEST) existente desde 1992, respaldando o enfermeiro na execução do seu trabalho e ao mesmo tempo fazendo com que esse profissional se qualifique buscando o compromisso com seu paciente através de uma nova abordagem terapêutica de cuidados em feridas.

O enfermeiro independente de ser estomaterapeuta, deve ter a responsabilidade de manter-se atualizado, aprimorando sempre seus conhecimentos no que diz respeito aos avanços técnicos e científicos relativos às áreas de tratamento e reparação tecidual, já que é o mesmo que acompanha e monitora a ferida, documentando a assistência prestada, necessitando para isso de uma correta avaliação da lesão.

A enfermagem atual necessita corresponder às expectativas do paciente e da sociedade em geral que diante dos avanços tecnológicos na área da saúde precisa ter cuidados adequados e eficazes, e para isso é de extrema importância a atualização e a busca por novos conhecimentos, tendo em vista que os novos rumos da enfermagem abriram um leque de alternativas que proporcionam o aperfeiçoamento da prática do cuidar em enfermagem.

O tratamento de feridas vem avançando consideravelmente, visto que a cada dia vão se inovando no mercado novos tipos de curativos, novas técnicas e medicamentos que visam melhorar o tratamento e a qualidade de vida dos usuários.

3.7 Tratamento de feridas através de extratos vegetais

Os produtos naturais são considerados uma forma de utilização terapêutica na medicina bastante usados no combate a infecções; Conseqüentemente o uso de extratos vegetais na invasão de microrganismos infectantes de feridas tem grande relevância nas técnicas curativas.

Pesquisas de novas substâncias com finalidades terapêuticas têm sido realizadas procu-

rando isolar, extrair ou purificar novos compostos de origem vegetal. Observa-se hoje o uso cada vez mais frequente de plantas com fins medicinais. A utilização de produtos naturais, especialmente de plantas medicinais, tem ocorrido de forma indiscriminada, com pouca base científica sólida, recebendo destaque exagerado como indispensáveis à boa saúde a ponto de despertar preocupação para botânicos, engenheiros agrícolas, químicos, médicos e farmacêuticos (BEZERRA et al., 2006).

Uma das principais formas de utilização das plantas medicinais, é através de extrato vegetais. Teixeira e Barros (2010), definem extrato como sendo a preparação de consistência líquida, sólida, ou intermediária, obtida a partir de material animal ou vegetal; os mesmos autores destacam ainda que o material utilizado pode sofrer tratamento preliminar, como inativação de enzimas, moagem ou desengorduramento.

Ainda segundo os referidos autores, existe também o extrato fluido, onde ocorre a dissolução do extrato seco podendo ser padronizado em diferentes concentrações do solvente.

Os processos mais utilizados para elaboração de extrato são:

- a) Maceração: consiste no simples contato da droga vegetal com o líquido extrator, por um período determinado.
- b) Infusão: água fervente é adicionada a planta.
- c) Decocção: chega-se a fervura da água em contato com o vegetal.
- d) Digestão: o contato droga-solvente é mantido a uma temperatura de 40 a 60 °C.
- e) Percolação: é o processo que pela dinâmica e artifícios possíveis permite uma maior extração, uma extração mais eficiente. A passagem do líquido extrator através da droga moída, em aparelhos conhecidos por percoladores, com controle do fluxo e variação da mistura dos solventes extratores.
- f) Destilação: processo em que a planta em contato com a água ou álcool é submetida a destilação.
- g) Secagem: quando o extrato líquido tem o seu solvente removido, por ser feito por simples aquecimento e evaporação ou submetidos a processos de spray dryer, drum dryer, evaporação, concentração sobre vácuos, dentre outros.

Outros processos mais sofisticados permitem obter extratos qualitativamente superiores. Entre eles pode-se mencionar a ESAM – extração por solvente assistida por microondas, a extração com CO₂ supercrítico, o VMHD – vacuum microwave hydro distillation e a extração biotecnológica (fermentação e bioconversão).

É importante destacar que dependendo do que será extraído do vegetal, a escolha do sol-

vente será fundamental, no caso das folhas da *Passiflora edulis* para extração dos alcaloides, dos flavanóides e dos carotenoides, o álcool a 70% é o solvente mais eficaz.

Os solventes mais utilizados na obtenção de extratos vegetais são: água, etanol, glicerina, propilenoglicol ou a mistura dos mencionados.

Porém, mesmo com a escolha certa do solvente, alguns fatores segundo Barbosa (2006), podem interferir no processo de extração, são eles: grau de divisão da droga vegetal; meio extrator; agitação; temperatura e tempo.

No que se refere ao extrato hidroalcolico das folhas de *Passiflora edulis*, e estudando as suas ações farmacológicas, Silva et al. (2009), confirmaram a ação de depressão do sistema nervoso central. Em outro trabalho os mesmos autores demonstraram o efeito inibitório da função digestória. A atividade analgésica e antiinflamatória do extrato etanólico da *Passiflora edulis* foi confirmado em 2001 também por Silva et al. (2009).

Bezerra et al. (2006), comprovaram que as soluções e cataplasmas produzidas a partir das folhas da *Passiflora edulis*, são utilizadas popularmente para tratamento de infecções cutâneas, feridas e erisipelas. O extrato utilizado pelo autor também foi produzido a partir das folhas da *Passiflora edulis*. O princípio ativo encontrado foram os alcalóides, flavanóides e carotenoides.

O autor supracitado, estudou o efeito do extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de anastomose colônica em ratos, o mesmo chegou a conclusão que a administração da *Passiflora edulis* influencia positivamente e de forma significativa a cicatrização das anastomoses colônicas em ratos até o 3º dia do pós-operatório.

Em estudo semelhante Gonçalves Filho (2006), estudou o efeito do extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de bexiga em ratos, ele demonstrou que o uso do extrato hidroalcolico das folhas de *Passiflora edulis*, na dose de 250 mg/kg, por via intraperitoneal, diminuiu a inflamação aguda no terceiro e no sétimo dias do período pós-operatório; aumentou a proliferação fibroblástica no sétimo dia do período pós-operatório; aumentou a colagenização tecidual no terceiro e no sétimo dias do período pós-operatório e aumentou a neoformação capilar no terceiro dia do período pós-operatório.

Silva et al. (2006), demonstraram que o uso intraperitoneal do extrato de *Passiflora edulis* influencia favoravelmente a cicatrização das gastrorrafias em ratos pelo aumento da proliferação fibroblástica no 7º dia de pós-operatório.

Além da *Passiflora edulis*, outros extratos também estão sendo utilizados, no processo de cicatrização tecidual, pode-se citar Coelho et al. (2010), que comprovaram que os extratos de ipê-roxo e de barbatimão favoreceram e aceleraram o processo de cicatrização de feridas cutâ-

neas em ratos.

Faleiro et al. (2011) utilizaram o extrato das folhas de babosa, *Aloe vera* na cicatrização de feridas experimentais em pele de ratos. Barbosa et al. (2009), testaram a ação terapêutica da própolis em lesão cutânea de ratos.

Oliveira (2010), realizou uma pesquisa sobre efeito de extratos de própolis brasileira sobre a cicatrização de queimaduras dérmicas profundas, em animais, obtendo efeito positivo na regeneração da pele dos animais.

Dessa forma, observa-se que está cada vez mais frequente a utilização de extratos naturais para auxiliarem o processo de cicatrização.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Cenário da pesquisa

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas (LAPPA) da Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola (UAEA) do Centro de Tecnologia e Recursos Naturais (CTRN), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG); no Laboratório de Microbiologia e Imunologia dos cursos de Medicina, Fisioterapia e Enfermagem da FCM; no Biotério da Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande, em Campina Grande, PB; na Diagnovet (Centro de Análises e Diagnóstico Veterinário Ltda) e no laboratório de patologia F. Diniz, todos localizados no município de Campina Grande, PB.

4.1.1 Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas (LAPPA)

- Coleta e elaboração do extrato da *Passiflora edulis*

Os extratos hidroalcoólicos de *Passiflora edulis* foram preparados no Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas da Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola (UAEA) do Centro de Tecnologia e Recursos Naturais, da Universidade Federal de Campina Grande.

O extrato natural utilizado nesta pesquisa, foi obtido a partir de 5 kg de folhas integras de *Passiflora Edulis*, coletados em um pomar da estação experimental do município de Lagoa Seca, pertencente a Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba (EMEPA/PB), de plantas adultas no mês de setembro de 2012 (período inicial da pesquisa de campo).

O município de Lagoa Seca está localizado na microrregião homogênea do agreste paraibano, com coordenadas geográficas de 7^o 09' S e 35^o 52' W e altitude de 634 m. O clima é o tropical chuvoso, com estações secas no verão. A pluviosidade média é de 940 mm, com maior incidência de chuva no período entre março e agosto. A umidade relativa do ar média é de aproximadamente 60% e a temperatura média anual é de 25 °C. O solo é do tipo Neossolo Regolítico com textura arenosa, segundo laboratório da EMBRAPA-ALGODÃO, Campina Grande PB.

O material foi coletado e levado ao laboratório LAPPA, para passar por um processo de remoção de impurezas com água corrente. Depois foi submetido a uma pré-secagem natural e,

em seguida, as folhas foram secas em estufa a temperatura constante de 40 °C durante 24h, tendo um rendimento de 502,28 g de folhas secas de acordo com a Figura 02. Depois de seco, o material foi moído em moinho de faca da marca Tecnal até a formação de pó fino e pesado em balança de precisão, onde se obteve 487,45 g de pó, o qual foi guardado em recipiente estéril escuro até obtenção dos extratos.



Figura 2. Ilustração da secagem das folhas de *Passiflora edulis*, realizada através da estufa programada a 40 °C

O extrato hidroalcolólico foi obtido a partir do extrato em pó, o mesmo foi umedecido com álcool etílico a 70% ($v v^{-1}$) da marca Toscano fabricado em 20.12.2010 por DANQUÍMICA LTDA de lote nº 72 com validade de 36 meses; seguindo proporção de 1:4. Este pó umedecido foi aos poucos transferido para o interior do percolador (extrator), o qual continha pequena quantidade de algodão hidrófilo ao fundo. Logo em seguida foi adicionada uma rodela de papel filtro e sobre esta, um disco de metal perfurado sobre a massa, com o objetivo de evitar canais de escoamento do líquido extrator. Posteriormente, com o dispositivo (torneira) de saída do líquido extrator aberto, o solvente foi colocado dentro do percolador, pela parte superior, de maneira que ficasse de 2 a 3 cm de espessura até o início do gotejamento. Neste momento, a torneira foi fechada para que o material ficasse em repouso (maceração) por 24 horas e assim ocorresse a perfeita embebição da droga pelo solvente e a dissolução dos respectivos reconstituintes. Passado este período, o macerado foi percolado, em velocidade moderada de aproximadamente 20 gotas/minuto, até obter a porção desejada. O produto final foi identificado e guardado em frascos de vidro âmbar esterilizado em estufa, e cobertos com papel alumínio até o momento de serem utilizados nos experimentos. Para tais procedimentos aplicou-se a metodologia descrita por Almeida et al. (2004), conforme Figura 3.

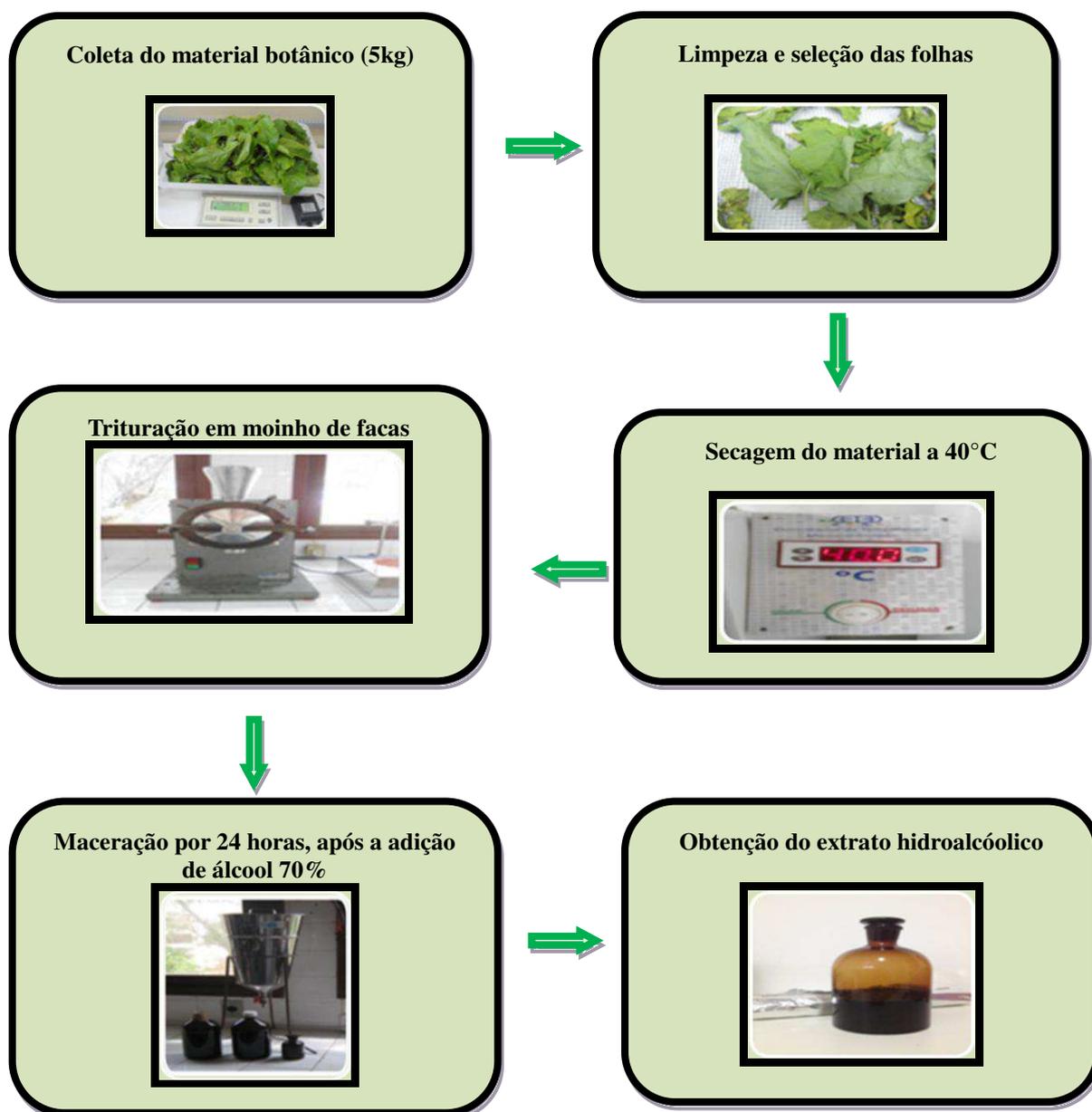


Figura 3. Obtenção do extrato vegetal das folhas de *Passiflora edulis*

Antecedendo o preparo do extrato, após a obtenção do pó, determinou-se a umidade do mesmo pelo método padrão de estufa a 105 ± 2 °C, com 3 subamostras de 20 g acondicionadas em recipientes metálicos, previamente secos, pesados e colocados em estufa pelo tempo de 24 h; após este período os recipientes foram retirados da estufa e postos em um dessecador, durante 45 min (BRASIL, 2009); em seguida, foram novamente pesadas obtendo-se a percentagem de umidade de 4,94%, expresso em base úmida bu.

