

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS – PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Avaliação da pele de rã (*Rana catesbeiana*) como curativo biológico oclusivo
no tratamento de feridas cutâneas experimentais em cães (*Canis familiaris*)

Angélica Ramalho de Araújo Leite

2010



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS – PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Avaliação da pele de rã (*Rana catesbeiana*) como curativo biológico oclusivo
no tratamento de feridas cutâneas experimentais em cães (*Canis familiaris*)

Angélica Ramalho de Araújo Leite
(Graduanda)

Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto
(Orientador)

Patos – PB

Setembro/ 2010

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA SETORIAL
CAMPUS PATOS/UFCG**

L533a Leite, Angélica Ramalho de Araújo.

Avaliação da pele de rã (*Rana catesbeiana*) como curativo biológico oclusivo no tratamento de feridas cutâneas experimentais em cães (*Canis familiaris*) / Angélica Ramalho de Araújo Leite. – Patos, PB: CSTR, UFCG, 2010.
46f.

Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – CSTR / UFCG.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto

1. Cicatrização. 2. Cirurgia. 3. Cão. I. Título.

UFCG/CSTR

CDU 619: 616-003.92(043)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS – PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

ANGÉLICA RAMALHO DE ARAÚJO LEITE
Graduanda

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Médica Veterinária.

APROVADO EM: 03/09/2010

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto
Orientador

Prof. Dr. Almir Pereira de Souza
Examinador I

Profª. Drª. Verônica Medeiros da Trindade Nobre
Examinador II

DEDICATÓRIA

Ao meu pai, Marconi Araújo Leite (*In Memoriam*), que nunca mediu esforços para realizar meus sonhos e me ver feliz. Desde quando eu era criança me ensinou que a maior herança que ele poderia me deixar seria a educação. Nunca me esqueci disso! Hoje tenho a certeza que esta é a maior riqueza que tenho, a qual ninguém vai poder tirar. Pai, a você dedico esse trabalho, com a certeza de que onde estiver estará radiante pela minha escolha e pelo meu sucesso em mais uma etapa da minha vida. Muito obrigada por tudo!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar força, sabedoria e paciência para superar os obstáculos que surgiram no caminho.

À minha Mãe e melhor amiga, Maria Ramalho de Araújo Leite, pelo incentivo e apoio no decorrer dessa caminhada, e por se orgulhar de mim, estando sempre ao meu lado nos momentos mais difíceis. Mesmo nas minhas ausências, sei que sempre está comigo!

À minha Avó paterna, Edite Leite Nóbrega, pelas orações e pelas infinitas ajudas, sempre visando o meu aprendizado e crescimento. Jamais esquecerei o que fez e faz por mim. Muito obrigada!

À minha sobrinha, Mariana Ramalho, pelo companheirismo, amor e incentivo.

Aos animais, que contribuíram com seu amor e carinho para a realização deste estudo.

Ao meu Orientador, Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto, não só pela orientação no desenvolvimento deste trabalho, mas pela amizade, disponibilidade, paciência e por acreditar na realização desta pesquisa. Devo muito do que sei e sou a você.

Ao Laboratório de Patologia Animal do HV/CSTR, por toda contribuição para a realização das biópsias e análise histopatológica das amostras, em especial ao aluno de pós-graduação José Glauco Nogueira de Galiza e ao professor Antônio Flávio Medeiros Dantas.

Ao Laboratório de Microbiologia do HV/CSTR, em especial a Felício Garino Júnior e Rodrigo Matos, pela colaboração nas análises microbiológicas, ensinamentos e amizade.

Ao Laboratório de Ranicultura e Produtos da Aquicultura do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias (CCHSA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) e aos professores Onofre Maurício de Moura e Alex Poeta Casali, que disponibilizaram as peles de *Rana catesbeiana* utilizadas neste projeto.

À Médica Veterinária Rosileide Carneiro, pelo apoio durante todo o curso, confiança e amizade. Seus ensinamentos e palavras de conforto foram muito importantes para a minha formação.

Aos amigos, Fabrícia Geovânia, Sayonara Alves, Paulo Vinícius e Daniel Pedrosa que colaboraram para o desenvolvimento deste projeto de pesquisa com seu apoio, amizade, paciência e momentos de descontração.

Aos Amigos adquiridos no decorrer do curso (José Radmácyo, Sâmya Felizardo, Lisanka Maia, Janiely Paulo, Diogo da Costa, Matheus Maia, Jefferson Filgueira), por todo o companheirismo e em especial a Vinícius Longo pelo apoio dado em momentos difíceis pelo qual passei durante o curso.

Ao amigo Anderson Eufrásio que me ouviu, aconselhou e ajudou, às vezes perto, às vezes longe, porém sempre paciente e presente.

À Turma de Concluintes 2010.2, por todos os desafios que superamos juntos.

À toda a minha FAMÍLIA, que acreditou e torceu pela minha vitória.

Ao CNPq pela concessão da bolsa PIBIC que financiou este trabalho de pesquisa.

Aos Professores, pelo ensino transmitido que contribuiu de forma direta na minha formação profissional.

Aos que contribuíram direta e indiretamente para a conclusão deste trabalho.

À todos muito obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Conceito de feridas	14
2.2 Conceito de cicatrização	14
2.3 Processo de reparo das feridas	15
2.3.1 Formação e resolução do coágulo	15
2.3.2 Processo inflamatório	16
2.3.3 Processo de reparação	17
2.3.3.1 Angiogênese	17
2.3.3.2 Fibroplasia	18
2.3.3.3 Epitelização	18
2.3.3.4 Contração	19
2.3.4 Processo de remodelagem	19
2.4 Curativo biológico	19
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 Animais	21
3.2 Obtenção, acondicionamento e preservação das peles de rã	21
3.3 Modelo experimental e grupos estudados	22
3.4 Técnica operatória	23
3.5 Parâmetros avaliados	25
3.5.1 Pós-operatório mediato e imediato	25
3.5.2 Avaliação macroscópica	25
3.5.3 Avaliação microscópica	26
3.5.4 Morfometria	27

3.5.5 Avaliação bacteriológica	28
3.6 Análise estatística	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1 Pós-operatório mediato e imediato	30
4.2 Avaliação macroscópica	31
4.3 Avaliação microscópica	34
4.4 Morfometria	38
4.5 Avaliação bacteriológica	40
5. CONCLUSÃO	42
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Retalhos de pele dorsal de <i>Rana catesbeiana</i> conservados em glicerina a 99,5%.....	22
Figura 2. Hidratação da pele por imersão em solução de NaCl a 0,9%.....	22
Figura 3. Colocação de retalho de pele de <i>Rana catesbeiana</i> sob lesão cirúrgica (Grupo Tratamento)	23
Figura 4. Colocação de gaze umedecida com solução de NaCl a 0,9% sob lesão cirúrgica (Grupo Controle).....	23
Figura 5. Animal envolto por faixa de crepom nº 10 após troca de curativos.....	23
Figura 6. Animal contido em vestimenta tubular de malha de algodão.....	23
Figura 7. Demarcação do tamanho da ferida através de molde quadrado de película radiográfica.....	24
Figura 8. Incisão para retirada do flap cutâneo.....	24
Figura 9. Retirada do fragmento cutâneo	25
Figura 10. Ferida cutânea criada após a remoção do fragmento cutâneo.....	25
Figura 11. Biópsia utilizando-se <i>punch</i>	27
Figura 12. Mensuração da área de ferida cutânea no 8º dia pós-operatório.....	28
Figura 13. Coleta de material para microbiologia por meio de <i>swab</i> em contato com o leito da ferida.....	29
Figura 14. Aspecto de ferida cirúrgica submetida ao tratamento com pele de <i>Rana catesbeiana</i> no 2º dia pós-operatório. Animal 4	31
Figura 15. Aspecto de ferida cirúrgica submetida ao tratamento com solução de NaCl a 0,9% no 2º dia pós-operatório. Animal 4.....	31
Figura 16. Aspecto de ferida cirúrgica submetida ao tratamento com pele de <i>Rana catesbeiana</i> , no 6º dia pós-operatório. Animal 5.....	34
Figura 17. Aspecto de ferida cirúrgica submetida ao tratamento com solução de NaCl a 0,9%, no 6º dia pós-operatório. Animal 5.....	34
Figura 18. Microfotografia (Pele). Corte histológico de fragmento de pele de cão submetida a tratamento com curativo biológico oclusivo de pele de <i>Rana catesbeiana</i> em feridas cutâneas experimentais no 8º dia pós-operatório. Observa-se acentuada reação inflamatória (A) e fibroplasia (*), moderada neovascularização (cabeça de seta) e discreta reepitelização (seta). H&E. Obj.	

- 4x..... 36
- Figura 19.** Microfotografia (Pele). Corte histológico de fragmento de pele de cão submetida a tratamento com solução de NaCl a 0,9% em feridas cutâneas experimentais no 8º dia pós-operatório. Observa-se moderada reação inflamatória (A) e fibroplasia (*), moderada neovascularização (cabeça de seta) e reepitelização discreta (seta). H&E. Obj. 36
- 4x.....
- Figura 20.** Microfotografia (Pele). Corte histológico de fragmento de pele de cão submetida a tratamento com curativo biológico oclusivo de pele de *Rana catesbeiana* em feridas cutâneas experimentais no 14º dia pós-operatório. Observa-se acentuada reação inflamatória (A) e fibroplasia (*), moderada neovascularização (cabeça de seta) e reepitelização (seta). H&E. Obj. 37
- 4x.....
- Figura 21.** Microfotografia (Pele). Corte histológico de fragmento de pele de cão submetida a tratamento com solução de NaCl a 0,9% em feridas cutâneas experimentais no 14º dia pós-operatório. Observa-se moderada reação inflamatória (A) e acentuada fibroplasia (*), moderada neovascularização (cabeça de seta) e discreta reepitelização (seta). H&E. Obj. 37
- 4x.....
- Figura 22.** Microfotografia (Pele). Corte histológico de fragmento de pele de cão submetida a tratamento com curativo biológico oclusivo de pele de *Rana catesbeiana* em feridas cutâneas experimentais no 22º dia pós-operatório. Observa-se acentuada reação inflamatória (A) e fibroplasia (*), moderada neovascularização (cabeça de seta) e reepitelização (seta). H&E. Obj. 37
- 4x.....
- Figura 23.** Microfotografia (Pele). Corte histológico de fragmento de pele de cão submetida a tratamento com solução de NaCl a 0,9% em feridas cutâneas experimentais no 22º dia pós-operatório. Observa-se moderada reação inflamatória (A) e fibroplasia (*), acentuada neovascularização (cabeça de seta) e moderada reepitelização (seta). H&E. Obj. 37
- 4x.....

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Variação (média±desvio padrão) das frequências cardíaca (FC), respiratória (FR), temperatura corpórea (TC) dos cães submetidos a tratamento com curativo biológico de pele de rã e solução de NaCl a 0,9% em feridas cutâneas experimentais..... 30
- Tabela 2.** Valores médios e desvios padrão da avaliação macroscópica de feridas cutâneas tratadas com o curativo biológico de pele de rã (grupo tratamento – GT) ou com solução de NaCl a 0,9% (grupo controle – GC) em cães, segundo a escala: (0) ausência, (1) pequena quantidade, (2) quantidade moderada e (3) grande quantidade..... 32
- Tabela 3.** Valores médios e desvios padrão da avaliação histológica[#] de biópsias cutâneas realizadas em feridas de cães tratadas com o curativo biológico de pele de rã (grupo tratamento – GT) ou com solução de NaCl a 0,9% (grupo controle – GC) aos 8, 14 e 22 dias de pós-operatório (DPO)..... 36
- Tabela 4.** Valores individuais, médios e desvios padrão da área de feridas cutâneas tratadas com o curativo biológico de pele de rã (grupo tratamento – GT) ou com solução de NaCl a 0,9% (grupo controle – GC) em cães, segundo o dia de pós-operatório (DPO)..... 39
- Tabela 5.** Valores individuais, médios e desvios padrão do percentual de contração de feridas cutâneas tratadas com o curativo biológico de pele de rã (grupo tratamento – GT) ou com solução de NaCl a 0,9% (grupo controle – GC) em cães, segundo o dia de pós-operatório (DPO)..... 40

RESUMO

LEITE, ANGÉLICA RAMALHO DE ARAÚJO. Avaliação da pele de rã (*Rana catesbeiana*) como curativo biológico oclusivo no tratamento de feridas cutâneas experimentais em cães (*Canis familiaris*). Patos, UFCG. 2010. 45p. (Trabalho de conclusão de curso em Medicina Veterinária).

Com a finalidade de investigar o efeito da pele de rã como curativo oclusivo em feridas cutâneas experimentais em cães, foram utilizados seis cães adultos, sem raça definida, de ambos os sexos. Em cada animal foram produzidas duas lesões. Na lesão da região toracodorsal direita, foi empregada pele de *Rana catesbeiana* preservada em solução de glicerina a 99,5% (Grupo Tratamento) e a lesão da região toracodorsal esquerda foi tratada com gaze umedecida em solução de NaCl 0,9% (Grupo Controle). A troca de curativos foi realizada a cada 48 horas, durante 22 dias, e as feridas avaliadas macroscopicamente a cada dois dias até o décimo dia pós-operatório, observando-se a evolução de cada ferida quanto à retração centrípeta (8º, 14º e 22º dias após a cirurgia). Para avaliação histológica do processo cicatricial, foram realizadas biopsias de ambas as feridas experimentais (grupos controle e tratamento) aos 8º, 14º, 22º dias após a cirurgia. *Swabs* foram colocados em contato com o leito da ferida, semeados em ágar sangue ovino 8% e em ágar EMB e as bactérias isoladas classificadas através das características morfotintoriais pela coloração de Gram. Houve poucas variações significativas no estudo comparativo entre tratamentos, concluindo-se que a pele de *Rana catesbeiana* quando usada como curativo biológico não estimula o processo cicatricial.

Palavras-chave: cicatrização, cirurgia, cão.

ABSTRACT

LEITE, ANGÉLICA RAMALHO DE ARAÚJO. Evaluation of skin of frog (*Rana catesbeiana*) as biological occlusive dressings in the treatment of experimental cutaneous wounds in dogs (*Canis familiaris*). Patos, UFCG. 2010. 45p. (Trabalho de conclusão de curso em Medicina Veterinária).

With the objective to investigate the effect of frog skin as occlusive dressing in experimental skin wounds in dogs, was used six adult dogs, mixed breed of both sexes. In each animal, two lesions were produced. Lesion in the right thoracodorsal region, was used *Rana catesbeiana* skin preserved in glycerol solution 99,5% (Treatment Group) and the injury of left thoracodorsal region was treated with gauze moist with 0.9% NaCl solution (Control Group). The dressing was done every 48 hours for 22 days, and the wounds evaluated macroscopically every two days until the tenth postoperative day, observing the evolution of each wound about the retraction centripetal (8, 14 and 22 days after surgery). For histological evaluation of healing process, biopsies were taken from both experimental wounds (control and treatment groups) at 8, 14, 22 days after surgery. Swabs were put in contact with the wound, sown in 8% sheep blood agar and EMB agar and bacteria isolated through characteristics morphotintorial classified by Gram color. There were few significant differences between the groups of treatments in the study, concluding that the skin of *Rana catesbeiana* when used as a biological dressing doesn't stimulate the healing process.

Keywords: healing, surgery, dog.

1. INTRODUÇÃO

Materiais biológicos existentes na natureza podem ser utilizados como forma alternativa para o tratamento local de feridas cutâneas. Sua procura tem aumentado a cada dia devido ao baixo custo, fácil aplicação e disponibilidade no mercado.

O emprego de membranas biológicas como curativo oclusivo tem sido recomendado devido ao fato de estas membranas possuírem propriedades antibacterianas e analgésicas, prevenirem a infecção por propiciarem uma barreira à invasão de microorganismos, contribuir para o processo de cicatrização protegendo mecanicamente a ferida, acelerando a formação de tecido de granulação e estimulando a neovascularização local.

Variados tecidos biológicos de origem animal têm sido empregados como curativo biológico oclusivo em feridas cutâneas, a exemplo da membrana amniótica e pericárdio canino, membrana amniótica de coelho, pericárdio bovino e equino, peritônio bovino, pele de cão, pele de porco e pele de anfíbio.

Curativos biológicos oclusivos constituídos por pele de *Rana catesbeiana* tem sido utilizados em feridas cutâneas de cães e ratos obtendo-se resultados quase sempre satisfatórios.

Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito da pele de *Rana catesbeiana* usada como curativo biológico oclusivo, sobre a cicatrização de feridas cutâneas produzidas em cães, avaliando-se alterações macroscópicas e microscópicas decorrente da interação entre peles de rã dessa espécie e a superfície cruenta das feridas caninas, analisar a área de contração da ferida através de cálculos de morfometria e classificar bactérias isoladas colhidas nos leitos das feridas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Conceito de feridas

Um ferimento, ou ferida, é uma lesão corporal causada por meios físicos que pode ser proposital, como no caso de uma ferida cirúrgica, ou acidental, como nos casos de traumatismo, que resulta na interrupção da continuidade da estrutura corporal (PROBST, 1998; HOSGOOD, 2007).

A tolerância à lesão varia com o tipo de tecido. Em cães e gatos, a pele tem excelente tolerância às lesões, devido à sua vascularização e elasticidade (WALDRON; TREVOR, 1998).

De acordo com Waldron e Trevor (1998) não existe uma classificação abrangente para os ferimentos, podendo ser descritos de forma simples como abertos e fechados, onde as feridas abertas são as que ocorrem perdas de pele, podendo ser por abrasão, avulsão, incisão, laceração ou ferimento por punção; e as fechadas são as lesões por esmagamento ou contusões.