4.1.2 Laboratório de microbiologia e imunologia dos cursos de medicina, fisioterapia e enfermagem da FCM

- Etapa *in Vitro* (estudo microbiológico)

A realização desta etapa, deu-se em virtude, de se tratar de uma pesquisa envolvendo seres vivos, o que despertou nos pesquisadores a preocupação de testar o efeito positivo do extrato vegetal das folhas de *Passiflora edulis*, sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

As cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 3359T) foram incubadas em Bain Hart Infusion (BHI). Segundo a ANVISA, o caldo Bain Hart Infusion, é um meio derivado de nutrientes de cérebro e coração, peptona e dextrose (BRASIL, 2012). A peptona e a infusão são fontes de nitrogênio, carbono, enxofre e vitaminas e a dextrose é um carboidrato que os microrganismos utilizam para fermentação (BRASIL, 2012).

Tomando-se como referencial, o método de difusão em agar, segundo Bauer et al. (1966) e as recomendações do National Committee for Clinical Laboratory Standart (NCCLS, 2002), o meio foi pesado e hidratado conforme instruções do fabricante (FIOCRUZ); em seguida foi distribuído 3,0 ml em tubos tampando os mesmo com chumaços de algodão estéreis, as cepas foram incubadas por 24 h a 37 °C, a interpretação foi feita através da observação da cor original do meio: amarelo claro e límpido (Figura 4). Depois deste período as cepas foram resuspensas em solução fisiológica obtendo-se turvação equivalente ao padrão 0,5 da escala Mac Farland.

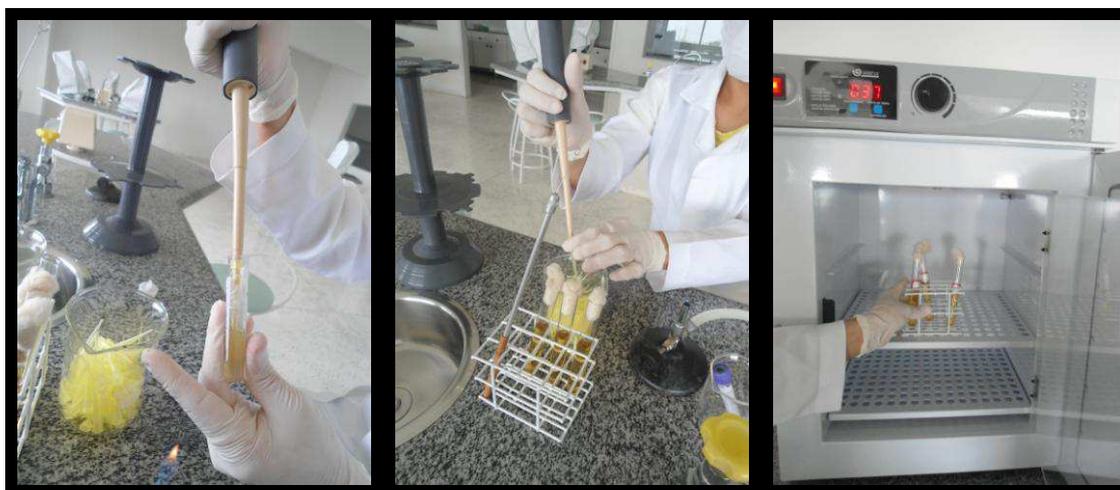


Figura 4. Ilustração do método de difusão em agar, segundo Bauer et al (1966), das cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, incubadas em caldo de Bain Hart Infusion.

A atividade antimicrobiana (AA) foi determinada pela técnica de poços por difusão em ágar, depositando 1ml de solução bacteriana e 50 ml de meio Ágar Mueller Hilton em placas estéreis de 20 x150 mm, e homogeneizadas pelo método “Pour Plate” (que consiste em colocar a

alíquota de 1ml da amostra com os microrganismos em uma Placa de Petri esteril sem o meio de cultura, pois esse será colocado por cima dos microrganismos na placa).

O meio de cultivo, foi mantido em banho-maria a 50 °C para impedir a solidificação do ágar, vertido sobre a amostra, que foi misturada por agitação suave da placa de petri. Após solidificação do ágar, a placa foi incubada a temperatura de 37 °C. Nesse método o crescimento das colônias das bactérias ocorre dentro e na superfície do meio de cultivo.

Após solidificação do meio, foram feitas cavidades de aproximadamente 6mm de diâmetro para depósito de 5,0 µl em cada amostra de extrato de *Passiflora edulis*, nas concentrações de 25, 50, 75 e 100%. Na pré-incubação as placas ficaram 2 horas na posição normal a 25 °C, e depois completaram o período de 48 h em posição invertida.

Após a incubação, a leitura foi realizada considerando sensíveis os halos de diâmetro acima de 10 mm, esse resultado indica que a substância utilizada foi eficaz no combate ao agente agressor testado, destaca-se que na presente pesquisa, o agente agressor foi o *Staphylococcus aureus* (BAUER, et al., 1966).

Encontrou-se os seguintes valores nas leituras realizadas: o diâmetro dos halos onde foi aplicado o extrato a 25%, foi inferior a 10 mm; o diâmetro dos halos onde foi aplicado o extrato a 50 e a 75%, foi semelhante e variou de 15 a 17 mm (Figura 5-A) e o diâmetro dos halos onde foi aplicado o extrato a 100%, variou de 18 a 23 mm (Figura 5-B).

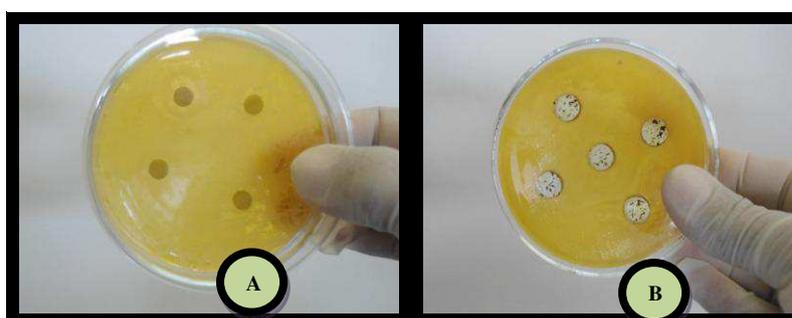


Figura 5. Ilustração dos poços por difusão em Agar, após colocação do extrato de *Passiflora edulis*, confirmando o efeito positivo do extrato sobre o *Staphylococcus aureus*

4.1.3 Biotério da Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande, PB (FCM-CG)

- Acasalamento e gestação

Esta etapa do estudo foi realizada no Biotério da Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande, PB –FCM, em ambiente livre de microrganismos patogênicos, endoparasitos e ectoparasitos. Tal ambiente apresentou filtrações eficientes com 10 – 15 trocas de ar por hora, de modo a não permitir a recirculação. Foi feita uma inspeção de temperatura diariamente para cer-

tificar que a temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, estava sendo mantida, visto se tratar da temperatura ideal para espécie utilizada na pesquisa.

Destaca-se que os animais ficaram aclimatizados por sete dias antes de serem colocados para acasalar, e receberam água filtrada e ração própria para a espécie (Purina®, Labina, São Paulo, SP *ad libitum*).

O cruzamento se deu pelo método de “Cruzamento por Harém” no qual 1 macho foi colocado com 3 fêmeas por 10 dias. Confirmado o acasalamento, iniciou-se os testes para confirmação da gestação, que foi detectada pelo esfregaço da vagina ou pela presença do tampão vaginal, que é expelido durante 24 h após a cobertura.

Após a gestação, as proles foram mantidas com as mães por 21 dias para amamentação; em seguida os animais foram separados por sexo e acondicionados em gaiolas contendo quatro animais cada, até atingir o peso (350 a 420g) e a idade ideal para o experimento (90 dias). Destaca-se ainda, que no trigésimo dia todos os animais foram vermífugados.

- Amostra e critérios de inclusão e exclusão

Foram utilizados na pesquisa 28 ratos machos da linhagem Wistar com idade de 90 dias e peso variando entre 350 a 420 g, provenientes do Biotério da FCM. Destaca-se que os animais são filhos de mães vermífugadas e que tiveram uma gestação sem complicações.

Foram excluídas da pesquisa as fêmeas, os animais com ausência de saúde, e os animais com problema congênito. Esses animais foram aleatoriamente distribuídos em quatro grupos conforme a Tabela 2.

Tabela 2. Distribuição dos ratos Wistar a serem utilizados na pesquisa conforme grupos

Grupo	Quantidade	Substância
Grupo experimental - GEC	7 Animais	Clorexidina a 1%
Grupo controle – GC	7 Animais	Água destilada
Grupo experimental - GE5	7 Animais	Extrato vegetal <i>Pasiflora edulis</i> a 50%
Grupo experimental- GE10	7 Animais	Extrato vegetal <i>Pasiflora edulis</i> a 100%

- Procedimento cirúrgico e contaminação dos roedores

Os animais foram submetidos a jejum de 12 h antes do procedimento cirúrgico e antes de anestesiados foram pesados em balança eletrônica, para cálculo de dosagem do anestésico. Destaca-se que todo procedimento foi realizado no centro cirúrgico do biotério mencionado, devido

ao mesmo ser dotado de equipamento necessário para realização do procedimento, além de ter sido acompanhado por uma médica veterinária.

Para o procedimento cirúrgico e abertura da lesão os animais foram sedados com anestésicos dissociativos com xilasina a 2% mais quetamina a 5% na dosagem de 5 e 10 mg/kg via intraperitoneal. Confirmada a sedação dos animais, (os ratos foram considerados anestesiados quando se apresentavam imóveis e com perda do reflexo corneano), o animal anestesiado foi fixado em decúbito dorsal, com fita adesiva na prancha cirúrgica de acrílico modelo padrão, que media 20 x 30 cm. Foi realizada a assepsia com clorexidina a 4%, para realização da tricotomia na área dorso-cranial. A área da tricotomia obedeceu a extensão de 5,0 cm de comprimento e largura. Após a tricotomia procedeu-se a colocação de campo fenestrado estéril sobre o animal, expondo o campo operatório. A incisão da ferida foi confeccionada com auxílio de um puche metálico com 2,5 cm de diâmetro, dessa forma toda a epiderme e a derme foi removida pondo à mostra apenas a fáscia muscular. Estes procedimentos foram acompanhados por uma médica veterinária, conforme preconiza a resolução do CFMV (2008), Nº 879, de 15 de fevereiro de 2008 (Figura 6).



Figura 6. Ilustração da realização da incisão realizada nos ratos Wistar utilizados na pesquisa

Após a realização das incisões, foi utilizada a bactéria *Staphylococcus aureus* (ATCC 3359T) ativa, para contaminação da lesão. Depois de 24h da contaminação, foi coletada de todas as lesões uma amostra com swab estéril, no intuito de confirmar essa contaminação, coletado o swab, deixou-se o mesmo 24h em BHI, para enfim observar a turvação, confirmando a contaminação das lesões. É oportuno destacar, que a contaminação foi positiva em todos os animais (Figura 7).



Figura 7. Ilustração da contaminação da lesão através do método de difusão em agar, das cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, incubadas em caldo de Bain Hart Infusion segundo Bauer et al (1996)

Depois de 24 h da cirurgia os animais foram divididos aleatoriamente em grupos e colocados em caixas plásticas com tampa metálica tipo gaiola (Figura 8), onde foram colocados no máximo dois animais por caixa. O fundo da caixa foi forrado com papel absorvente, que foi trocado duas vezes ao dia, durante as aplicações diárias das substâncias (manhã/noite), com a finalidade de promover conforto ao animal e higienização local.



Figura 8. Ilustração do tipo de gaiola utilizada no confinamento

4.2 Aplicação das substâncias

Foram aplicados 0,5 ml (a dose foi recomendada pela médica veterinária, baseada no diâmetro da lesão e no peso do animal) de cada substância em animais diferentes, através de seringas descartáveis. As substâncias foram: água destilada, clorexidina a 1%, extrato de maracujá a 100% e extrato a 50%. Todas as aplicações foram realizadas duas vezes ao dia e no mesmo horário durante os 21 dias. Destaca-se que no sétimo e no décimo quarto dia foram

realizados desbridamentos (remoção do tecido desvitalizado presente na ferida) nos animais no intuito de possibilitar uma maior penetração das substâncias utilizada na pesquisa.

4.3 Análise dos dados

4.3.1 Análise macroscópica

A análise macroscópica foi realizada seguindo ficha a de avaliação para feridas cutâneas, (Apêndice A), elaborada pela pesquisadora, baseada em achados clínicos que seriam importante identificar para avaliação da evolução das lesões .

As lesões foram fotografadas duas vezes ao dia com câmera digital SONY 4x zoom Intelligent auto 26 mm Wide-angle Lenes, swee panorama 12.1 megapixels. Com auxílio de um tripé em que a distância da câmara ao animal se manteve a mesma (50 cm), durante toda pesquisa, sendo traçado um local específico para colocação do animal, com o intuito de uniformizar as fotografias obtidas na pesquisa.

As medições diárias foram feitas sempre no mesmo horário da manhã (06 horas) com auxílio de um paquímetro digital da marca Tesa.

4.3.2 Análise bioquímica

Com o intuito de verificar as funções renais e hepáticas dos roedores, foi realizada uma análise bioquímica em todos os animais, antes de se iniciar a aplicação das substâncias e no último dia da aplicação. Foram utilizados como parâmetros os exames de TGP/ALT (UI/L) Creatinina (mg/dl) e Uréia (mg/dl) que foram feitos no Centro de Análises e Diagnóstico Veterinário Ltda (DIAGNOVET), laboratório credenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Os valores referenciais adotados foram os utilizados por Lapchik (2009).

A coleta de sangue nos dois momentos foi realizada através do plexo retro-orbital dos animais. Inicialmente foi realizada uma leve sedação com anestésico inalatório (halotano), a fim de imobilizar a cabeça do animal segurando o crânio entre o polegar e o indicador da mão esquerda, em seguida foi introduzida uma cânula de vidro no canto medial do olho, através de um ângulo de 90° de linha média, mantendo a cânula paralela à bancada de apoio, de cada animal, sendo coletado 1 ml para análise.

4.3.3 Análise histopatológica

Para realização da análise histopatológica, foi feita a eutanásia dos animais através de anestésico inalatório (halotano) para sedação do animal. Após confirmação da sedação foi feito tiopental intracárdico, conforme preconiza a Resolução nº 1000, de 11 de maio de 2012, que dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências (BRASIL, 2012).

Após o óbito, os animais foram fixados na prancha cirúrgica onde tiveram sua ferida examinada e foi retirado um fragmento da epiderme respeitando a distancia de 1 cm da lesão. A parte correspondente ao centro da ferida foi identificada com nanquim.

A cavidade abdominal foi aberta, e o rim e o fígado foram retirados e fixados em formol a 10% por 48 h, quando então foram realizados três cortes, dividindo-a em cinco partes de 0,3 cm de largura.

Os fragmentos foram colocados em recipientes e lavados em água corrente por 15 minutos para retirada do excesso de formol do tecido. Depois, sofreram desidratação em álcool etílico a 70, 80 e 90% e posteriormente diafanização em xilol, impregnação em parafina a 58°C e confecção de blocos.

Para cada bloco de parafina foram preparadas cinco lâminas. Os cortes dos blocos foram realizados por micrótomo regulado para 5 µm. E corados pela técnica de hematoxilina-eosina (HE), para verificação do processo de cicatrização e de fibroplasia. Foi realizado estudo microscópico do processo de reparação tecidual por médica patologista que desconhecia o subgrupo do animal correspondente à lâmina estudada.

Os dados obtidos pela técnica de HE foram classificados de acordo com a intensidade em que foram encontrados e transformados em variáveis quantitativas mediante atribuição de índice para o achado histológico, conforme exposto na Tabela 3.

A intensidade dos achados de HE foram analisadas utilizando os seguintes padrões:

- a) Proliferação celular - foi considerada ausente, quando não se evidenciava vasos no corte histológico; discreta, quando eram visibilizados poucos vasos esparsamente situados, de forma isolada no contexto; moderada, quando apareciam com maior frequência e dispersos no campo óptico e acentuada, quando evidenciados com grande frequência, dispostos em todo o contexto.
- b) Células mononucleares – foram classificadas em ausente, quando estas células não eram visualizadas no campo óptico; discreta, quando evidenciadas de forma isolada, possibili-

tando distinguir áreas livres de infiltrado; moderada quando apareciam com maior frequência, constituindo agregados densos, mas possibilitando visualizar áreas livres de infiltrado; e acentuada, quando as células foram evidenciadas com grande frequência, constituindo agregados densos e justapostos, sem áreas livres de infiltrados.

- c) Células polimorfonucleares – foram classificadas em ausentes, quando ainda não eram visibilizadas no campo óptico; discretas, quando eram visibilizadas esparsamente, de forma isolada, com muitas áreas livres de infiltrados; moderada, quando já eram visibilizadas formando agregados, porém com áreas adjacentes livres de infiltrados; acentuada, quando estas células apareciam com grande frequência, formando agregados densos, sem áreas livres de infiltrados.
- d) Proliferação fibroblástica – foi classificada em ausente, quando não se evidenciava proliferação de fibroblastos; discreta, quando havia esparsos fibroblastos proliferados em meio a tecido conjuntivo frouxo; moderada, quando havia moderada quantidade de fibroblastos proliferados, constituindo pequenos feixes celulares multi-direcionalmente; e intensa, quando havia grande quantidade de fibroblastos proliferados constituindo agregados compactos de células arranjadas multi-direcionalmente.
- e) Colagenização – classificou-se como ausente, quando não havia fibras colágenas depositadas; discreta, quando a deposição de fibras colágenas era em pequena quantidade, caracterizadas por fibras depositadas em meio aos fibroblastos proliferados; moderada quando a deposição de colágeno formava feixes de fibras eosinofílicas, espessas, intercaladas com áreas de tecido conjuntivo frouxo e fibroblastos proliferados; e intensa, quando havia grande deposição de fibras colágenas, constituindo feixes de fibras eosinofílicas espessas, compactamente arranjadas em meio a fibroblastos proliferados e sem áreas de tecido conjuntivo frouxo.
- f) Reepitelização – classificou-se como ausente, quando não havia epitélio visibilizado no campo óptico; discreto ou moderado, quando aparecia de forma incompleta ou parcial; acentuada, quando visibilizado de forma total ou completa sobre o tecido conjuntivo.

Os dados foram registrados em fichas individuais para cada animal .

Tabela 3. Classificação e atribuição de índice aos achados histológicos de HE

Achados HE	Intensidade dos Achados			
	Ausente	Discreto	Moderado	Acentuado
Proliferação vascular	0	1	2	3
Células mononucleares	0	1	2	3
Células polimorfonucleares	0	1	2	3
Proliferação fibroblástica	0	1	2	3
Colagenização	0	1	2	3
Reepitelização	1	2	2	3

4.3.4 Análise do cálculo de área da lesão – planimetria digital

Para a determinação e cálculo da área de cada ferida, foi utilizado o programa AutoCad/Aurodesk, ferramenta bastante precisa de desenho técnico. Para isso, foram utilizados os registros fotográficos obtidos diariamente, além das dimensões horizontais e verticais obtidas através de paquímetro digital. Em posse destas informações e imagens, foi iniciado o processo propriamente dito no software.

O processo consistiu na inserção das fotografias dos ratos em escala 1:1, logo após, através do comando Polyline, foi realizado o traçado de cada ferida, levando-se em consideração saliências e posições alternadas do animal. Feito o contorno, o comando Scale permitiu que o desenho da ferida se aproximasse, com relação às medidas, com as previamente registradas, só então com o desenho da ferida o mais próximo do real possível, o comando área foi acionado, possibilitando o cálculo das áreas em centímetros de cada ferida durante todos os dias de análise e em todos os roedores.

4.3.5 Análise estatística

A estatística não é apenas um ramo da matemática onde se investigam os processos de obtenção, organização e análise de dados sobre um determinado evento, a estatística também não se limita a um conjunto de elementos numéricos, nem a números, tabelas e gráficos usados para o resumo, organização e apresentação dos dados de uma pesquisa (RAMOS, 2007). Trata-se de uma ciência interdisciplinar, que permite uma análise minuciosa dos dados encontrados tanto quantitativamente quanto qualitativamente, no intuito de incutir um caráter científico e relevante

a uma pesquisa, culminando em uma otimização e melhoria da qualidade dos resultados encontrados. Dessa forma, utilizou o programa estatístico ASSISTAT versão 7.7, para confirmação dos dados já analisados e debatidos anteriormente.

Avaliou-se os dados obtidos com uso do software ASSISTAT versão 7.7 (SILVA; AZEVÊDO, 2009), através da análise de variância de anova, em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), em que os experimentos foram dispostos em esquema fatorial com 7 repetições, onde a média dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade.

Para análise histológica, foi utilizada a mesma metodologia, ou seja, de variância de anova, em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), em que os experimentos foram dispostos em esquema fatorial porém com 5 repetições, onde a média dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade.

4.4 Aspectos éticos

No que se refere aos aspectos éticos o projeto, obteve parecer favorável a sua realização, pela CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ensino Superior e Desenvolvimento – CESED (Anexo), que obedece os critérios estabelecidos na Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008 onde trata a criação e a utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa científica, em todo o território nacional e, também a Resolução Federal do Conselho Federal de Medicina Veterinária Nº 879, de 15 de fevereiro de 2008 a qual dispõe sobre o uso de animais no ensino e na pesquisa e regulamenta as Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUAs).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Análise macroscópica

Os resultados da análise macroscópica foram obtidos da ficha de avaliação (Apêndice A) e das imagens diárias das lesões durante o tempo de duração do experimento; onde se observa através da imagem da Figura 9 do grupo GE10, evolução positiva da cicatrização sem nenhum tipo de secreção e odor na lesão. Observou-se, também, para a coloração e o aspecto da lesão, que a mesma se encontrava hiperemiada com presença de edema discreto e pequenos coágulos sanguíneos, a lesão apresentava-se visivelmente vascularizada, grupo este (GE10) que se destaca dos demais grupos (GE5; GC e GEC), quanto à recuperação e/ou fechamento da ferida (Figuras 10 a 12). Ressalta-se ainda, para o sétimo dia (Figura 9) que o animal apresentava tão somente tecido de granulação que é o desejado no processo de cicatrização. É oportuno destacar que tais achados foram encontrados em todos os animais do grupo.

No 14^o dia a lesão apresentava tecido de granulação; tendo a cor da pele evoluída de hiperemiada para a cor rosada (Figura 9B). Este processo evolutivo indica normalidade na cicatrização quanto à regeneração total e/ou parcial do tecido lesado em sua forma estrutural e funcional. E, no 21^o dia do início do experimento, o fechamento da lesão deu-se em quase sua totalidade, isto é, apresentava-se somente a marca da lesão (cicatriz) – fechamento completo por assim dizer - (Figura 9C).

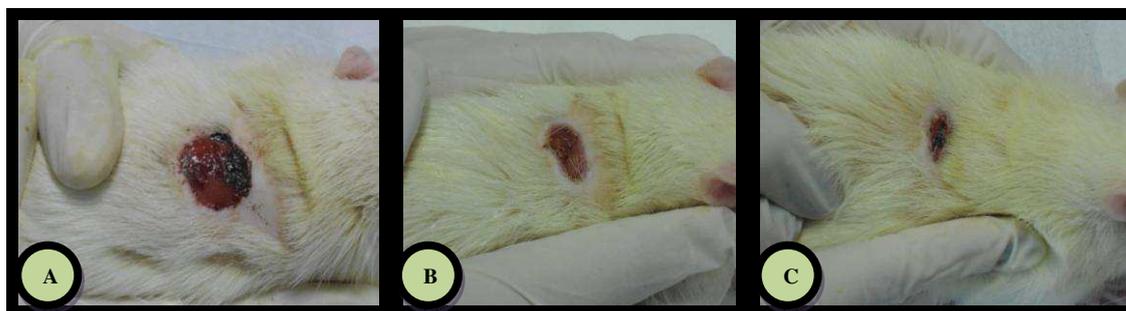


Figura 9. Grupo GE10, imagens obtidas no 7^o, 14^o e 21^o dia da pesquisa

Estes resultados devem-se, ademais do extrato, ao ato operatório que transcorreu sem complicações, tendo os ratos se recuperado bem da anestesia, e sem óbitos para o grupo em análise. As observações e avaliações clínicas diárias revelaram adequada recuperação, com manutenção do estado geral, presença de atividade física e disposição para alimentar-se. Destaca-se que o desbridamento realizado no 7^o e 14^o dia pós-operatório favoreceu a evolução da cicatrização, a qual ao 21^o dia de pós-operatório se apresentava com crescimento de pelos em torno da mesma (Figuras 9). Por último, tem-se para a área da ferida diminuição gradativa com o

passar do tempo, resultados discutido estatisticamente no item 5.5.

Conforme observado pelos resultados, o tecido granular se apresenta como resposta a destruição tecidual, por isso foi vascularizado e ao final do processo substituído pela cicatriz que é avascular e acelular. A inflamação que é um mecanismo de defesa no processo de cicatrização (CAMARGO E OLIVEIRA, 2007) ocorreu no grupo GE10 do presente trabalho sem intercorrências. Em resumo tem-se efeito inflamatório positivo do extrato hidroalcolólico de *Passiflora edulis* a 100% na recuperação de lesões em ratos Wistar.

Estes resultados, em parte, se apoiam em estudos realizados por Silva et. al. (2006) quando afirmaram que a *Passiflora edulis* possui efeito analgésico, anti-inflamatório e antipirético, efeitos essenciais no processo de cicatrização.

Vários autores estudaram a aplicação tópica de inúmeros fitoterápicos com o objetivo de influenciar o processo cicatricial. Contrera et al. (1985), utilizaram tintura mãe de raízes de *Lichnophora ericoides* (arnica-da-serra-dourada), de *Aristolochia esperanzae* (papo-de-perú) e de *Solidago microglossa* (falsa-arnica) em feridas cutâneas de ratos e observaram retardo na cicatrização das feridas submetidas ao tratamento com a tintura, com relação ao controle. Sanchez et al. (1993) estudaram aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas em ratos com ou sem tratamento com solução de papaína a 2%. O seu uso promoveu reparação tecidual mais eficaz que o grupo Controle, atuando na fase inicial e de fibroplasia das feridas tratadas.

No que se refere aos resultados do tratamento no grupo GE5, até o 7º dia houve uma evolução semelhante ao grupo GE10, o que pode ser confirmado na Figura 10. Coelho et al. (2010), afirma que nesse período da cicatrização já ocorreu à migração celular de neutrófilos, linfócitos, basófilos e eosinófilos, visto que já aconteceu a ação dos mediadores químicos ou substâncias quimiotáticas, como as histaminas, as prostaglandinas, o fator ativador da plaqueta, intermediando a reação inflamatória, a qual foi observada tanto no grupo GE10 (Figura 9), quanto no grupo GE5 (Figura 10), e acelerando o processo de cicatrização.