As feridas abertas, com ou sem perda tecidual, apresentam problemas clínicos inteiramente diferentes das feridas incisadas e suturadas (MADDEN; AREM, 1991). Nessas, a cicatrização se dá por segunda intenção e há dificuldade no que diz respeito à aproximação das suas bordas e, mais frequentemente, à infecção local (BARBOSA; SOUZA, 1986).

2.2 Conceito de cicatrização

A cicatrização do ferimento constitui mecanismos do hospedeiro envolvidos no processo de restauração da continuidade dos tecidos (PROBST, 1998; HOSGOOD, 2007).

Segundo Pope (1996) os tecidos lesionados curam-se por regeneração, reparo, ou a combinação destas duas modalidades. Na regeneração ocorre reposição do tecido lesionado ou perdido por tecido estrutural e funcionalmente similar, ocorrendo em tecidos com grande potencial mitótico. No reparo ou cicatrização ocorre formação de tecido cicatricial não funcional (CARVALHO, 2002; MEDEIROS et al., 2005). Na pele os defeitos dermoepidérmicos curam-se por regeneração do epitélio (epiderme), enquanto que a

derme, glândulas e folículos pilosos nela contidos são substituídos por tecido cicatricial (POPE, 1996).

Os animais das ordens superiores possuem capacidades regenerativas limitadas (PROBST, 1998), portanto a cicatrização de feridas em mamíferos trata-se de um processo de reparo e inclui mecanismos como a angiogênese, a deposição de tecido conjuntivo, a epitelização e o remodelamento e contração da ferida (HOSGOOD, 2007).

Atualmente são descritas três formas de cicatrização: por primeira intenção, por segunda intenção e por terceira intenção. A cicatrização de primeira intenção se dá quando não há perda de tecido e as extremidades da pele ficam justapostas uma à outra. A de segunda intenção ocorre em feridas onde houve perda de tecido e as extremidades da pele ficam distantes umas das outras, sendo necessária formação de tecido de granulação até que a contração e epitelização aconteçam. Na de terceira intenção a ferida é deixada aberta por um determinado período, funcionando como cicatrização por segunda intenção, sendo suturada posteriormente, como cicatrização por primeira intenção. Este procedimento é empregado geralmente nas feridas cirúrgicas com infecção (DOUGHTY, 1992; HARARI, 1999).

2.3 Processo de reparo das feridas

Todas as feridas ou incisões da pele, sejam elas ocluídas com suturas ou tratadas como feridas abertas, passam pela mesma série de eventos químicos e celulares no processo de reparo (POPE, 1996), estes processos não são sequenciais nem estáticos, mas ocorrem continuamente em um estado de interação (HOSGOOD, 2007).

2.3.1 Formação e resolução do coágulo

Logo após uma lesão, a hemorragia dos vasos sanguíneos e linfáticos danificados preenche a ferida e limpa sua superfície (HOSGOOD, 2007) e a resposta do organismo frente a este evento é a vasoconstrição dos pequenos vasos da área atingida e oclusão vascular no ponto do traumatismo para controlar a hemorragia, com duração de cinco a dez minutos. Após esse período, ocorre vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular de pequenas vênulas e, por diapedese, células e líquido intravascular passam através das

paredes dos vasos para o espaço extravascular (BOOTHE, BOOTHE JR, 1996; PROBST, 1998; HOSGOOD, 2007).

As plaquetas, em combinação com o sangue e o líquido que passou para o espaço extracelular, formam um coágulo sanguíneo o qual seca e forma uma escara ou escama, que protege a ferida, impede mais hemorragia e permite que o processo de reparo continue sob sua superfície (HOSGOOD, 2007). Esta escara propicia uma cobertura primária composta por fibrina que auxilia na aproximação das bordas lesadas e fornece um ambiente para que as plaquetas secretem fatores de crescimento, citocinas e elementos da matriz extracelular (MANDELBAUM et al., 2003).

A fase coagulativa é dependente de atividade plaquetária e da cascata de coagulação. Ocorre uma complexa liberação de produtos como substâncias vasoativas, proteínas adesivas, fatores de crescimento e proteases. A formação de coágulo serve não apenas para coaptar as bordas das feridas, mas também para cruzar a fibronectina, oferecendo uma matriz provisória para que fibroblastos, células endoteliais e queratinócitos possam ingressar na ferida (MANDELBAUM et al., 2003).

2.3.2 Processo inflamatório

A resposta tecidual às lesões, sejam induzidas por traumatismo ou por cirurgia, envolve inflamação. Este processo proporciona o meio pelo qual o tecido lesionado se livra dos restos de material estranho em preparação para a reconstrução e cicatrização (BOOTHE; BOOTHE JR, 1996) e se traduz por migração celular intensificada através das vênulas e extravasamento de moléculas séricas, anticorpos, complemento e proteínas pelos capilares. Estes eventos são controlados pelo aumento do suprimento sanguíneo, pela vasodilatação e pelo aumento da permeabilidade capilar (CARVALHO, 2002).

Os leucócitos presentes nos vasos locais aderem ao endotélio após a lesão e, cerca de 30 a 60 minutos depois, todo o endotélio das vênulas apresenta-se coberto com leucócitos aderentes (PROBST, 1998).

Inicialmente, a célula predominante é o leucócito polimorfonuclear (PMN), ou seja, os neutrófilos, que chegam em grande número ao local lesionado no momento da injúria tissular, através de quimiotaxia por mediadores liberados por plaquetas, células pertencentes ao sistema imune, microrganismos ou ainda devido à ativação do complemento (PARK; BARBUL, 2004), permanecendo por um período de 24 a 48 horas,

se degenerando após 72 horas, tendo como papel principal a destruição de bactérias através da fagocitose (PROBST, 1998; ADZICK, 1999; SINGER; CLARK, 1999; MANDELBAUM et al., 2003). Além de sua função fagocitária, os neutrófilos possuem ação pró-inflamatória pela liberação de citocinas que ativam fibroblastos e queratinócitos. Caso a ferida não esteja severamente infectada, em poucos dias o número e neutrófilos diminui devido à fagocitose por macrófagos (WERNER; GROSE, 2003).

As segundas células a chegarem ao local da lesão são os monócitos, que marginalizam dos capilares e vênulas, migram através do endotélio e ao ingressar na ferida amadurecem e transformam-se em macrófagos. Os macrófagos são parte integrante do reparo da ferida, predominando entre o terceiro e quinto dia após a lesão, tendo como função auxiliar os neutrófilos na fagocitose de bactérias e restos celulares, sendo importantes para o debridamento do local da ferida através da eliminação de tecido necrosado, remoção de material estranho e atração de fibroblastos, influenciando para que estes passem por processo de maturação e de síntese do colágeno (PROBST, 1998; HOSGOOD, 2007).

Os linfócitos também são encontrados nos locais de inflamação e infiltram-se no foco da lesão mais tardiamente, por volta do quinto dia, e estão relacionados à presença de bactérias, sendo pouco importantes na inflamação provocada por traumas, podendo ser indicadores de resposta imunológica a material estranho (PROBST, 1998; ADZICK, 1999; SINGER; CLARK, 1999; MANDELBAUM et al., 2003).

2.3.3 Processo de reparação

O reparo tem início no terceiro ou quarto dia após a lesão, podendo durar por uma a três semanas (HARARI, 1999), tendo continuidade à medida que vão sendo removidos o tecido necrosado, coágulos sanguíneos, e outros restos teciduais (PROBST, 1998).

De acordo com Hosgood (2007) durante o reparo, ocorrem mecanismos proliferativos, são eles: angiogênese, fibroplasia e epitelização.

2.3.3.1 Angiogênese

Nesta fase do reparo é observado crescimento de novos vasos sanguíneos capilares a partir dos vasos preexistentes nas áreas que antes não eram ocupadas por tecido vascular,

favorecendo a cicatrização por aumentar o aporte de nutrientes e oxigênio aos fibroblastos e macrófagos, além de remover os restos metabólicos, reduzindo o tempo de retração da ferida (STASHAK, 1994; POPE, 1996; HOSGOOD, 2007).

À medida que o reparo da ferida prossegue e as fibras colágenas se depositam, os novos vasos sanguíneos se desintegram, com a cor da ferida tornando-se correspondentemente mais pálida (ALISON, 1992; HOSGOOD, 2007).

2.3.3.2 Fibroplasia

Esta fase caracteriza-se pela síntese de fibroblastos, cuja origem na ferida ainda é incerta (HOSGOOD, 2007). De acordo com Probst (1998) e Harari (1999) os fibroblastos se originam de células mesenquimais indiferenciadas do tecido conjuntivo circunvizinho, migrando para o ferimento ao longo de fibras de fibrina coagulada e dos capilares invasores, tendo como principal função a síntese de matriz extracelular provisória, que é substituída gradualmente por uma matriz extracelular colagenosa.

A combinação de novos capilares, fibroblastos e tecido conjuntivo fibroso forma o tecido de granulação característico que preenche a ferida, recebendo esta denominação devido à sua aparência granular pela presença de inúmeros capilares (WERNER; GROSE, 2003). A maior taxa de acúmulo de tecido conjuntivo ocorre no local da ferida sete a quatorze dias após a lesão. Após este período os fibroblastos param de produzir colágeno e há regressão do conteúdo capilar do tecido de granulação (HOSGOOD, 2007).

Essa fase se prolonga por duas a quatro semanas, dependendo do tipo de ferida (PROBST, 1998).

2.3.3.3 Epitelização

Tem início com a mobilização e a migração de células epiteliais (queratinócitos) nas margens da ferida, progredindo centripetamente para o interior e através da ferida, sendo esta movimentação interrompida quando uma destas células entra em contato com outra (inibição por contato). Logo após, ocorre proliferação das células epidérmicas, aumentando a atividade mitótica. Este fenômeno é observado a partir de um a dois dias após a lesão (POPE, 1996; PROBST, 1998; CARVALHO, 2002; HOSGOOD, 2007).

2.3.3.4 Contração

É a diminuição das dimensões de uma ferida aberta, caracterizando-se pelo movimento centrípeto de toda a espessura da pele circunjacente (POPE, 1996; PROBST, 1998).

Geralmente não se evidencia contração visível da ferida até cinco a nove dias após a lesão. Apenas durante a segunda semana de reparo, quando os fibroblastos assumem fenótipo de miofibroblastos, é que corresponde a contração da ferida. À medida que o reparo progride, o número de miofibroblastos da ferida diminui, correspondendo à diminuição na velocidade de contração da ferida, até que praticamente não haja mais deposição de miofibroblastos e a contração da ferida cesse (HOSGOOD, 2007).

2.3.4 Processo de remodelagem

Nesta fase ocorre a transição do tecido de granulação para cicatriz, necessitando da remodelagem ou maturação do conteúdo de tecido conjuntivo da ferida (HOSGOOD, 2007).

Desenvolve-se três semanas após a lesão e pode durar de meses a anos, caracterizando-se pelo conteúdo estável de colágeno, agregando uma maior resistência à área lesionada, porém uma cicatriz jamais será tão forte como o tecido por ela substituído (PROBST, 1998; HARARI, 1999; HOSGOOD, 2007).

2.4 Curativo biológico

A aceleração do processo de cicatrização por meio de curativos biológicos oclusivos tem sido admitida, devido a esses curativos possuírem ação antibacteriana, estimularem os processos de granulação, contração e epitelização, formarem barreira física contra invasão bacteriana e propiciarem retenção do exsudato, propriedades estas consideradas benéficas (LIPTAK, 1997; OLIVEIRA; ALVARENGA, 1998).

Diversos tecidos biológicos de origem animal têm sido testados como curativos biológicos oclusivos em feridas cutâneas, como membrana amniótica e pericárdio canino (ACETO et al., 2007), membrana amniótica de coelhos (DUARTE, 2007), pele de cão (SILVA; JUNIOR, 1988), pele de porco (RAMSEY et al., 1995), pericárdio bovino

(DAHM et al., 1990; CHEM et al., 1992) e equino (BELLENZANI et al., 1998), peritônio bovino (BUSNARDO et al., 2009) e pele de anfíbio (FERREIRA et al., 2001a, 2001b; FALCÃO et al., 2001, 2002; RODRIGUES; MEDEIROS, 1998; SAI et al., 1995; SILVA, 2006).

Dentre os curativos biológicos oclusivos estudados tem-se voltado uma atenção especial para os constituídos por pele de *Rana catesbeiana*, conhecida popularmente como rã-touro, os quais foram utilizados em feridas cutâneas de cães (FALCÃO et al., 2001, 2002) e ratos (RODRIGUES; MEDEIROS, 1998; FERREIRA et al., 2001a, 2001b; SILVA, 2006).

Falcão et al. (2001, 2002) investigaram o efeito da pele de rã como curativo biológico oclusivo em feridas cutâneas de cães, e não notaram benefícios sobre a cicatrização, atribuindo esta ausência de estímulo cicatricial à destruição da pele de rã, sugestiva de rejeição.

Ferreira et al. (2001a) utilizaram ratos da linhagem Wistar para avaliar a evolução das feridas cutâneas sob efeito da aplicação tópica de pele de *Rana catesbeiana* e os resultados mostraram que o tempo de cicatrização foi significativamente menor e os dados histopatológicos foram mais favoráveis no grupo experimental, quando comparados ao ferimento do grupo controle, onde os animais foram submetidos ao tratamento tópico com solução salina.

Ferreira et al. (2001b) realizaram um estudo toxicológico da pele de *Rana catesbeiana* utilizando ratos da linhagem Wistar e constataram que os níveis séricos de creatinina foram significativamente mais baixos nos animais do grupo tratamento, concluindo-se que a pele de rã como um curativo biológico para feridas de pele de ratos não exerceu efeitos tóxicos para fígado e rim.

Silva (2006) utilizou em seu experimento ratos da linhagem Wistar, nos quais foram induzidas feridas cutâneas que foram cobertas por pele de rã tratada e não tratada com raios-gama. O autor concluiu que não houve benefícios sobre o processo cicatricial de feridas de pele devido a um processo de rejeição em fase aguda.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados seis cães adultos, sem raça definida, dois machos e quatro fêmeas, com peso médio de $15,9 \pm 4,6$ kg. Os animais foram mantidos durante todo o experimento nos canis do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, recebendo água e ração comercial para cães à vontade. Previamente ao início do experimento, foi realizado um período de adaptação de oito dias, onde foi avaliado o estado de higidez de cada animal, com base no exame clínico e em exames laboratoriais (hemograma, dosagens de proteínas totais (PT), alanina aminotransferase (ALT), glicose, uréia e creatinina), os quais não apresentaram nenhuma alteração significativa. Todos os animais foram desverminados¹.

3.2 Obtenção, acondicionamento e preservação das peles de rã

As peles de rã foram colhidas durante abate no ranário do Laboratório de Ranicultura e Produtos da Aquicultura do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias (CCHSA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), campus de Bananeiras. Em seguida procedeu-se a limpeza da pele, observando-se os padrões de assepsia, através de lavagem exaustiva com solução fisiológica e retirada de restos de tecidos não pertencentes à camada cutânea com gaze. Retalhos de pele dorsal foram acondicionados em recipientes de vidro esterilizados, imersos numa solução de glicerina a 99,5%² e estocados à temperatura ambiente por, no mínimo, 30 dias (Figura 1). Previamente à utilização da pele, foi realizada a hidratação da mesma por meio da sua imersão em solução de NaCl a 0,9% estéril, durante 30 minutos (Figura 2).

¹ Canex composto – Vetbrands Saúde Animal

² Glicerina P.A. – Labimpex Indústria e Comércio de Produtos para Laboratórios Ltda.



Figura 1: Retalhos de pele dorsal de *Rana catesbeiana* conservados em glicerina a 99,5%.



Figura 2: Hidratação da pele por imersão em solução de NaCl a 0,9%.

3.3 Modelo experimental e grupos estudados

Em cada animal foram produzidas duas lesões, sendo uma de cada lado da região toracodorsal, retirando-se um fragmento de 4 cm² (2 x 2 cm) de pele total, distando 8 cm da coluna vertebral. Na lesão da região toracodorsal direita foi empregada pele de *Rana catesbeiana* (Figura 3), de tamanho tal a ultrapassar as margens da lesão em aproximadamente 1 cm (Grupo Tratamento - GT). A lesão da região toracodorsal esquerda foi tratada com gaze umedecida (Figura 4) em solução de NaCl a 0,9% (Grupo Controle - GC).

Os curativos foram recobertos por gaze seca esterilizada, fixadas com esparadrapo, envoltos por faixa de crepom nº 10 (Figura 5) e contidos com vestimenta tubular de malha de algodão (Figura 6). Em todos os animais empregaram-se colares elizabetanos.

Nos dois grupos a troca de curativos foi realizada a cada 48 horas, durante 22 dias.



Figura 3: Colocação de retalho de pele de *Rana catesbeiana* sob lesão cirúrgica (Grupo Tratamento).



Figura 4: Colocação de gaze umedecida com solução de NaCl a 0,9% sob lesão cirúrgica (Grupo Controle).



Figura 5: Animal envolto por faixa de crepom nº 10 após troca de curativos.



Figura 6: Animal contido em vestimenta tubular de malha de algodão.

3.4 Técnica operatória

Para o procedimento experimental, os animais foram submetidos a um jejum alimentar por 12 horas, pesados e, após a mensuração dos parâmetros basais a serem avaliados, foram medicados com acepromazina³, na dose de 0,1 mg/kg, e diazepam⁴, na dose de 0,3 mg/kg (associados na mesma seringa), por via intravenosa (IV), sendo realizado em seguida tricotomia de cerca de 15 x 15 centímetros, no terço médio de cada hemitórax, iniciando-se a cerca de 5 centímetros ventralmente às apófises dorsais das vértebras torácicas.