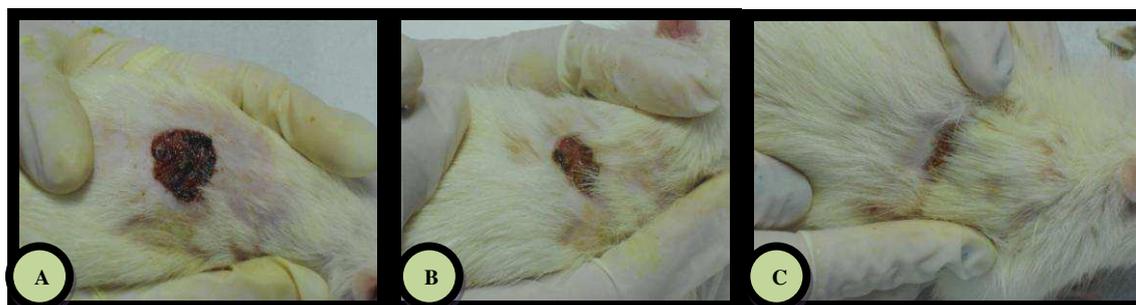


Figura 10. Grupo GE5, imagens obtidas no 7A,14B e 21Cº dia da pesquisa

O extrato da *Passiflora Edulis*, portanto mostrou-se eficaz, concluindo a primeira fase do processo de cicatrização com resultados positivo. No 14º dia, observa-se, diferentemente do grupo GE10, que a coloração cutânea permanece hiperemiada (Figura 10-B), porém com ausência de edema e secreção, achado importante, visto que a presença dos mesmos poderia indicar processo inflamatório, ademais sabe-se que quanto maior a quantidade de secreção, maior o risco de maceração da pele periférica, aumentando dessa forma o diâmetro da lesão. No 21º, observamos um fechamento parcial da lesão, visivelmente semelhante ao grupo GE10, porém de acordo com as planimetrias digitais, que foram discutidas no item 5.2, o diâmetro da lesão dos animais do grupo GE5, foram todos superiores ao do grupo GE10 (Figura 10-C).

Adotou-se o grupo GC, como grupo controle do experimento. Para o grupo, observou-se uma evolução distinta dos grupos anteriores (grupo GE10, GE5), onde detectou-se no 7º dia, presença de secreção purulenta sem odor, observou-se também, para coloração e aspecto da lesão, que a mesma encontrava-se hiperemida, e com presença de edema moderado, apresentando tecido de granulação, porém diferente dos grupos anteriores, Grupo GE10 e GE5, tratados com extrato hidroalcoólico das folhas de *Passiflora edulis*, a lesão apresentou focos de necrose esbranquiçada (Figura 11-A).



Figura 11. Grupo GC, imagens obtidas no 7A,14B e 21Cº dia da pesquisa

O edema ou acúmulo anormal de líquido no espaço intersticial, encontrado na lesão dos animais que pertenciam ao grupo controle (grupo GC), é um dos sinais flogísticos ou cardinais da inflamação, que ocorre devido a saída de plasma para o interstício, já a necrose ou morte celular do tecido epidérmico, geralmente acontece devido a um agente agressor, que no estudo foi o *Staphylococcus aureus*, inoculado na lesão, tal agente, também foi responsável pelo acúmulo da secreção purulenta encontrada (CAMARGO E OLIVEIRA, 2007).

Em relação á necrose, é sabido que existem vários tipos, sendo a cerosa bastante comum em lesões contaminadas por *Staphylococcus aureus*, ainda segundo os autores anteriormente mencionado. Macroscopicamente esta necrose, apresenta-se esbranquiçada e quebradiça

semelhante ao aspecto de massa de queijo, tal necrose foi a encontrada nas lesões dos animais pertencentes ao grupo em análise .

Gomes et al. (2006), ao estudar o efeito do extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização da parede abdominal de ratos, também encontrou no grupo controle, presença de focos de necrose serosa, corroborando com os achados da presente pesquisa.

No 14° dia, o grupo GC (Figura 11-B), possui um desenvolvimento semelhante no tamanho e na coloração cutânea do grupo GE5, tendo a lesão evoluído ainda hiperemiada, porém com o desaparecimento do edema e da secreção, achados encontrados no 7° dia. No entanto, o que diferenciou o grupo em análise do grupo GE5, foi o foco de necrose, porém, presente apenas no grupo GC, contudo foi observada uma diminuição do mesmo no 14° dia de tratamento. Silva et al. (2010), em estudo semelhante também encontrou focos de necrose no grupo controle, e referiu tal achado como sendo umas das principais manifestações nas lesões celulares consideradas irreversíveis. No 21° dia, houve um fechamento parcial da lesão, nesse momento a lesão apresentou um diâmetro superior ao diâmetro dos grupos já analisados (Figura 11-C).

O grupo mais preocupante no processo de cicatrização foi o grupo GEC, visto que no mesmo foram encontrados dois grandes focos de contaminação, apresentando necrose e edema, levando ao que a literatura chama de lesão escavada ou úlcera, a qual no 7° dia, apresentou-se, diferente das necrose encontradas no grupo GC, visto que, as encontradas no grupo em análise eram de diâmetro superior as do grupo controle, sendo classificadas como moderadas (Figura 12-A), destaca-se que 95% dos animais deste grupo apresentaram necrose moderada (lesão escavada ou úlcera), e os outros 5% apresentaram necrose discreta.

Destaca-se que a substância utilizada nesse grupo, foi um medicamento tópico de excelente aceitação pela sociedade devido a sua ação antibacteriana, o mesmo pode ser encontrado em diferentes concentrações no mercado. Estudos realizados por Sassone et al. (2003), avaliando a ação da mesma substância utilizada no grupo GEC, mostrou que a de melhor atividade antimicrobiana foi a de 1 %, ate mesmo em relação ao *Staphylococcus aureus*, razão pela qual optou-se por tal concentração no presente estudo. No entanto, os resultados encontrados pelos autores, divergem dos encontrados na presente pesquisa, onde a utilização da clorexidina a 1%, não foi tão eficaz no combate e controle da infecção instalada na lesão cutâneas dos animais do grupo GEC, o que pode ser constato na Figura 12.



Figura 12. Grupo GEC, imagens obtidas no 7^A, 14^B e 21^C dia da pesquisa

Segundo Maia et al. (2008), em um estudo sobre o efeito antimicrobiano do extrato de *Momordica charantia* sobre *Staphylococcus aureus* multirresistentes, é fundamental a utilização de antissépticos no tratamento de feridas para que se tenha um retorno do aumento da resposta imune do paciente e redução da carga bacteriana, fazendo com que ocorra a regressão do processo infeccioso. Tal efeito positivo não foi observado na presente pesquisa, tendo o processo inflamatório inicial que é característico das lesões cutâneas contaminadas por *Staphylococcus aureus*, evoluído para um processo infeccioso, com presença de necrose moderada.

No 14^o dia, observa-se que a lesão encontra-se hiperemiada, apresentando ainda edema e focos de necrose, porém havendo uma diminuição do diâmetro da lesão escavada que foi encontrada no 7^o dia (Figura 12-B), no entanto, foi detectada alteração em relação ao odor da lesão, sendo este no 14^o dia de tratamento, fétido. Segundo Pinto et al. (2009), o odor fétido indica sinal de lesão neoplásica benigna ou maligna, ou ainda pode ser sinal de um processo infeccioso que evolui em proporções maiores, podendo inclusive atingir a corrente sanguínea (acarretando uma infecção generalizada, chamada de sepse) podendo levar ao óbito. Na presente pesquisa, não foram encontradas lesões neoplásicas, o que será abordado no item 5.5, análise histológica. No entanto, três animais do grupo em análise evoluíram para o óbito, apresentando além dos sinais mencionados, hipertermia e perda de apetite, dessa forma, tendo por base Pinto et al (2009), pode-se dizer que o processo infeccioso tomou proporções maiores, culminando com o óbito do animal.

Ao final do experimento, no 21^o dia, a ação da substância utilizada no grupo GEC, não foi tão eficaz nas feridas cutâneas dos ratos Wistar, principalmente se comparado aos grupo GE10, GE5 e GC, tendo sido o grupo que obteve o menor fechamento da lesão (Figura 12-C).

5.2 Análise do cálculo de área da lesão

Para determinação do cálculo de área de cada ferida, foi utilizado o programa AutoCad/Aurodesk,, onde a morfometria da área da lesão, foi feita por planimetria digital, mediante as fotografias obtidas durante a pesquisa, bem como foram utilizadas as medidas diárias da lesão obtidas através do paquímetro digital (Quadros 1,2,3,4). No que se refere á área da lesão observou-se um decréscimo significativo ao longo do tempo, acentuadamente entre o 7° e o 14° dia de tratamento, em todos os grupos.

É de relevância citar que estas lesões seguiram um fechamento semelhante no sentido vertical, e um fechamento diferente no sentido horizontal, dessa forma, pode-se afirmar que obteve o melhor fechamento a lesão que evoluiu positivamente no sentido horizontal. Tal resultado, foi constatado na análise estatística realizada através do assistat, detalhada no item 5.5.

Teixeira e Barros (2010), encontrou resultado semelhante ao da presente pesquisa ao avaliar a atividade regeneradora de implantes intraósseo e subcutâneo de guta-percha revestidos de extrato de *Hamamelis virginiana em ratos wistar*, o pesquisador corroborando com nosso achado demonstrou que a cicatrização no sentido horizontal, evolui melhor que a no sentido vertical.

Ao final da pesquisa e tendo por base o cálculo da área obtido através da planimetria digital, pode-se comprovar que no final de 21 dias de tratamento, o fechamento das lesões nos animais que utilizaram o extrato hidroalcoólico das folhas da *Passiflora edulis*, foi muito mais acentuado que nos demais animais (Quadros 1, 2, 3, 4), também foram anexado ao trabalho todas as planimetrias digitais realizadas durante a pesquisa (Apêndices B-V).

É oportuno destacar, que o primeiro dia de tratamento refere-se ao dia em que a contaminação da lesão pelo *Staphylococcus aureus*, foi confirmada, tendo transcorrido 48 horas do dia do procedimento cirúrgico realizado para abertura da lesão, dessa forma o diâmetro do primeiro dia de tratamento variou de animal para animal, visto que o processo de cicatrização é individual, já que cada ser vivo reage de forma diferente, pois esse processo não depende somente da técnica adotada pelo profissional durante o procedimento cirúrgico, depende também de fatores genéticos, nutricionais, fisiológicos, comportamentais durante o período de pós-operatório e de tratamento (CAMARGO e OLIVEIRA, 2007)

GE10	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 7,52cm ²	 Área aproximada: 6,70cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 6,80cm ²	 Área aproximada: 3,70cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 5,00cm ²	 Área aproximada: 4,80cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 4,60cm ²	 Área aproximada: 2,60cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 2,30cm ²	 Área aproximada: 1,80cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 1,30cm ²	 Área aproximada: 1,60cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 1,40cm ²	 Área aproximada: 0,90cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 0,90cm ²	 Área aproximada: 0,60cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 0,50cm ²	 Área aproximada: 0,40cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 0,40cm ²	 Área aproximada: 0,30cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,30cm ²	

Quadro 1. Planimetria grupo GE10

GE5	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 8,50cm ²	 Área aproximada: 4,70cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 5,20cm ²	 Área aproximada: 5,30cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 5,13cm ²	 Área aproximada: 4,90cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 3,60cm ²	 Área aproximada: 3,30cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 2,90cm ²	 Área aproximada: 2,30cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 1,50cm ²	 Área aproximada: 1,30cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 1,47cm ²	 Área aproximada: 1,80cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 1,00cm ²	 Área aproximada: 0,90cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 0,80cm ²	 Área aproximada: 0,61cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 0,50cm ²	 Área aproximada: 0,40cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,40cm ²	

Quadro 2. Planimetria grupo GE5

GC	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 7,00cm ²	 Área aproximada: 6,60cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 6,90cm ²	 Área aproximada: 7,32cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 5,38cm ²	 Área aproximada: 5,20cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 2,50cm ²	 Área aproximada: 3,20cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 2,36cm ²	 Área aproximada: 2,61cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 2,20cm ²	 Área aproximada: 2,20cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 2,10cm ²	 Área aproximada: 1,80cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 1,93cm ²	 Área aproximada: 1,50cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 1,30cm ²	 Área aproximada: 1,71cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 0,70cm ²	 Área aproximada: 0,90cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,90cm ²	

Quadro 3. Planimetria grupo GC

GEC	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 7,40cm ²	 Área aproximada: 7,70cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 6,30cm ²	 Área aproximada: 6,70cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 6,10cm ²	 Área aproximada: 5,50cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 4,90cm ²	 Área aproximada: 3,80cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 3,70cm ²	 Área aproximada: 3,80cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 2,20cm ²	 Área aproximada: 2,30cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 2,00cm ²	 Área aproximada: 1,70cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 1,80cm ²	 Área aproximada: 2,30cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 1,70cm ²	 Área aproximada: 1,70cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 1,30cm ²	 Área aproximada: 1,50cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 1,50cm ²	

Quadro 4. Planimetria grupo GEC

5.3 Análise bioquímica

A análise bioquímica, foi realizada para comprovação da existência ou não de alterações renais e hepáticas, mediante as doses séricas de TGP/ALT, creatinina e ureia de todos os animais da pesquisa. Os resultados demonstraram que não houve alteração significativa que indicasse qualquer tipo de complicação ou lesão tanto hepática quanto renal, conforme exemplificado na Tabela 4, onde dois animais por grupo foi escolhido aleatoriamente para representar este achado.

Tabela 4. Resultados dos exames bioquímicos realizados nos animais no primeiro e no 21º dia do experimento, em destaque dois animais por grupo.

EXAMES	GE10		GE5		GC		GEC		REFERÊNCIA
	01	02	01	02	01	02	01	02	
Creatinina (mg/dl)	I- 0.8 F-0.9	I- 0,7 F-0.7	I- 0.8 F-0.9	I- 1.0 F-0.8	I-0.5 F-0.7	I- 1.0 F-0.8	I- 0.7 F-0.9	I- 0.8 F-1.0	0.5-1.4
Uréia (mg/dl)	I- 53 F- 50	I- 54 F- 54	I- 60 F-59	I- 55 F-58	I- 50 F-52	I- 52 F-58	I- 64 F-52	I- 52 F-53	32-54
TGP/ALT (UI/L)	I- 25 F-30	I- 25 F-32	I- 32 F-34	I- 29 F-30	I- 28 F-26	I- 50 F- 46	I- 35 F- 36	I- 34 F-37	26-37

Barcellos et al. (2010), em pesquisa realizada para avaliação bioquímica e toxicológica do extrato dos frutos de *Euterpe oleracea martius* (açai), encontrou alterações significativas em algumas taxas séricas, sendo que ao final de 14 dias de tratamento todos os animais estavam vivos e sadios, no entanto foram observadas interferências no peso dos animais, comportamento, atividade somática e alterações nas taxas de triglicerídeos, enzimas hepáticas e renais, já na presente pesquisa não se encontram alterações significativas relacionadas as taxas pesquisadas, no entanto pode-se destacar que a pesquisa mencionada anteriormente foi realizada em 14 dias, período onde o processo de cicatrização, encontra-se na fase proliferativa, já na presente pesquisa a coleta final foi realizada com 21 dias, período em que o processo de cicatrização já encontra-se na fase de maturação, o que pode ter levado a divergência de resultados encontrados pelo pesquisador acima mencionados e os encontrados na presente pesquisa.