³ Acepran 1% - Univet S.A. Ind. Veterinária

⁴ Compaz – Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda.

Procedeu-se a realização da anestesia local infiltrativa subcutânea quadricular, administrando-se oito mL de lidocaína⁵ a 1% sem vasoconstrictor (4 mL de lidocaína 2% diluída com igual volume de solução de NaCl a 0,9%) em cada local onde seriam realizadas as lesões.

Após a anestesia, o animal foi contido em decúbito lateral, sobre a mesa cirúrgica.

A antisepsia do campo operatório foi realizada com digluconato de clorexidina a 0,5%⁶. Após a colocação do pano de campo, o procedimento cirúrgico foi iniciado com a demarcação do tamanho da ferida, utilizando moldes quadrados de película radiográfica, previamente esterilizada, medindo 2 x 2 centímetros de lados, distando 8 cm da coluna vertebral (Figura 7). Em seguida realizou-se a exérese da pele, através de incisão (Figura 8) e dissecação do tecido subcutâneo, retirando-se o fragmento cutâneo (Figura 9) e expondo-se a fáscia muscular (Figura 10). A hemostasia foi realizada, quando necessário, através de tamponamento compressivo sobre os vasos capilares utilizando gazes esterilizadas.

Os animais foram tratados com analgésico (flunixin meglumine⁷, na dose de 1,1 mg/kg, durante três dias) e antibiótico (enrofloxacina⁸, na dose de 10 mg/kg, a cada 24 horas, durante sete dias), ambos administrados pela via intramuscular.

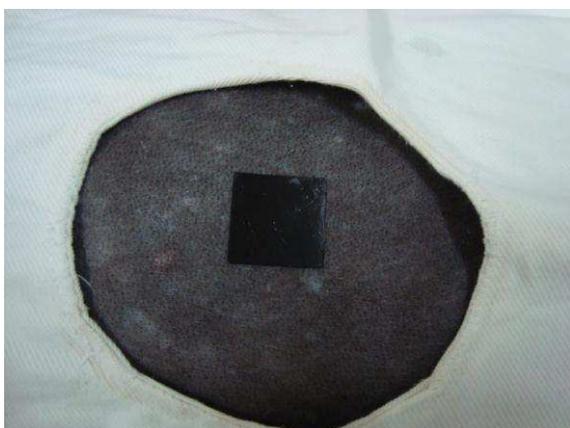


Figura 7: Demarcação do tamanho da ferida através de molde quadrado de película radiográfica.



Figura 8: Incisão para retirada do flap cutâneo.

⁵ Anestésico Bravet – Laboratórios Bravet Ltda.

⁶ Riohex 0,5% - Rio Química Indústria Farmacêutica Ltda.

⁷ Banamine 5% - Schering-Plough Brasil

⁸ Mogiflox – Mogivet Farmacêutica Ltda.



Figura 9: Retirada do fragmento cutâneo.



Figura 10: Ferida cutânea criada após a remoção do fragmento cutâneo.

3.5 Parâmetros avaliados

3.5.1 Pós-operatório mediato e imediato

Diariamente, até o 10º dia pós-operatório, sempre no mesmo horário (início do dia), foram mensurados os parâmetros fisiológicos (frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura corpórea), a fim de se observar alguma alteração ante o uso da pele de *Rana catesbeiana* como curativo biológico.

A frequência cardíaca foi obtida pelo número de batimentos cardíacos por minuto (bpm) através do método auscultatório com auxílio de estetoscópio colocado na parede torácica esquerda na região ventral, entre a 3ª e 5ª costelas.

A frequência respiratória foi obtida pelo número de movimentos respiratórios por minuto (rpm) através do método auscultatório com auxílio de estetoscópio colocado na parede torácica dorsalmente entre a entrada do tórax e a 7ª costela ao longo da coluna vertebral e ventralmente ao longo do esterno até aproximadamente o 9º espaço intercostal.

A temperatura corpórea foi mensurada através de termômetro digital medida em graus Celsius (°C), colocando-o no reto do animal.

3.5.2 Avaliação macroscópica

As feridas foram avaliadas a cada dois dias, até o 10º dia (D2, D4, D6, D8 e D10), observando-se hiperemia, edema, secreção e sangramento durante a troca do curativo, além de resistência à retirada e presença de tecido de granulação e de tecido cicatricial. Estes

parâmetros foram avaliados seguindo-se o escore: 0 - ausência; 1- pequena quantidade; 2 - quantidade moderada e 3 - grande quantidade.

Também foram avaliadas a integridade e deslocamento do curativo de pele de rã a cada 48 horas, durante a troca do curativo.

3.5.3 Avaliação microscópica

Para avaliação histológica do processo cicatricial, foram realizadas biopsias em todas as feridas (grupos controle e tratamento), no 8º, 14º e 22º dias de pós-operatórios, alternando-se a cada biopsia o local da punção (limites dorsal, cranial e ventral da ferida), respectivamente.

Previamente à realização da biópsia foi feito bloqueio anestésico local com 4 mL de lidocaína 1% (2 mL de lidocaína 2% sem vasoconstrictor⁴ diluída com igual volume de solução de NaCl a 0,9%). Realizou-se tricotomia ao redor e sobre a ferida cirúrgica seguida por limpeza da área com solução de NaCl a 0,9%. Utilizou-se um *punch* de seis milímetros de diâmetro que foi aplicado na área de transição entre a pele sadia e o leito da ferida (Figura 11). Os fragmentos de pele foram conservados em formol a 10%, fixados, clivados, diafanizados, embebidos em parafina e cortados em micrótomo, na espessura de quatro ou cinco micras. A seguir, as lâminas montadas foram coradas pela técnica de hematoxilina e eosina e analisadas em microscópio óptico. Em cada fragmento avaliaram-se as características histológicas do processo inflamatório nas feridas semiquantitativamente, por escores, verificando a intensidade da reação inflamatória, tecido de granulação (fibroplasia), neovascularização, quantidade de fibras colágenas e grau de reepitelização, adotando-se o seguinte critério: (0) = ausência; (1) = pequena quantidade; (2) = quantidade moderada; (3) = grande quantidade.

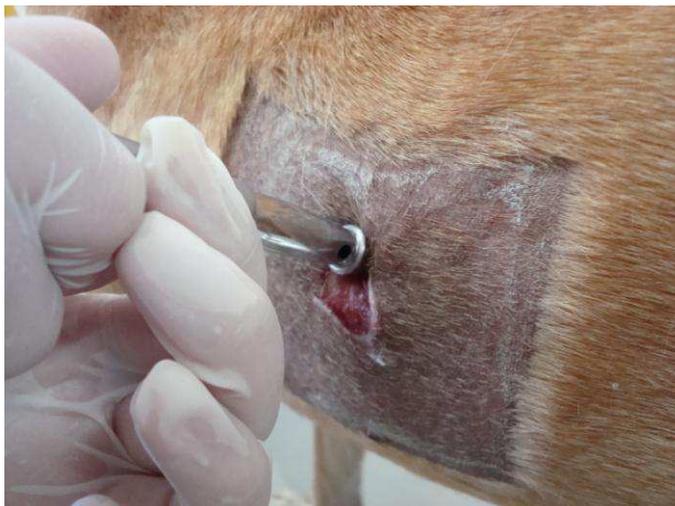


Figura 11: Biópsia utilizando-se *punch*.

3.5.4 Morfometria

A medida da área da lesão foi obtida a partir da mensuração da ferida com paquímetro (Figura 12) antes da realização das biópsias, conforme método preconizado por Prata et al. (1988). A partir da mensuração do maior comprimento e da maior largura com o paquímetro, a área atual da ferida foi estabelecida a partir da fórmula: $A_f = C$ (comprimento) \times L (largura). A área de contração da ferida (C_o) foi obtida subtraindo-se a área da ferida no dia atual (A_f) da área previamente mensurada (A_i) ($C_o = A_i - A_f$).

Após a determinação da área foi calculado o percentual de contração (%C) das feridas, através da fórmula descrita por Coelho et al. (1999): $\%C = ((A_i - A_f) / (A_i)) \times 100$, onde A_i é a área no período inicial (pós-operatório imediato) e A_f é a área mensurada no dia pós-operatório correspondente.

Todas as mensurações de morfometria foram realizadas no 8º (D8), 14º (D14) e 22º (D22) dias pós-operatórios.



Figura 12: Mensuração da área de ferida cutânea no 8º dia pós-operatório.

3.5.5 Avaliação bacteriológica

Foram realizadas coletas por meio de *swabs* estéreis, colocados em contato com o leito da ferida durante a troca do curativo (Figura 13), nos momentos já citados para a avaliação bacteriológica. Em seguida os *swabs* foram colocados em meio de transporte (Stuart⁹) e logo após semeados em ágar sangue ovino¹⁰ 8% e em ágar EMB¹¹ e incubados em aerobiose a 37° C, sendo realizadas leituras 24 e 48 horas após. Foram coletados também fragmentos de pele de *Rana catesbeiana* antes destes serem utilizados no leito da ferida, onde os mesmos foram macerados com auxílio de gral e pistilo, sendo posteriormente semeados em ágar sangue ovino a 8% e incubados para leitura conforme descrito anteriormente, de forma a avaliar possível contaminação das peles conservadas em solução de glicerina a 99,5%.

As bactérias isoladas foram classificadas preliminarmente através das características morfofotintoriais pela coloração de Gram.

⁹ Meio de transporte Stuart - Himedia

¹⁰ Agar Columbia Sangue Base - Himedia

¹¹ Agar Eosina Azul de Metileno Levine (BEM) - Himedia



Figura 13: Coleta de material para microbiologia por meio de *swab* em contato com o leito da ferida.

3.6 Análise estatística

Foi realizada em microcomputador, empregando o programa Graphpad Instat. Para avaliação da área da ferida foi empregado o teste *t* de Student para amostras independentes, com correção de Welch. Os demais dados da avaliação clínica e os da avaliação microscópica foram avaliados pelo teste de Mann-Whitney.

Todos os testes foram aplicados ao nível de 5% de significância.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Pós-operatório mediato e imediato

Entre os parâmetros fisiológicos mensurados até o 10º dia pós-operatório (Tabela 1), apenas a frequência respiratória apresentou variação, embora sem significância estatística, estando acima do limite para a espécie, exceto no 7º dia pós-operatório, onde se encontrava no limite máximo (FEITOSA, 2004). Um provável motivo que pode ter levado a esse aumento é que alguns animais se encontravam excitados no momento da mensuração, pois ocorria no período que antecedia o passeio diário a que eram submetidos.

Tabela1 - Variação (média±desvio padrão) das frequências cardíaca (FC), respiratória (FR) e da temperatura corpórea (TC) dos cães submetidos a tratamento com curativo biológico de pele de rã e solução de NaCl a 0,9% em feridas cutâneas experimentais.

Parâmetro	Antes da cirurgia	Dias após a cirurgia									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
FC [#]	94,7	104,3	100,3	100,7	82	92	84,7	90	102,3	109,7	117
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	18,3	19,6	36,1	22,6	19,5	26,5	31,9	25,6	27,1	34	36,4
FR ^{##}	46	43	47	42,3	46,3	43	62	36	55	42	47
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	20,3	38,8	36,3	14,7	31,6	27,8	47,3	14	39,8	25,2	16,9
TC [§]	38,7	38,1	38	38,2	38,4	38,1	38,4	38	38	38,5	38,4
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,5	0,3	0,4	0,3	0,2	0,2	0,3	0,4	0,3	0,2	0,2

[#]- expresso em bpm (batimentos por minuto)

^{##}- expresso em mpm (movimentos por minuto)

[§]- expresso em °C (graus centígrados)

A avaliação dos parâmetros fisiológicos é de fundamental importância quando se deseja experimentar novas técnicas, principalmente quando relacionadas a procedimentos cirúrgicos, onde alterações nos mesmos podem ser indicativas de reações adversas referentes aos materiais, produtos ou técnicas testadas.

4.2 Avaliação macroscópica

O exame macroscópico da ferida permitiu monitorar a evolução da cicatrização e a eficiência do tratamento utilizado, estando de acordo com as informações de Coelho et al. (1999), Lemos et al. (2008) e Menezes et al. (2008), onde pôde-se avaliar o sangramento, hiperemia, secreção, resistência à retirada do curativo, edema, tecido cicatricial e tecido de granulação.

Não foi detectada nenhuma alteração significativa quanto ao sangramento, entre os grupos e entre os momentos experimentais (Tabela 2). Embora significância estatística não tenha sido detectada entre os tratamentos observou-se que, à troca do curativo, as feridas do GC tendiam a apresentar mais hemorragia que as do GT. Isto provavelmente deveu-se à maior aderência das gazes ao leito da ferida, no GC, as quais ao serem removidas causavam ruptura dos capilares, com conseqüente hemorragia.

No D2 a hiperemia observada no GT foi significativamente mais intenso que no GC, não havendo diferenças entre os grupos nos demais dias pós-operatórios (DPO) (Figuras 14 e 15). No GC, os valores observados não variaram entre o D2 e o D10, enquanto no GT ocorreu uma redução significativa neste parâmetro a partir do D8, quando comparados ao D2 (Tabela 2), correspondendo à fase de desaparecimento dos capilares sanguíneos com a cor da ferida se tornando cada vez mais pálida após uma semana.



Figura 14: Aspecto de ferida cirúrgica submetida ao tratamento com pele de *Rana catesbeiana* no 2º dia pós-operatório. Animal 4.



Figura 15: Aspecto de ferida cirúrgica submetida ao tratamento com solução de NaCl a 0,9% no 2º dia pós-operatório. Animal 4.

Tabela 2 - Valores médios e desvios padrão da avaliação macroscópica de feridas cutâneas tratadas com o curativo biológico de pele de rã (grupo tratamento – GT) ou com solução de NaCl a 0,9% (grupo controle – GC) em cães, segundo a escala: (0) ausência, (1) pequena quantidade, (2) quantidade moderada e (3) grande quantidade.

Variáveis avaliadas	Grupo	Tempo pós-operatório (dias)				
		2	4	6	8	10
Sangramento	GT	2,2±1,2 ^a	1±1,3 ^a	1±0,9 ^a	0,7±0,8 ^a	0,7±1 ^a
	GC	0,8±1,2 ^a	0,7±0,5 ^a	1,7±1 ^a	0,7±0,8 ^a	0,7±0,8 ^a
Hiperemia	GT	2,8±0,4* ^a	2±1,3 ^{ab}	2,2±1,2 ^{ab}	1,5±1,4 ^b	1,5±1,4 ^b
	GC	1,5±0,8 ^a	1,3±0,8 ^a	2±1,1 ^a	1,2±1 ^a	1,3±1 ^a
Secreção	GT	2,5±0,5* ^a	1,8±1,2 ^{ab}	1,8±1,5 ^{ab}	1,8±1,2 ^{ab}	1,5±0,5 ^b
	GC	0,7±0,8 ^a	0,8±0,4 ^a	1,7±1 ^a	1,2±0,8 ^a	1,5±0,5 ^a
Resistência à retirada do curativo	GT	0,7±0,8* ^a	0,7±0,8 ^a	0,5±0,5* ^a	0,2±0,4 ^a	0,2±0,4 ^a
	GC	2,2±0,8 ^a	1,7±0,8 ^{ab}	1,8±1 ^{ab}	0,5±0,8 ^b	0,5±0,8 ^b
Edema	GT	0,5±0,5 ^a	0,3±0,8 ^a	0,2±0,4 ^a	0±0 ^a	0±0 ^a
	GC	1±1,1 ^a	0,8±1 ^{ab}	0,5±0,5 ^{ab}	0,2±0,4 ^b	0±0 ^b
Tecido cicatricial	GT	0±0 ^a	0±0 ^a	0,7±0,8 ^{ab}	1,2±0,8 ^{bc}	2±0,6 ^c
	GC	0±0 ^a	0±0 ^a	0,5±0,5 ^{ab}	1±0 ^b	2±0,6 ^c
Tecido de granulação	GT	0±0 ^a	0±0 ^a	0±0 ^a	1,3±0,8 ^b	1,8±0,8 ^b
	GC	0±0 ^a	0±0 ^a	0±0 ^a	1,5±0,8 ^b	2±0,6 ^b

* – significativamente diferente do grupo controle, neste momento experimental.

a,b,c – num mesmo grupo, médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente entre si.

A maior intensidade da hiperemia notada no GT é benéfica, por se tratar de pré-requisito para o processo de reparação tecidual, correspondendo ao crescimento de novos vasos sanguíneos capilares a partir dos vasos preexistentes nas áreas que antes não eram ocupadas por tecido vascular, estimulando a migração e a proliferação de células endoteliais (HOSGOOD, 2007).

Quanto à secreção, foi notado que apenas no D2 ocorreu diferença significativa entre os grupos, tendo as feridas do GT apresentado em maior quantidade que as do GC (Figuras 14 e 15). Este padrão de secreção manteve-se, no GT, até o D8, e reduziu significativamente no D10, em relação ao D2. Resultados semelhantes foram descritos por

Aceto et al. (2007), que observaram menor quantidade de secreção em todas as feridas a partir do 10º dia após a aplicação das membranas. No GC, não houve variação estatística ao longo dos dias de avaliação pós-operatória (Tabela 2). A presença de maior quantidade de secreção no GT pode-se dever ao fato de a pele de rã funcionar como curativo oclusivo, diminuindo a incidência de infecção por propiciar uma barreira física impedindo a penetração e multiplicação de microorganismos provenientes do meio externo para o leito da ferida (ANDRADE et al., 1992), como também por tratar-se de um tecido estranho em contato direto com a ferida, levando a um acentuado grau de inflamação observada nesse grupo na avaliação microscópica (Tabela 3).