5.4 Análise histológica

Destaca-se que em nenhum animal participante da pesquisa foi encontrada lesão neoplásica, maligna ou benigna.

5.4.1 Reação inflamatória aguda da lesão

A inflamação é dividida em aguda e crônica. Na fase aguda segundo Ladeira et al. (2010), existe uma resposta inicial a lesão celular e tecidual, predominando fenômenos de aumento de permeabilidade vascular e migração de leucócitos, particularmente neutrófilos. O objetivo principal dessa fase é a eliminação do agente agressor, ocorrendo frequentemente destruição tecidual. Todo esse processo foi observado na pesquisa.

Alguns achados são frequentes nessa fase, sendo eles: a proliferação vascular; a presença de células polimorfonucleares e de células mononucleares

A análise histopatológica relacionada a proliferação vascular nas lesões encontradas no 21º dia de tratamento, revelou resultado bastante significativo e diferenciou de grupo para grupo, sendo possível observar que houve um maior aumento da proliferação vascular nos animais que utilizaram o extrato hidroalcoólico das folhas da *Passiflora edulis* a 100% (Figura 13).

Observa-se na Figura 13, no grupo GC e no grupo GEC a presença de vasocapilares jovens (seta), enquanto que no grupo GE5, observa-se vasos um pouco mais dilatados, por fim observa-se na no grupo G10 a presença de vasos capilares já parcialmente colabados, demonstrando um efeito bastante positivo da substância utilizada, o que foi confirmado na análise estatística descrita no item 5.5.

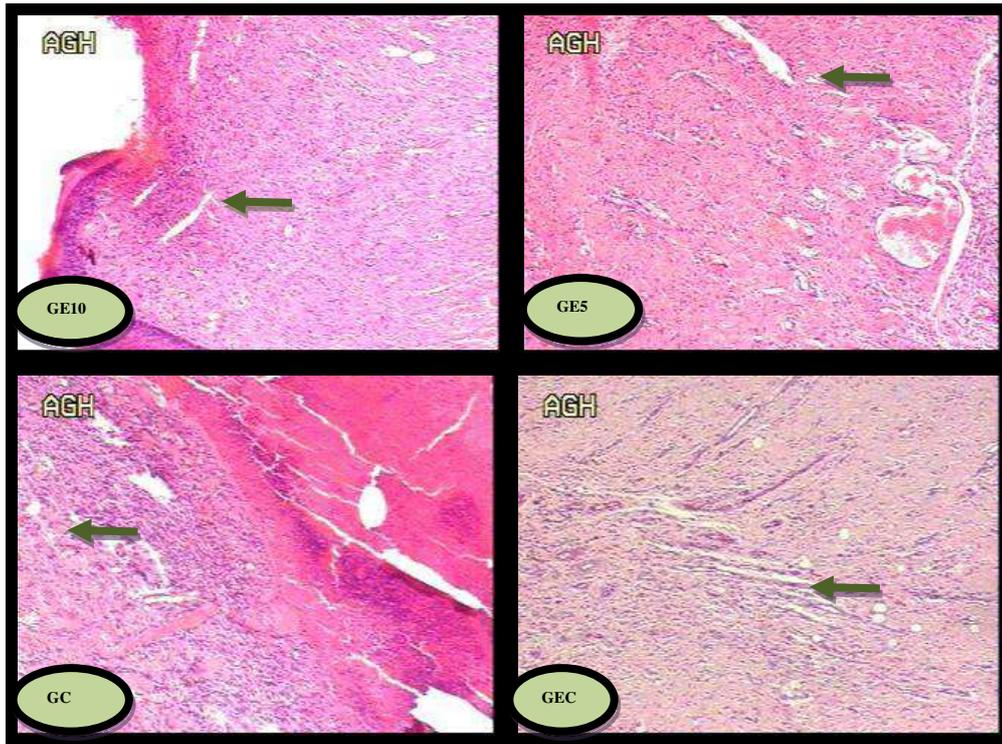


Figura 13. Imagem histológica de reparação tecidual da pele de ratos dos grupos GE10, GE5, GC, GEC, no 21 ° dia, em destaque proliferação vascular (setas)

Em estudos anteriores Garros et al. (2006), observaram que o extrato de *Passiflora edulis*, apresentou efeito positivo na angiogênese de feridas cutâneas abertas em ratos, o que corrobora com os dados encontrados nesta pesquisa.

No que se refere a intensidade da inflamação aguda, avaliada pela presença de células polimorfonucleares não foram observadas diferenças significativas entre os grupo. O mesmo aconteceu em relação a presença de células mononucleares.

Teixeira e Barros (2010), ao avaliar a atividade regeneradora de implantes intraósseo e subcutâneo de guta-percha revestidos de extrato de *hamamelis virginiana*, observaram que no 14° dia de pós-operatório as células mononucleares variaram de ausente para moderadas no grupo controle; e de discretas a moderadas no grupo que utilizou o extrato de *hamamelis virginiana*, já no 21°, os autores não encontraram diferença significativa entre os grupos. Destaca-se que no 14° dia, o processo de cicatrização conforme mencionado no item 5.3, encontra-se na fase proliferativa, o que poderia ter levado ao aumento de células polimorfonucleares e mononucleares, já no 21° dia, o processo de cicatrização encontra-se na fase de maturação, com conseqüente diminuição das células mencionadas, o que pode explicar o achado encontrado pelos autores e na presente pesquisa no 21° dia.

5.4.2 Reação inflamatória crônica da lesão

A fase inflamatória crônica da lesão, é a fase onde se faz presente o processo de maturação e remodelamento da lesão, nesse momento alguns achados são importantes como: presença de proliferação fibroblástica; de colagenização e de reepitelização.

A análise histológica relacionada a proliferação fibroblástica e a colageneização, nas lesões encontradas no 21º dia de tratamento, revelou resultado bastante significativo, sendo possível observar que houve um maior aumento tanto do processo de proliferação fibroblástica quanto de colageneização, nos grupos que utilizaram o extrato hidroalcoólico das folhas de *Passiflora edulis* a 100% e a 50% (grupo GE10 e GE5), em relação aos animais do grupo controle (grupo GC), e do grupo que utilizou a clorexidina a 1% (grupo GEC).

Visto que os animais do grupo GE10 e do grupo GE5 apresentaram imagens histológicas semelhantes, optou-se por apresentar apenas a imagem de uma delas, conforme pode ser observado na Figura 14. O mesmo ocorreu com os dois outros grupos, onde as imagens do grupo GC e do grupo GEC, foram semelhantes, dessa forma mais uma vez, optou-se por apresentar apenas a imagem histológica do grupo GC, Figura 14.

Observa-se na Figura 14, na imagem do grupo GE10, que a área da lesão encontra-se epitelizada (recoberta por epitélio escamoso estratificado), recoberta por crosta antiga, no derma observa-se tecido de granulação antigo. O GC, revela presença de fibroblastos, o que indica que o processo de cicatrização encontra-se em estágio inferior ao encontrado no grupo GE10 (Figura 14). Observa-se também tanto no grupo GE10, quanto no grupo GC presença de colágeno e discreto infiltrado inflamatório linfocítico, demonstrando que o processo de cicatrização transcorreu dentro dos padrões desejados.

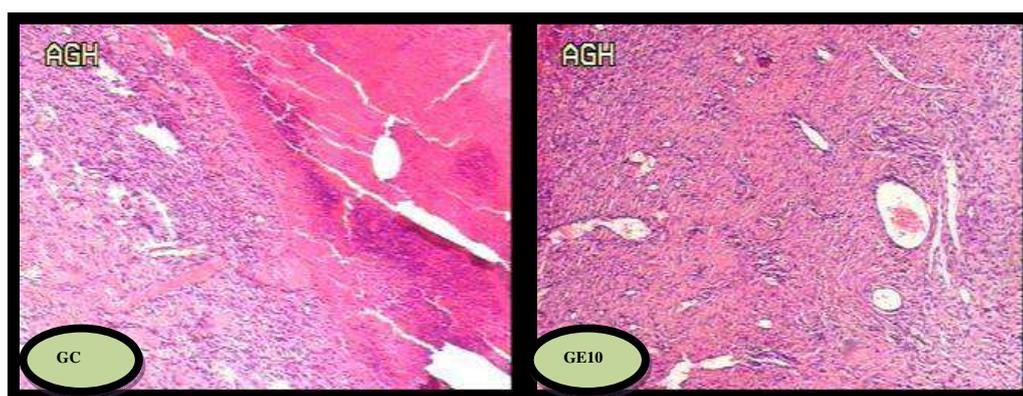


Figura 14. Imagem histológica de reparação tecidual da pele de ratos dos grupos GC e GE10, no 21º dia, da proliferação fibroblástica e colagenização

Garros et al. (2006), em pesquisa realizada com extrato de *Passiflora edulis*, com relação à reação inflamatória crônica, avaliada pela proliferação fibroblástica, observou que não houve diferença, na análise realizada no 21º dia, entre o grupo controle e o grupo que utilizou extrato. Resultado diferente do que foi encontrado na pesquisa atual.

No que se refere a análise histológica relacionada a reepitelização das lesões encontradas no 21º dia de tratamento, as imagens revelaram resultado bastante significativo, sendo possível observar que houve uma melhor reepitelização nos grupos que utilizaram o extrato hidroalcoólico das folhas de *Passiflora edulis* a 100% e a 50% (grupo GE10 e GE5), em relação aos animais do grupo controle (grupo GC), e do grupo que utilizou a clorexidina a 1% (grupo GEC), o que pode ser constatado na Figura 15, onde o grupo GEC, apresenta-se com a epiderme desepitelizada, recoberta por crosta hematoleucocitária, logo abaixo observa-se o tecido de granulação jovem, com vasos capilares predominantemente dilatados, ao contrario do grupo GE10, onde observa-se uma epiderme bastante epitelizada, sem crosta hematoleucocitária e com tecido de granulação antigo (Figura 15).

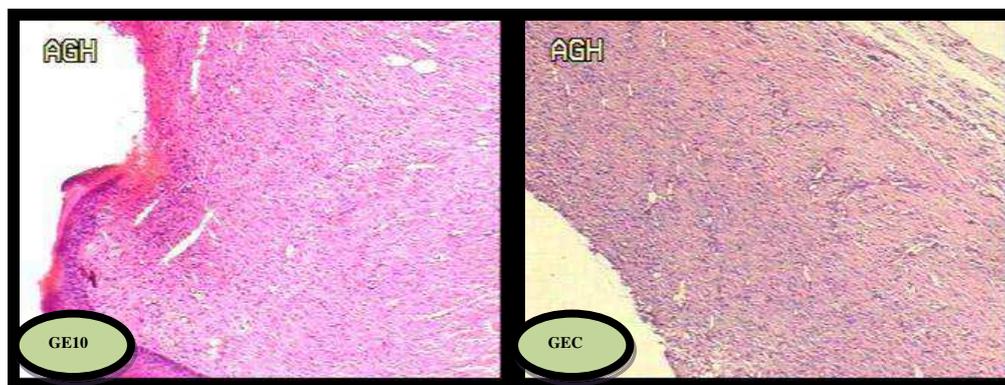


Figura 15. Imagem histológica de reparação tecidual da pele de ratos dos grupos GE10, no 21º dia, da reepitelização.

Garros et al. (2006), em pesquisa realizada com extrato de *Passiflora edulis*, avaliando o processo de reepitelização, constatou resultado semelhante ao encontrado na presente pesquisa, o que demonstrou o efeito benéfico do extrato, no processo de reepitelização, não sendo encontrado nenhum resquício de lesão ulcerada no fragmento de pele analisado pelo autor.

5.4.3 Reação hepática

No que se refere a análise histológica do fígado, resultados semelhantes foram encontrados em todos os grupos pesquisados, onde observou-se a arquitetura preservada do fígado (Figura 16-A), representada por hepatócitos formando trabéculas e sinusoides levemente congestionados.

(Figura 16-B), veia centrolobular (Figura 16-C) e espaços porta (Figura 16-D) sem alterações histológicas importantes.

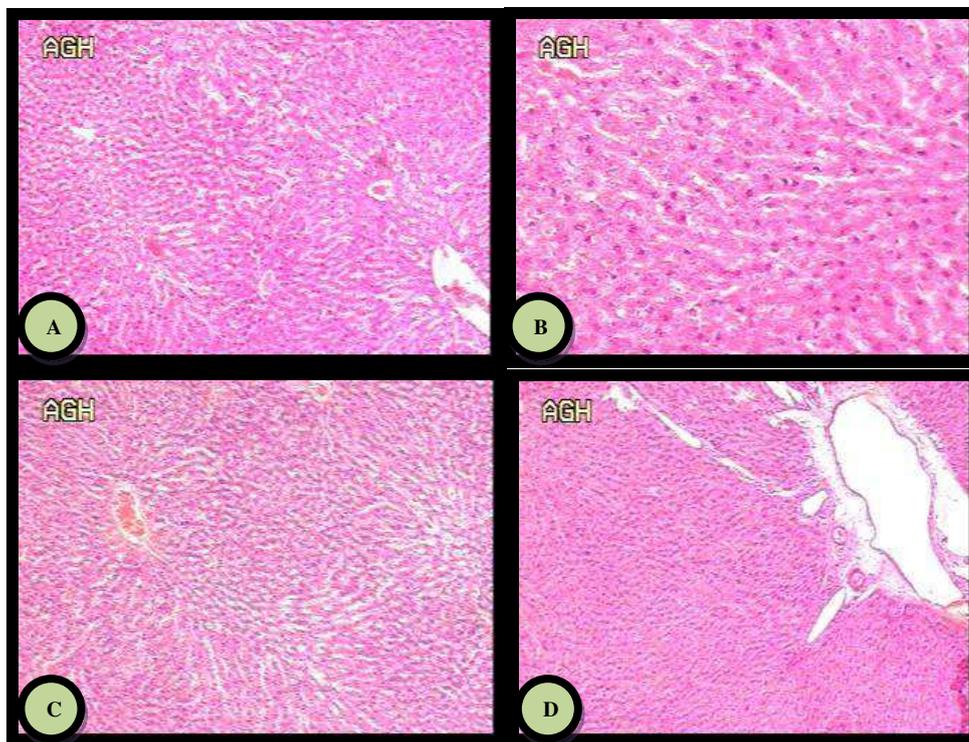


Figura 16. Imagem histológica do fígado de ratos dos grupos GE10- A, GE5- B, GC- C, GEC- D, respectivamente, órgão retirado no 21º dia

Kasai et al. (2007), em estudo realizado com extrato de *Rheum palmatum*, encontrou na avaliação histológica do fígado dos ratos que utilizaram o extrato, hepatócitos mais volumosos e com citoplasma granuloso em algumas áreas. Em outras áreas a estrutura hepática era muito semelhante à do animal controle, com sinusóides mais amplos. Observou-se espaço-porta edemaciado e com vasos dilatados e congestos, além de ductos biliares aumentados. Além disso, foram observados focos de inflamação crônica. Dessa forma, nota-se que os dados encontrados por Kasai et al. (2007), diferem dos encontrados na pesquisa atual.