A resistência à retirada do curativo, no GC, diminuiu significativamente no D8 e no D10, quando comparados ao D2. Estes valores foram maiores que os observados no GT no D2 e no D6. No GT, este parâmetro não variou ao longo do período de avaliação pós-operatória (Tabela 2). A maior resistência à remoção do curativo, observada no GC, deveu-se ao ressecamento da gaze em contato com o leito da ferida, o que dificultou a remoção da mesma, no momento do curativo seguinte.

Não houve diferença significativa entre os grupos em relação à presença de edema, sendo que no GC os valores obtidos em D8 e D10 foram significativamente menores que no D2. No GT não ocorreu variação entre momentos quanto à área de edema, o qual estava ausente a partir do D8, enquanto no GC este só cedeu completamente no D10 (Tabela 2). Uma explicação para o fato de o edema apresentar-se com menor frequência no GT é que a remoção do curativo neste grupo foi facilitada, provavelmente pela maior quantidade de secreção propiciada pelo curativo testado, o que é desejável, já que segundo Andrade et al. (1992) a cada troca de curativo a aderência deste pode acarretar em lesão de células epiteliais recém-formadas.

A presença de tecido cicatricial foi observada a partir do D6 (Figuras 16 e 17) e a quantidade deste foi significativamente maior a partir do D8, quando comparada a D2 e D4, em ambos os grupos (Tabela 2). De acordo com Hosgood (2007), nas feridas cutâneas de superfície total a nova epiderme só é visível nas bordas das feridas por volta do 4º ao 5º dia após a lesão, o que confirma a presença deste apenas no D6, aumentando com o passar dos dias.



Figura 16: Aspecto de ferida cirúrgica submetida ao tratamento com pele de *Rana catesbeiana*, no 6º dia pós-operatório. Animal 5.



Figura 17: Aspecto de ferida cirúrgica submetida ao tratamento com solução de NaCl a 0,9%, no 6º dia pós-operatório. Animal 5.

O tecido de granulação passou a ser observado a partir do D8, sendo as médias de D8 e D10 equivalentes entre si e significativamente maiores que as de D2, D4 e D6, em ambos os grupos. Não foi notada diferença estatística entre os grupos em nenhum momento experimental. A presença crescente de tecido de granulação é interessante, devido ao fato deste possuir grande quantidade de fibroblastos que sintetizam o colágeno necessário para o processo de reepitelização.

As trocas de curativos, realizadas a cada 48 horas, permitiram o acompanhamento dos processos de cicatrização das feridas submetidas aos tratamentos, como também a observação quanto à integridade e ao deslocamento da pele de rã, que se manteve íntegra em todos os momentos de avaliação, diferindo dos resultados obtidos por Falcão et al. (2001, 2002) onde houve a ocorrência de destruição total ou parcial da pele de rã, presenciada desde o 3º até o 28º DPO, fato indicativo de rejeição. Quanto ao deslocamento do curativo, este foi notado em apenas um animal, o qual retirava com frequência o curativo de ambos os lados, fato este que contribuiu para um maior índice de crescimento bacteriano, nas amostras deste animal.

Não foram observadas dificuldades na aplicação nem na retirada do curativo de pele de rã, o que propiciou uma menor área de edema no GT.

4.3 Avaliação microscópica

A reação inflamatória ocorre com maior intensidade nos primeiros dias após a lesão estando presente acentuadamente até a primeira semana, tendendo a diminuir com o passar

dos dias (HOSGOOD, 2007), achado este observado no GC, onde ocorreu uma maior reação inflamatória do D8, quando comparado ao D22. Já no GT este parâmetro não variou ao longo do período de avaliação pós-operatória (Tabela 3, Figuras 14, 15, 16, 17, 18 e 19). Em todos os momentos de avaliação a reação inflamatória tendeu a ser mais intensa no GT, apresentando-se significativamente maior no D22 em relação ao GC, justificada pela presença de tecido estranho (pele de rã) em contato com a ferida.

Não houve diferença significativa entre os grupos em relação à neovascularização, observando-se porém, no GT, um aumento neste parâmetro no D22 comparado ao D8 (Tabela 3, Figuras 14, 15, 16, 17, 18 e 19), com presença de hemorragia durante a realização das biópsias passando de discreta para intensa ao longo dos dias de avaliação, decorrente da maior vascularização e presença de tecido de granulação, estando de acordo com a descrição de Menezes et al. (2008).

O tecido de granulação, representado pela fibroplasia associada à presença de capilares neoformados, foi observado a partir do D8, o que está de acordo com a descrição de Singer e Clark (1999), de que por volta do 4º dia de evolução da ferida inicia-se a proliferação de fibroblastos e o brotamento de novos capilares que constituem o tecido de granulação. Não houve diferença significativa estatisticamente nas comparações entre os grupos e entre os momentos (Tabela 3, Figuras 14, 15, 16, 17, 18 e 19), o que demonstra um processo contínuo e gradativo de formação do tecido de granulação, ocorrido em ambos os grupos.

Durante o processo de fibroplasia ocorre produção de colágeno pelos fibroblastos de forma crescente até a terceira semana após a lesão, o que pode ser evidenciado pela quantidade crescente de fibras colágenas com o passar dos dias, compatível com a presença de tecido de granulação bem vascularizado, conforme observado por Menezes et al. (2008). No presente experimento, não se detectou variação estatística significativa entre os tratamentos nem entre os momentos experimentais, tendo a quantidade de fibras colágenas passado paulatinamente de pequena a moderada com o passar do tempo (Tabela 3, Figuras 14, 15, 16, 17, 18 e 19).

Quanto ao grau de reepitelização das feridas não houve diferença significativa entre os grupos e entre os momentos (Tabela 3, Figuras 14, 15, 16, 17, 18 e 19), resultado similar ao descrito por Aceto et al. (2007). Não foi observada reepitelização completa no fim do período de avaliação, assim como os resultados obtidos por Coelho et al. (1999) e

Menezes et al. (2008). Isto pode se dever à pequena quantidade de fibras colágenas observadas no D22, em ambos os grupos, retardando a epitelização.

Tabela 3 – Valores médios e desvios padrão da avaliação histológica[#] de biópsias cutâneas realizadas em feridas de cães tratadas com o curativo biológico de pele de rã (grupo tratamento – GT) ou com solução de NaCl a 0,9% (grupo controle – GC) aos 8, 14 e 22 dias de pós-operatório (DPO).

DPO	Grupo	Achados histológicos				
		Intensidade da Reação Inflamatória	Tecido de Granulação (Fibroplasia)	Neovascularização	Quantidade de Fibras Colágenas	Grau de Reepitelização
8	GC	2,3±0,5 ^a	2,5±0,6 ^a	2±0,8 ^a	0,8±1 ^a	1±0 ^a
	GT	2,5±0,8 ^a	2,3±0,8 ^a	1±0,9 ^a	0,8±1 ^a	1,25±0,5 ^a
14	GC	1,5±0,8 ^{ab}	2,7±0,8 ^a	1,3±0,5 ^a	1,2±1 ^a	1,3±0,5 ^a
	GT	2,3±0,8 ^a	2,7±0,5 ^a	1,5±0,8 ^{ab}	1±0,6 ^a	1,3±1,0 ^a
22	GC	1,5±0,5 ^b	2,8±0,4 ^a	1,8±0,8 ^a	1,3±0,8 ^a	1,5±0,8 ^a
	GT	3±0 ^{*a}	2,5±1,2 ^a	2±0,6 ^b	1,5±1 ^a	1,4±0,5 ^a

[#] Graus: Ausência=0; Pequena quantidade=1; Quantidade moderada=2; Grande quantidade=3

* – significativamente diferente do grupo controle, neste momento experimental.

a,b – num mesmo grupo, médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente entre si.

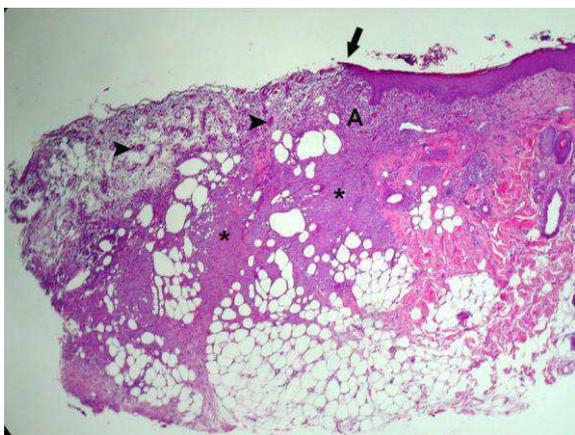


Figura 18: Microfotografia (Pele). Corte histológico de fragmento de pele de cão submetida a tratamento com curativo biológico oclusivo de pele de *Rana catesbeiana* em feridas cutâneas experimentais no 8º dia pós-operatório. Observa-se acentuada reação inflamatória (A) e fibroplasia (*), moderada neovascularização (cabeça de seta) e discreta reepitelização (seta). H&E. Obj. 4x.