Observa-se que os dados histopatológicos encontrados na pesquisa, confirmam os dados bioquímicos encontrados no item 5.3, onde não houve alterações significativas nos exames de TGP/ALT, o que poderia sugerir alteração hepática, devido a um provável efeito hepatotóxico do extrato em estudo, dessa forma conclui-se que o extrato da *Passiflora edulis*, não é hepatotóxico.

5.4.4 Reação renal

No que se refere a análise histológica do rim, resultado semelhante foi encontrado em todos os grupos pesquisados, onde se observou estruturas glomerulares (Figura 17-A), tubulares (Figura 17-B) e interstício (Figura 17-C), preservados.

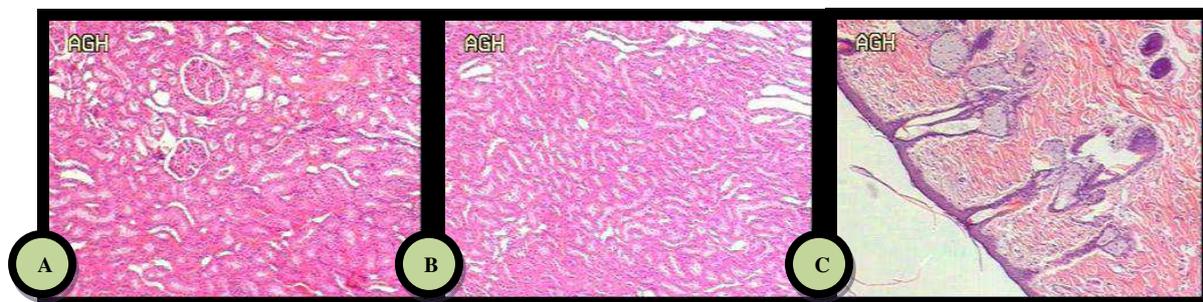


Figura 17. Imagem histológica do rim de ratos dos grupos GE10, GE5, GC, respectivamente, órgão retirado no 21º dia

Fiuza et al. (2011), ao analisar o efeito do extrato etanólico bruto e frações das folhas da pitanga, em animais, observou resultado semelhante, onde também não constatou alteração significativa a nível renal, após a utilização do extrato.

Observa-se, mais uma vez, que os dados histopatológicos encontrados na pesquisa, confirmam os dados bioquímicos encontrados no item 5.3, onde não houve alterações significativas nos exames de creatinina e ureia dos animais, o que poderia sugerir alteração renal, devido a uma provável nefrotóxicidade do extrato em estudo, dessa forma conclui-se que o extrato da *Passiflora edulis*, não é nefrotóxico.

5.5 Análise estatística

5.5.1 Análise das medidas horizontal das lesões

A análise da variância dos dados das medidas horizontal das lesões provocadas em ratos Wistar, tratadas com quatro diferentes substâncias durante um tempo de 21 dias, revelou efeito significativo para substâncias e tempo e não significativo para sua interação, indicando independência dos tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5. Análise de variância de medida horizontal de lesões em ratos Wistar tratadas com extratos hidroalcolico de *Passiflora Edulis*, água destilada e clorexidina a 1% depois do 7°, 14°, e 21°, dia da aplicação.

F.V	G.L	S.Q	Q.M	F
Substâncias (S)	3	85,16857	28,38952	4,2046*
Tempo (T)	2	868,20644	434,10322	64,2921**
S x T	6	49,57985	8,26331	1,2238 ns
Tratamentos	11	1002,95486	91,1771	13,5037**
Resíduo	24	162,04900	6,75204	
Total	35	1165,00386		

* significativo a 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$);

** significativo a 1% de probabilidade ($p \leq 0,01$);

ns não significativo ($p \geq 0,05$)

De acordo com os resultados para média horizontal das lesões em ratos wistar apresentados na Tabela 6, observa-se que as substâncias se comportaram de forma diferente quanto a essa variável, em que o extrato hidroalcolico das folhas de *Passiflora edulis* a 100% promoveu maior fechamento das lesões (15,49 mm), sendo superior ao extrato a 50% e a água destilada que se igualaram estatisticamente (17,69 mm) e foram superiores ao tratamento da clorexidina (19,83 mm), a qual se revelou como sendo a substância de menor eficiência no fechamento horizontal das lesões. Com relação ao tempo, verifica-se maior fechamento da lesão horizontal a medida que este avança.

Tabela 6. Valores médios de medida horizontal (mm) de lesões em ratos Wistar tratadas com quatro substância durante 21 dias.

MEDIDA HORIZONTAL DE LESÕES EM RATOS WISTAR			
SUBSTÂNCIAS		TEMPO (DIAS ¹)	
Extrato a 100%	15.49000 b	T ₁ = 7	23.69500 a
Extrato a 50%	17.54333 ab	T ₂ = 14	17.66750 b
Água destilada	17.84111 ab	T ₃ = 21	11.66583 c
Clorexdina 1%	19.83000 a		
DMS = 3.37801		DMS = 2.64790	

CV% = 14.70. Letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tal achado confirma os resultados encontrados no item 5.2, que estão expostos na planimetria digital e também corrobora com os achados encontrados por Teixeira e Barros (2010), onde ao avaliar a atividade regeneradora de implantes intraósseos e subcutâneos de guta-percha

revestidos de extrato de *Hamamelis virginiana* em ratos Wistar, o pesquisador demonstrou que a cicatrização no sentido horizontal evoluiu melhor que a do sentido vertical.

5.5.2 Análise das medidas vertical das lesões

A análise da variância dos dados das medidas vertical das lesões provocadas em ratos Wistar, tratadas com quatro diferentes substâncias durante um tempo de 21 dias, revelou efeito altamente significativo para tempo e não significativo para substâncias e a interação tempo com substância, tal resultado pode ser observado na Tabela 7.

Tabela 7. Análise de variância de medida vertical de lesões em ratos Wistar tratadas com extratos hidroalcoólico de *Passiflora Edulis*, água destilada e clorexidina a 1% depois do 7°, 14°, e 21°, dia da aplicação.

F.V	G.L	S.Q	Q.M	F
Substâncias (S)	3	20.96688	6.98896	2.9176 ns
Tempo (T)	2	1616.53760	808.26880	337.4227 **
S x T	6	7.74613	1.29102	0.5390 ns
Tratamentos	11	1645.25061	149.56824	62.4393 **
Resíduo	24	57.49007	2.39542	
Total	35	1702.74068		

* significativo 5% de probabilidade ($0,01 \leq p \leq 0,05$);

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p \leq 0,01$); ns não significativo ($p \geq 0,05$)

Mediante os dados contidos na Tabela 8, para substâncias, o fechamento das lesões no sentido vertical não foi influenciado pelas substâncias, isto é, o fechamento das feridas não sofreu interferência destas, indicando que tanto o extrato quanto a água ou a clorexidina 1% atuam indistintamente. Por outro lado, quando se analisa o tempo, tem-se que a medida que esta avança o tamanho vertical da ferida diminui.

Tabela 8. Valores médios de medida vertical (mm) de lesões em ratos Wistar tratadas com quatro substância durante 21 dias.

MEDIDA VERTICAL DE LESÕES EM RATOS WISTAR			
SUBSTÂNCIAS		TEMPO (DIAS ¹)	
Extrato a 100%	13.70889 a	T ₁ = 7	22.64083 a
Extrato a 50%	14.70333 a	T ₂ = 14	12.96083 b
Água destilada	12.84222 a	T ₃ = 21	6.32083 c
Clorexidina 1%	14.64222 a		
DMS =	2.01203	DMS =	1.57716

CV% = 11.08. Letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tal achado também confirma os resultados encontrados no item 5.2, que estão expostos na planimetria digital. Bezerra et al (2006), em pesquisa intitulada extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de anastomose colônica em ratos: estudo morfológico e tensiométrico, também constatou que o processo de cicatrização sofria influência do tempo, visto que a medida que este avançava o processo de cicatrização evoluía, corroborando com achados encontrados na presente pesquisa tanto no item em análise, quanto no item 5.1, onde percebe-se macroscopicamente, essa evolução no decorrer do tempo.

5.5.3 Análise da reação inflamatória aguda da lesão

No estágio da reação inflamatória aguda, foram avaliados os seguintes achados: proliferação vascular, presença de células polimorfonucleares e de células mononucleares. A análise da variância relacionada a proliferação vascular nas lesões encontradas no 21º dia de tratamento, revelou resultado bastante significativo, sendo possível observar que houve um maior aumento da proliferação vascular nos animais que utilizaram o extrato, o que confirma os achados encontrados no item 5.4.1, relacionados a análise histológica da reação inflamatória aguda. Destaca-se que as médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, ou seja, a proliferação vascular no grupo que utilizou a água destilada foi semelhante a do grupo que utilizou a clorexidina a 1%. Tal achado pode ser confirmado no item 5.4.1 e nas Tabelas 9 e 10.

Tabela 9. Análise de variância da proliferação vascular nas lesões em ratos Wistar tratadas com extratos hidroalcoólico de *Passiflora Edulis* a 100%, a 50%, com água destilada e com clorexidina a 1% no 21º, dia da aplicação.

F.V	G.L	S.Q	Q.M	F
Tratamentos	3	13.43750	4.47917	71.6667 **
Resíduo	16	1.00000	0.06250	
Total	19	14.43750		

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

GL	GLR	F-crit	F	p
3	16	5.2922	71.6667	<0.001

Tabela10. Média de tratamento relacionadas a proliferação vascular nos quatro grupos de tratamentos

GRUPO	VALORES
GE10	3.00000 a
GE5	1.50000 b
GC	1.00000 c
GEC	1.00000 c

Letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS = 0.45280. MG = 1.62500 CV% = 15.38. Ponto médio = 2.00000

No que se refere a intensidade da inflamação aguda, avaliada pela presença de células polimorfonucleares não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. O mesmo aconteceu em relação a presença de células mononucleares, achado também encontrado no item 5.4.1

Faleiro et al. (2009), em pesquisa desenvolvida acerca do extrato das folhas de babosa, *Aloe vera* na cicatrização de feridas experimentais em pele de ratos, constatou que nos animais que utilizaram o extrato, a proliferação vascular mostrou-se mais acentuada que nos demais animais, corroborando tanto com os achados encontrados na presente pesquisa quanto com os achados encontrados por Garros et al. (2006), descritos no item 5.4.1, onde os autores afirmam que o extrato hidroalcoólico das folhas da *Passiflora edulis*, apresentou um efeito positivo na angiogênese das feridas cutâneas de ratos da pesquisa desenvolvida pelos mesmos.

5.5.4 Análise da reação inflamatória crônica da lesão

No estágio da reação inflamatória aguda, foram avaliados os seguintes achados: proliferação fibroblástica; colagenização e reepitelização. A análise da variância relacionada a proliferação fibroblástica e a colagenização, nas lesões encontradas no 21º dia de tratamento, revelou resultado bastante significativo, sendo possível observar que houve um maior aumento nos ani-

mais que utilizaram o extrato hidroalcoólico de *Passiflora edulis*. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Tal achado pode ser confirmado no item 5.4.2 e nas Tabelas 11 e 12.

Tabela 11. Análise de variância da proliferação fibroblástica e da colagenização nas lesões em ratos Wistar tratadas com extratos hidroalcoólico de *Passiflora Edulis* a 100%, a 50%, com água destilada e com clorexidina a 1% no 21º, dia da aplicação.

F.V	G.L	S.Q	Q.M	F
Tratamentos	3	10.93750	3.64583	58.3333 **
Resíduo	16	1.00000	0.06250	
Total	19	11.93750		

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

GL	GLR	F-crit	F	p
3	16	5.2922	58.3333	<0.001

Tabela12: Media de tratamento relacionadas a proliferação fibroblástica e a colageneização, nos quatro grupos de tratamentos

GRUPO	VALORES
GE10	3.00000 a
GE5	2.00000 b
GC	1.00000 c
GEC	1.50000 b

Letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS = 0.45280. MG = 1.87500 CV% = 13.33. Ponto médio = 2.00000

A análise da variância relacionada a reepitelização, nas lesões encontradas no 21º dia de tratamento, revelou resultado bastante significativo, sendo possível observar que houve uma maior reepitelização nos animais que utilizaram o extrato vegetal hidroalcoólico de *Passiflora edulis*. Tal achado pode ser confirmado no item 5.4.2 e nas Tabelas 13 e 14.

Tabela 13. Análise de variância da reepitelização nas lesões em ratos Wistar tratadas com extratos hidroalcoólico de *Passiflora Edulis* a 100%, a 50%, com água destilada e com clorexidina a 1% no 21º, dia da aplicação.

F.V	G.L	S.Q	Q.M	F
Tratamentos	3	16.25000	3.64583	58.3333 **
Resíduo	16	2.00000	0.06250	
Total	19	14.43750		

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

GL	GLR	F-crit	F	p
3	16	5.2922	58.3333	<0.001

Tabela14: Media de tratamento relacionadas a reepitelização, nos quatro grupos de tratamentos

GRUPO	VALORES
GE10	3.00000 a
GE5	1.50000 b
GC	2.00000 c
GEC	0.50000 b

Letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS = 0.45280. MG = 1.75000
CV% = 20.20. Ponto médio = 1.50000

Garros et al. (2006), no que se refere aos achados relacionados a reepitelização de feridas cutâneas em ratos, que utilizaram o extrato de *Passiflora edulis*, também observou uma maior reepitelização no grupo que utilizou o extrato que no grupo controle. No que se refere a proliferação fibroblástica e a colageneização, os mesmos autores também encontraram resultados semelhantes aos encontrados tanto nas Tabelas 13 e 14 como no item 5.4.2 da presente pesquisa .

6 CONCLUSÕES

1. O uso tópico do extrato hidroalcoólico de *Passiflora edulis* a 100% agiu positivamente no processo de cicatrização da pele de ratos Wistar fechando horizontalmente a lesão ao final de 21 dias de aplicação.
2. O melhor fechamento da lesão se deu no sentido horizontal.
3. O desbridamento permitiu uma maior penetração das substâncias e melhor visualização da lesão.
4. O Extrato hidroalcoólico das folhas da *Passiflora edulis*, não foi hepatotóxico nem nefrotóxico nos animais estudados.
5. O extrato hidroalcoólico das folhas da *Passiflora edulis*, não acarretou alteração das taxas séricas hepáticas nem renais.
6. Não se constatou alterações histopatológicas, relacionadas a histologia renal, hepática ou da epiderme nos grupos dos animais estudados.
7. O emprego tópico do extrato hidroalcoólico de *Passiflora edulis* a 100% é o que melhor se associa ao aumento da proliferação vascular, fibroblástica, reepitelização pós operatória e reação inflamatória leucocitária e calagenização.
8. A área da ferida dos ratos Wistar, tratados com o extrato hidroalcoólico das folhas de *Passiflora edulis*, diminuiu significativamente ao longo do tempo e acentuadamente entre o 7º e 14º dias de pós-operatório.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

1. Ampliação do estudo experimental *in vivo*, podendo acontecer inclusive com outros animais, e quiçá em humanos.
2. Testagem de outras dosagens do extrato, com diferentes concentrações, podendo inclusive aumentar o número de dias da pesquisa.
3. O isolamento do componente ou de componentes do extrato, responsáveis pela influência positiva no processo de reparação de tecidos, podendo ser realizada a fitoquímica do extrato em estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, F. de A. C. Atividade inseticida de extratos vegetais sobre *Callosobruchus maculatus* (fabr., 1775) (coleoptera: bruchidae). **Rev. Bras. Agrociência.** v.10, n.1, p. 67-70, 2004.
- ALVES, R. A.; MARQUES, A. S. B. F. significado do processo de enfermagem para enfermeiros de uma unidade de terapia intensiva: uma abordagem interacionista. **Rev. Esc. Enferm. USP,** v.42, n.4, p.23-30, 2003.
- BARBOSA, P. R. **Estudo da ação psicofarmacológica de extratos de *passiflora alata dryander* e *passiflora edulis sims.***, 2006. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais). Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade do Extremo Sul Catarinense. 2006. Disponível em: <<http://www.bib.unesc.net/biblioteca/sumario/00002C/00002C69.pdf>>. Acesso em: 20 set. 2012.
- BARBOSA, M. H. et al. Ações terapêuticas da própolis em lesões cutâneas. **Rev. Acta Paul. Enferm.** v.22, n.3, p. 318-22, 2009.
- BARCELLOS, P. S. et al. Avaliação bioquímica e toxicológica do extrato dos frutos de *Euterpe oleracea Martius* (açai). **Rev. Ciênc. Saúde.** v.12, n.2, p. 91-96, 2010.
- BAUER, E. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **Am J Clin Patol.** v.45, p. 493-96, 1966.
- BEZERRA, J. A. F. et al. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de anastomose colônica em ratos: estudo morfológico e tensiométrico. **Rev. Acta Pauls. Bras.** v.22, n.3, p. 17-25, 2006
- BLANES, L. Tratamento de feridas. In: BAPTISTA-SILVA, J. C. C. (Ed.). **Cirurgia vascular: guia ilustrado.** São Paulo: 2004.
- BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. **Manual Brasileiro de Acreditação Hospitalar.** – 3. ed. rev. e atual. – Brasília: Ministério da Saúde, 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS - PNPIC-SUS.** 1.ed., 2006. Disponível em: <www.saude.gov.br/bvs> Acesso em: 21 set 2012.
- BRASIL. Ministério da Ciência Tecnologia e Inovação. **Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008.** Estabelece Procedimentos para o uso Científico de Animais. Disponível em: <<http://www.mct.gov.br/index.php/content/view/full/75669>>. Acesso em: 01 out. 2012.
- BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes.** Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 2009.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira.** Brasília: Anvisa, 2012.
- CAMARGO, J. L. V.; OLIVEIRA, D. E. **Patologia geral: uma abordagem multidisciplinar.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

CANDIDO, L. C. **Nova abordagem no tratamento de feridas**. São Paulo: SENAC, 2001.

COELHO, J. M. et al. Efeito da sulfadiazina de prata, extrato de ipê-roxo e extrato de barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Rev. Col. Bras. Cir.**, v. 37, n. 1, p. 45-51, 2010.

COFEN. **Resolução COFEN-197/1997**. Publicado Portal do COFEN - Conselho Federal de Enfermagem. Disponível em: <<http://site.portalcofen.gov.br>> Acesso em: 25 set. 2012.

CONTRERA A. et al. Ação da tintura-mãe de *Lichnophora ericoides*, *Aristolochia esperanzae* e *Solidago microglossa*, em feridas cutâneas de ratos. **Rev. Esc. Farm. Odont.** v.11, p. 157-60, 1985.

CUNHA, A. N. Sistematização da assistência de enfermagem no tratamento de feridas crônicas. **Rev. Fund. de Ens. Sup. Olinda.** v.22, n.4, p. 34-42, 2006.

DEALEY, C. **Cuidando de feridas: Um Guia para as Enfermeiras**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2009.

DANTAS, S. R. P. E. Abordagem Multiprofissional do tratamento de feridas. **Rev. Bras. Enferm.** v.3, n.12, p.03-16, 2008.

DICCINI, S. et al. Incidência de úlcera por pressão em pacientes neurocirúrgicos de hospital universitário. **Rev. Acta Paul Enferm.** v.2, n.22, p.205-9, 2009.

FERNANDES, A. M. O enfermeiro e o tratamento de feridas: em busca da autonomia do cuidados. **Rev. Ciênc. Sau.** v. 3, n. 15, p 54-62, 2005.

FALEIRO, C. C. et al. O extrato das folhas de babosa, *Aloe vera* na cicatrização de feridas experimentais em pele de ratos, num ensaio controlado por placebo. **Rev. Naturezaonline.** v.7, n.2, p.56-60, 2009.

FALEIRO, F. G. et al. **Germoplasma e melhoramento genético do maracajueiro: histórico e perspectivas**. Planaltina: EMBRAPA/Cerrados, 2011.

FIUZA, T. S. et al. Análise tecidual e celular das brânquias de *Oreochromis niloticus* L. tratadas com extrato etanólico bruto e frações das folhas da pitanga (*Eugenia uniflora* L.) – Myrtaceae. **Rev. Bras. Pl. Med.** v.13, n.4, p.389-395, 2011.

GAMBA, M. A.; BARBOZA, M. V. S. Feridas. In: BRÊTAS, A. C. P.; GAMBA, M. A. **Enfermagem em saúde do adulto**. Barueri - SP: Manole, 2006.

GARROS, I. C. et al. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. **Rev. Acta Cirur. Bras.** v. 21, n. 3, p. 55-65, 2006.

GOMES, C. S. Efeito do extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização da parede abdominal de ratos: estudo morfológico e tensiométrico. **Rev. Acta Cirur. Bras.** v.21, n.2, p. 9-16, 2006.

GOMES, F. S. L. **Tratamento de feridas Crônicas com coberturas oclusivas: alteração qualitativa da macrobiótica**. Dissertação. (Mestrado em Enfermagem) Belo Horizonte:

Universidade Federal de Minas Gerais, 2001. Disponível em: <<http://www.enf.ufmg.br/mestrado/dissertacoes/FlaviaSampaio.pdf>>. Acesso em: 11 de set. de 2009.

GONÇALVES FILHO, A. et al. Efeito do extrato de *Passiflora edulis* (maracujá) na cicatrização da bexiga de ratos: estudo morfológico. **Rev. Acta Cirur. Bras.** v.21, n.2, p 3-8, 2006

GUIMARÃES, A. L. et al. Desafios para a implantação da Fitoterapia no Sistema Único de Saúde. In: BARRETO, A. F. (Org.). **Integralidade e saúde:** epistemologia, política e práticas de cuidado. Recife: Ed. Universitária UFPE, 2011, p. 97-108.

HESS, C. T. **tratamento de feridas e úlceras.** 4. ed. Rio de Janeiro: Reichmann & Afonso, 2002.

IRION, G. L. **Feridas: Novas abordagens, manejo clínico e Atlas em cores.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

KASAI, L. et al. Hepatotoxicidade de plantas medicinais. Lx. Ação da infusão de *Rheum palmatum* L no rato. **Rev. Cient. Univ. Franca.** v.7, n.1, p.79-86, 2007.

LADEIRA, P. R. S. et al. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. **Rev Med. SP.** v.89, n.3, p.125-31, 2010.

LAPCHIK, V. B. V. **Cuidados e manejos de animais de laboratórios.** São Paulo: Editora Atheneu, 2009.

MAIA, R. R. et al. Efeito antimicrobiano do extrato de *Momordica charantia* linn isolado e em associação com antibióticos sobre *Staphylococcus aureus* multirresistentes. **Rev. Agropec. Ci-ent. no Semi-Árido.** v.04, p.12-17, 2008.

MALAGUTTI, W.; KAKIHARA, C. T. Curativos, estomias e dermatologia, um abordagem multiprofissional. **Rev. Eltr. Enferm.** v.5, n.62, p.62-65, 2010. Disponível em: <http://scielo.isciii.es/pdf/eg/n19/revision5.pdf>. Acesso em 13/01/2013.

MEIRELES, I. B.; SILVA, R. C. L. Fundamentos biológicos para o atendimento ao portador de lesões de pele. In: SILVA, R. C. L.; FIGUEIREDO, N. M. A.; MEIRELES, I. B. **Feridas: fundamentos e atualizações em enfermagem.** São Caetano do Sul, SP: Yendis, 2007.

MOORE, K. L.; DALLEY, A. F. **Anatomia orientada para a clínica.** 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

MORAIS, G. F. C. et al. Avaliação de Feridas pelos Enfermeiros de Instituições Hospitalares da Rede Pública. **Rev. Texto Contexto Enferm.** v.17, n.1, p. 98-105, 2008.

MOREIRA, J. C. Desnutrição e cicatrização de feridas. In: WAITZBERG, D. L. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica.** 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2006.

MUNIZ, H. J. T. **Colecionando Frutas:** 100 espécies de frutas nativas e exóticas. 1.ed. São Paulo: Arte e Ciência, 2008.

NASCIMENTO, A. K. B. **Biomateriais e seu uso no tratamento de feridas**: avaliando o nível de conhecimento dos profissionais de enfermagem acerca dos avanços no tratamento de lesão cutânea. 2009.88f. Monografia (graduação em enfermagem). Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande, 2009.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS- NCCL. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing; **Twelfth informational supplement M100-512**. v. 22, n.1, p.23-29, 2002.

OLIVEIRA, D. B. et al. Extrato dos frutos de *Cereus fernambucensis*: Atividade Antioxidante e Inibicao da Producao de Oxido Nitrico (NO) por Macrofagos. **Rev. Interscienceplace**. v. 2, n. 7, p.34-41, 2009.

OLIVEIRA, A. C. P. et al. Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from onychomycosis. **Rev. Med. Inst. Oswaldo Cruz**. v.101, n. 5, p. 493-7, 2010.

PEREIRA, A.F et al. **Protocolo de Assistência para Portadores de Ferida**, 2006. Disponível em: <http://www.pbh.gov.br/smsa/biblioteca/protocolos/curativos.pdf>. Acesso em: 18 maio 2013.

PINTO, K. C. M. S. et al. Produtos utilizados no tratamento de lesões neoplásicas cutâneas. **Rev. Estima**. v.7, n.1, p.39-43, 2009.

POTTER, P. A.; PERRY, A. G. **Fundamentos da pesquisa em enfermagem**. 5. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

PORTO, C. C. **Semiologia médica**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

RAMOS, E. M. L. S. **Estatística: poderosa ciência ao alcance de todos**. Editora da UFPA: Parará, 2007. Disponível em:<http://www.ufpa.br/beiradorio/arquivo/Beira21/opiniaio.html>. Acesso em: 08/10/2013.

REZENDE, H. A.; COCCO, M. I. M. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Rev. Esc. Enferm. USP**. v. 32, n. 3, p. 282-288, 2002.

RIBEIRO, F. A. Q. O comportamento clínico e histológico da pele do rato submetida ao uso tópico injetável da mitomicina C. **Ver. Bras. Otorrino**. v. 69, n. 2, p.76-84, 2003.

ROTTA, O. **Guias de Medicina Ambulatorial e hospitalar da UNIFES-EPM**: dermatologia, clínica, cirurgia e Cósmiátrica. 1. ed. São Paulo: Nestor Schor, 2008.

SANCHEZ N. R. et al. Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas de ratos com e sem tratamento com solução de papaína a 2%. **Rev. Acta Cir Bras**. v.8, n.1, p.18-23, 1993.

SASSONE, L. M. et al. Antimicrobial Activity of Different Concentrations of NaOCl and Chlorhexidine Using a Contact Test. **Rev. Braz Dent**. v.14, n. 2, p. 99-102, 2003.

SILVA, J. R. S. et al. Efeito do extrato da *Passiflora edulis* na cicatrização de gastrorrafias em

ratos: estudo morfológico e tensiométrico. **Rev. Acta Cirúr. Bras.** v. 21, n. 2, p. 52-60, 2006.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. Versão do Programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Rev. Bras. de Prod. Adroindustriais.** v.4, n.1, 2009.

SILVA, R.C.L. et al. **Feridas: fundamentos e atualizações em enfermagem**, 2^oed. São Caetano do sul: Yendis, 2010.

SMELTZER, S. C.; BARE, B. C. **Tratado de enfermagem médico-cirúrgica**. 10^a Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

TEIXEIRA, M. B.; BARROS, P. P. Avaliação da atividade regeneradora de implantes intraósseo e subcutâneo de guta-percha revestidos de extrato de *Hamamelis virginiana*. *Rev. Puc. Camp.* v.45, p.30-8, 2010.

TEIXEIRA, J. B. P. et al. **A Fitoterapia no Brasil: da Medicina Popular à regulamentação pelo Ministério da Saúde**. UFJF, 2012. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/proplamed/files/2012/04/A-Fitoterapia-no-Brasil-da-Medicina-Popular-%C3%A0-regulamenta%C3%A7%C3%A3o-pelo-Minist%C3%A9rio-da-Sa%C3%BAde.pdf>>. Acesso em 30 jan. 2013.

UNICAMP. UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. Hospital da Clinicas. Grupo de Estudos de Feridas. **Manual de tratamento de feridas**. Hospital das Clinicas de Campinas – 1999.

APÊNDICE B

Rato: A I	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 8,54cm ²	 Área aproximada: 7,50cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 6,80cm ²	 Área aproximada: 4,80cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 4,20cm ²	 Área aproximada: 4,71cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 4,44cm ²	 Área aproximada: 3,20cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 3,08cm ²	 Área aproximada: 1,90cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 3,20cm ²	 Área aproximada: 1,44cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 1,40cm ²	 Área aproximada: 1,20cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 1,32cm ²	 Área aproximada: 0,90cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 0,80cm ²	 Área aproximada: 1,00cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 0,60cm ²	 Área aproximada: 0,52cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,50cm ²	

APÊNDICE C

Rato: A II	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 8,50cm ²	 Área aproximada: 4,70cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 5,20cm ²	 Área aproximada: 5,30cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 5,13cm ²	 Área aproximada: 4,90cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 3,60cm ²	 Área aproximada: 3,30cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 2,90cm ²	 Área aproximada: 2,30cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 1,50cm ²	 Área aproximada: 1,30cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 1,47cm ²	 Área aproximada: 1,80cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 1,00cm ²	 Área aproximada: 0,90cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 0,80cm ²	 Área aproximada: 0,61cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 0,50cm ²	 Área aproximada: 0,40cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,40cm ²	

APÊNDICE D

Rato: B I	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 9,10cm ²	 Área aproximada: 6,30cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 5,20cm ²	 Área aproximada: 4,60cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 4,55cm ²	 Área aproximada: 4,90cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 3,50cm ²	 Área aproximada: 3,30cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 2,20cm ²	 Área aproximada: 1,10cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 1,83cm ²	 Área aproximada: 1,60cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 1,50cm ²	 Área aproximada: 1,30cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 1,50cm ²	 Área aproximada: 1,14cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 0,90cm ²	 Área aproximada: 0,80cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 0,71cm ²	 Área aproximada: 0,60cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,60cm ²	

APÊNDICE E

Rato: B II	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 8,00cm ²	 Área aproximada: 6,11cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 6,09cm ²	 Área aproximada: 4,80cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 4,60cm ²	 Área aproximada: 3,80cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 4,62cm ²	 Área aproximada: 4,00cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 4,60cm ²	 Área aproximada: 2,22cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 1,90cm ²	 Área aproximada: 1,60cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 1,40cm ²	 Área aproximada: 1,30cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 1,27cm ²	 Área aproximada: 0,90cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 0,80cm ²	 Área aproximada: 0,90cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 0,80cm ²	 Área aproximada: 0,50cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,50cm ²	

APÊNDICE F

Rato: C I	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 7,00cm ²	 Área aproximada: 6,00cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 5,70cm ²	 Área aproximada: 5,20cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 6,25cm ²	 Área aproximada: 4,10cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 2,60cm ²	 Área aproximada: 2,50cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 2,20cm ²	 Área aproximada: 2,10cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 1,70cm ²	 Área aproximada: 1,20cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 1,20cm ²	 Área aproximada: 1,10cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 0,90cm ²	 Área aproximada: 0,90cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 0,80cm ²	 Área aproximada: 0,71cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 0,50cm ²	 Área aproximada: 0,40cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,40cm ²	

APÊNDICE G

Rato: C II	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 8,80cm ²	 Área aproximada: 7,10cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 8,40cm ²	 Área aproximada: 5,30cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 3,40cm ²	 Área aproximada: 5,00cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 4,20cm ²	 Área aproximada: 4,50cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 2,80cm ²	 Área aproximada: 2,30cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 1,70cm ²	 Área aproximada: 1,90cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 1,60cm ²	 Área aproximada: 1,30cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 1,40cm ²	 Área aproximada: 1,00cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 0,90cm ²	 Área aproximada: 0,60cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 0,50cm ²	 Área aproximada: 0,30cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,30cm ²	

APÊNDICE H

Rato: C III	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 6,60cm ²	 Área aproximada: 6,10cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 5,40cm ²	 Área aproximada: 5,30cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 4,80cm ²	 Área aproximada: 4,82cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 5,80cm ²	 Área aproximada: 2,75cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 1,30cm ²	 Área aproximada: 1,70cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 1,80cm ²	 Área aproximada: 2,21cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 1,10cm ²	 Área aproximada: 0,70cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 0,60cm ²	 Área aproximada: 0,90cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 0,70cm ²	 Área aproximada: 0,50cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 0,40cm ²	 Área aproximada: 0,30cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,30cm ²	

APÊNDICE I

Rato: D I	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 7,52cm ²	 Área aproximada: 6,70cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 6,80cm ²	 Área aproximada: 3,70cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 5,00cm ²	 Área aproximada: 4,80cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 4,60cm ²	 Área aproximada: 2,60cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 2,30cm ²	 Área aproximada: 1,80cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 1,30cm ²	 Área aproximada: 1,60cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 1,40cm ²	 Área aproximada: 0,90cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 0,90cm ²	 Área aproximada: 0,60cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 0,50cm ²	 Área aproximada: 0,40cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 0,40cm ²	 Área aproximada: 0,30cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,30cm ²	

APÊNDICE J

Rato: D III	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 6,90cm ²	 Área aproximada: 6,80cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 6,70cm ²	 Área aproximada: 6,00cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 5,62cm ²	 Área aproximada: 4,51cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 5,50cm ²	 Área aproximada: 3,40cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 3,20cm ²	 Área aproximada: 2,80cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 2,00cm ²	 Área aproximada: 1,60cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 1,52cm ²	 Área aproximada: 1,60cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 0,70cm ²	 Área aproximada: 1,30cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 1,00cm ²	 Área aproximada: 1,10cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 0,80cm ²	 Área aproximada: 0,50cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,50cm ²	

APÊNDICE L

Rato: E I	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 7,20cm ²	 Área aproximada: 6,50cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 6,30cm ²	 Área aproximada: 7,10cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 6,01cm ²	 Área aproximada: 4,80cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 4,50cm ²	 Área aproximada: 3,60cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 3,20cm ²	 Área aproximada: 3,00cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 2,52cm ²	 Área aproximada: 1,70cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 1,80cm ²	 Área aproximada: 1,70cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 1,60cm ²	 Área aproximada: 1,50cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 1,20cm ²	 Área aproximada: 1,50cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 1,32cm ²	 Área aproximada: 1,20cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 1,20cm ²	

APÊNDICE M

Rato: E II	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 7,90cm ²	 Área aproximada: 6,10cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 5,05cm ²	 Área aproximada: 5,20cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 4,30cm ²	 Área aproximada: 2,42cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 4,00cm ²	 Área aproximada: 2,50cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 2,60cm ²	 Área aproximada: 2,50cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 1,60cm ²	 Área aproximada: 1,12cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 1,40cm ²	 Área aproximada: 1,30cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 1,10cm ²	 Área aproximada: 0,70cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 0,70cm ²	 Área aproximada: 1,00cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 0,60cm ²	 Área aproximada: 0,40cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,40cm ²	

APÊNDICE N

Rato: E III	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 8,00cm ²	 Área aproximada: 6,56cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 9,10cm ²	 Área aproximada: 7,60cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 6,60cm ²	 Área aproximada: 5,32cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 5,50cm ²	 Área aproximada: 3,40cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 3,30cm ²	 Área aproximada: 3,90cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 2,80cm ²	 Área aproximada: 2,80cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 2,54cm ²	 Área aproximada: 1,80cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 2,00cm ²	 Área aproximada: 1,51cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 1,50cm ²	 Área aproximada: 1,20cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 1,50cm ²	 Área aproximada: 1,10cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 1,10cm ²	

APÊNDICE O

Rato: F I	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 8,20cm ²	 Área aproximada: 6,10cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 5,00cm ²	 Área aproximada: 3,36cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 4,80cm ²	 Área aproximada: 4,50cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 4,00cm ²	 Área aproximada: 2,90cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 2,30cm ²	 Área aproximada: 2,10cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 1,57cm ²	 Área aproximada: 1,10cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 1,10cm ²	 Área aproximada: 0,80cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 1,00cm ²	 Área aproximada: 0,50cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 0,60cm ²	 Área aproximada: 0,30cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 0,30cm ²	 Área aproximada: 0,10cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,10cm ²	

APÊNDICE P

Rato: G I	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 7,00cm ²	 Área aproximada: 6,60cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 6,90cm ²	 Área aproximada: 7,32cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 5,38cm ²	 Área aproximada: 5,20cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 2,50cm ²	 Área aproximada: 3,20cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 2,36cm ²	 Área aproximada: 2,61cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 2,20cm ²	 Área aproximada: 2,20cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 2,10cm ²	 Área aproximada: 1,80cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 1,93cm ²	 Área aproximada: 1,50cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 1,30cm ²	 Área aproximada: 1,71cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 0,70cm ²	 Área aproximada: 0,90cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,90cm ²	

APÊNDICE Q

Rato: G II	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 9,31cm ²	 Área aproximada: 6,15cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 6,70cm ²	 Área aproximada: 6,60cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 5,00cm ²	 Área aproximada: 5,40cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 4,90cm ²	 Área aproximada: 3,32cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 4,41cm ²	 Área aproximada: 3,10cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 1,90cm ²	 Área aproximada: 1,70cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 1,90cm ²	 Área aproximada: 1,60cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 0,70cm ²	 Área aproximada: 1,11cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 1,00cm ²	 Área aproximada: 0,60cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 0,50cm ²	 Área aproximada: 0,35cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,30cm ²	

APÊNDICE R

Rato: G III	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 7,70cm ²	 Área aproximada: 8,82cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 6,30cm ²	 Área aproximada: 5,58cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 4,10cm ²	 Área aproximada: 4,30cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 4,50cm ²	 Área aproximada: 2,14cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 1,90cm ²	 Área aproximada: 2,91cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 2,30cm ²	 Área aproximada: 2,03cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 1,90cm ²	 Área aproximada: 1,80cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 1,50cm ²	 Área aproximada: 1,40cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 1,52cm ²	 Área aproximada: 0,90cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 0,23cm ²	 Área aproximada: 0,50cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,50cm ²	

APÊNDICE S

Rato: H II	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 7,40cm ²	 Área aproximada: 5,60cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 5,40cm ²	 Área aproximada: 7,80cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 3,50cm ²	 Área aproximada: 5,50cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 5,10cm ²	 Área aproximada: 3,10cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 2,30cm ²	 Área aproximada: 3,20cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 2,20cm ²	 Área aproximada: 1,90cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 2,00cm ²	 Área aproximada: 1,60cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 2,00cm ²	 Área aproximada: 1,80cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 1,30cm ²	 Área aproximada: 1,50cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 1,00cm ²	 Área aproximada: 0,90cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,90cm ²	

APÊNDICE T

Rato: 11	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 7,70cm ²	 Área aproximada: 6,50cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 6,80cm ²	 Área aproximada: 6,10cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 6,60cm ²	 Área aproximada: 5,90cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 5,10cm ²	 Área aproximada: 3,90cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 3,10cm ²	 Área aproximada: 3,00cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 1,80cm ²	 Área aproximada: 1,60cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 1,50cm ²	 Área aproximada: 2,00cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 1,10cm ²	 Área aproximada: 1,30cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 0,80cm ²	 Área aproximada: 0,40cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 0,60cm ²	 Área aproximada: 0,30cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,30cm ²	

APÊNDICE U

Rato: I II	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 6,40cm ²	 Área aproximada: 7,00cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 6,30cm ²	 Área aproximada: 5,90cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 4,80cm ²	 Área aproximada: 5,20cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 5,40cm ²	 Área aproximada: 3,90cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 3,80cm ²	 Área aproximada: 2,40cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 2,10cm ²	 Área aproximada: 2,00cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 1,70cm ²	 Área aproximada: 1,80cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 0,80cm ²	 Área aproximada: 1,00cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 1,20cm ²	 Área aproximada: 1,20cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 0,80cm ²	 Área aproximada: 0,40cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 0,40cm ²	

APÊNDICE V

Rato: I III	
Área Inicial: 6,25 cm ²	
Dia 1	Dia 2
 Área aproximada: 7,40cm ²	 Área aproximada: 7,70cm ²
Dia 3	Dia 4
 Área aproximada: 6,30cm ²	 Área aproximada: 6,70cm ²
Dia 5	Dia 6
 Área aproximada: 6,10cm ²	 Área aproximada: 5,50cm ²
Dia 7	Dia 8
 Área aproximada: 4,90cm ²	 Área aproximada: 3,80cm ²
Dia 9	Dia 10
 Área aproximada: 3,70cm ²	 Área aproximada: 3,80cm ²
Dia 11	Dia 12
 Área aproximada: 2,20cm ²	 Área aproximada: 2,30cm ²
Dia 13	Dia 14
 Área aproximada: 2,00cm ²	 Área aproximada: 1,70cm ²
Dia 15	Dia 16
 Área aproximada: 1,80cm ²	 Área aproximada: 2,30cm ²
Dia 17	Dia 18
 Área aproximada: 1,70cm ²	 Área aproximada: 1,70cm ²
Dia 19	Dia 20
 Área aproximada: 1,30cm ²	 Área aproximada: 1,50cm ²
Dia 21	
 Área aproximada: 1,50cm ²	

ANEXO



Comitê de Ética Superior
e Desenvolvimento



CEUA
Comitê de Ética em Uso de Animais





CENTRO DE ENSINO SUPERIOR E DESENVOLVIMENTO
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICA DE CAMPINA GRANDE
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CESED

PARECER

CEUA N°: 11
CIAEP/CONCEA N°: 01.0001.2012
PROTOCOLO N°: 011100212

1. Pesquisador Responsável:
Chirlaine Cristine Gonçalves

2. Título do Projeto:

Desenvolvimento e Avaliação do Extrato do Maracujá (*Passiflora Edulis*) no Tratamento de Feridas Cutâneas em Ratos Wistar

3. Considerações:

O projeto apresentado esta bem discriminado e coerente com as normas de utilização de animais. O protocolo de pesquisa está devidamente preenchido, com todos os itens solicitados entregue a CEUA/CESED.

4. Parecer Final: **APROVADO**

Campina Grande, 10 de fevereiro de 2012



Tharcia Kiara B. de Oliveira
Médica Veterinária
Coordenadora CEUA/CESED



Tharcia Kiara B. de Oliveira
Coordenadora CEUA/CESED



Av. Senador Argemiro de Figueiredo, 1501 - Itararé
CEP 52411-020 | Campina Grande - PB | (83) 2101.8800
www.cesed.br | tcisa@cesed.br | tcm@cesed.br | esac@cesed.br