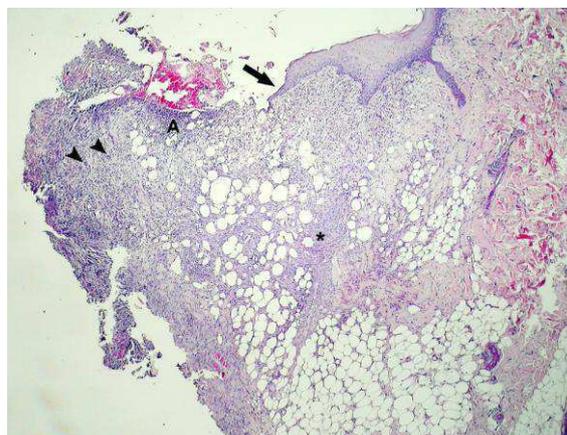


Figura 19: Microfotografia (Pele). Corte histológico de fragmento de pele de cão submetida a tratamento com solução de NaCl a 0,9% em feridas cutâneas experimentais no 8º dia pós-operatório. Observa-se moderada reação inflamatória (A) e fibroplasia (*), moderada neovascularização (cabeça de seta) e reepitelização discreta (seta). H&E. Obj. 4x.

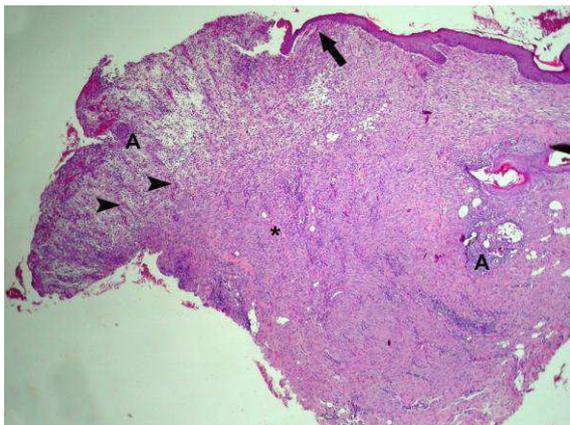


Figura 20: Microfotografia (Pele). Corte histológico de fragmento de pele de cão submetida a tratamento com curativo biológico oclusivo de pele de *Rana catesbeiana* em feridas cutâneas experimentais no 14º dia pós-operatório. Observa-se acentuada reação inflamatória (A) e fibroplasia (*), moderada neovascularização (cabeça de seta) e reepitelização (seta). H&E. Obj. 4x.

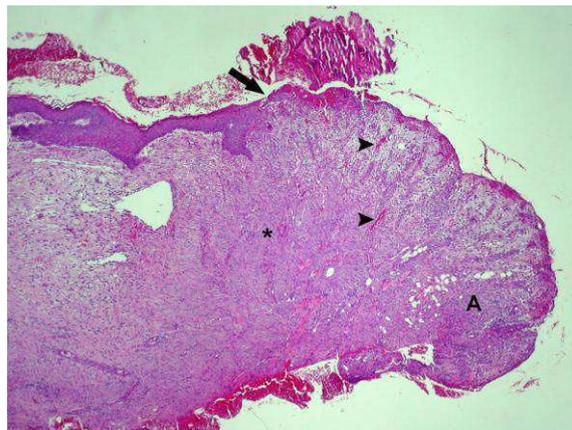


Figura 21: Microfotografia (Pele). Corte histológico de fragmento de pele de cão submetida a tratamento com solução de NaCl a 0,9% em feridas cutâneas experimentais no 14º dia pós-operatório. Observa-se moderada reação inflamatória (A) e acentuada fibroplasia (*), moderada neovascularização (cabeça de seta) e discreta reepitelização (seta). H&E. Obj. 4x.

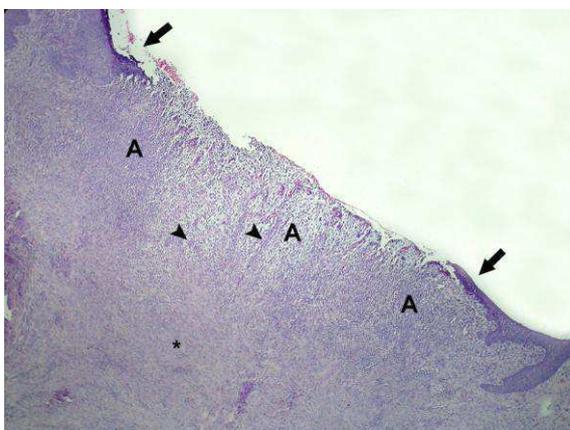


Figura 22: Microfotografia (Pele). Corte histológico de fragmento de pele de cão submetida a tratamento com curativo biológico oclusivo de pele de *Rana catesbeiana* em feridas cutâneas experimentais no 22º dia pós-operatório. Observa-se acentuada reação inflamatória (A) e fibroplasia (*), moderada neovascularização (cabeça de seta) e reepitelização (seta). H&E. Obj. 4x.

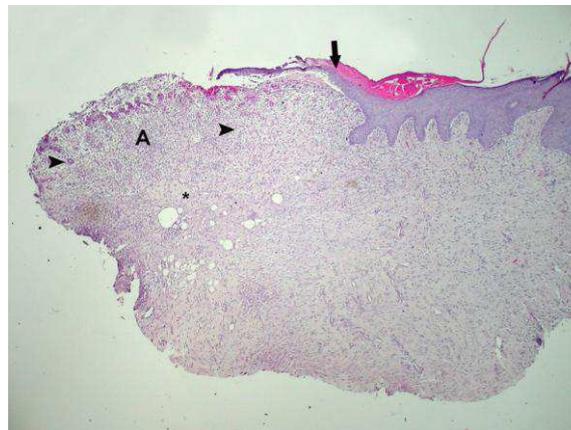


Figura 23: Microfotografia (Pele). Corte histológico de fragmento de pele de cão submetida a tratamento com solução de NaCl a 0,9% em feridas cutâneas experimentais no 22º dia pós-operatório. Observa-se moderada reação inflamatória (A) e fibroplasia (*), acentuada neovascularização (cabeça de seta) e moderada reepitelização (seta). H&E. Obj. 4x.

4.4 Morfometria

O processo de cicatrização das feridas em estudo se deu por segunda intenção, visto que se tratavam de feridas abertas, com perda tecidual total, obtendo dificuldade na aproximação das bordas das feridas (MADDEN, AREM, 1991), onde o processo de contração da ferida é tido como ponto chave para a sua resolução, pela contração dos miofibroblastos de forma centrípeta. Pelo fato da contração da ferida ocorrer de forma centrípeta, as feridas que eram inicialmente quadradas, ao reduzirem seu tamanho, originaram margens irregulares, como observado por Koopmann (1995) e Coelho et al. (1999), porém outro motivo para as feridas mudarem seu formato foram as realizações semanais das biópsias.

Não houve diferença significativa entre os grupos em relação à área da ferida, em nenhum momento de avaliação, porém foi observada uma tendência a aumento da área em relação à área inicial (4 cm²) no D8 nos animais 1, 2, 3, 4 e 6 do GC e nos animais 1, 3 e 6 do GT, estando apenas o animal 5 com a área em ambos os lados menor do que a área inicial (Tabela 4). Achado semelhante foi observado por Coelho et al (1999), onde quatro feridas apresentaram área maior do que a inicial ao sétimo dia pós-operatório, sendo que destas, três haviam sido recobertas com curativo biológico. Este fato se explica porque a primeira semana de reparação corresponde à fase de repouso da cicatrização, com transição da matriz extracelular provisória para o tecido de granulação, refletindo em um intervalo no ganho de força da ferida (HOSGOOD, 2007), e também porque logo após a retirada de um fragmento cutâneo ocorre um aumento da área lesionada devido à retração das margens da ferida, conseqüente à ação centrífuga das fibras elásticas da pele, tal como afirmam Coelho et al. (1999) e Falcão et al. (2001).

Em ambos os grupos, ocorreu uma diminuição significativa da área da ferida no D14 e no D22 em relação ao D8. No GC a área da ferida no D22 foi significativamente menor que no D14. A diminuição da área da lesão ocorreu devido ao mecanismo de contração que, juntamente com a epitelização, caracteriza a cicatrização por segunda intenção, conforme descrito por Madden e Arem (1991).

Tabela 4 – Valores individuais, médios e desvios padrão da área de feridas cutâneas tratadas com o curativo biológico de pele de rã (grupo tratamento – GT) ou com solução de NaCl a 0,9% (grupo controle – GC) em cães, segundo o dia de pós-operatório (DPO).

DPO		8		14		22	
Grupo		GC	GT	GC	GT	GC	GT
Animal							
1		4,4	5,5	1,35	2,25	0,63	0,8
2		5,28	3,84	1,8	1,28	0	0,28
3		5,94	5,72	2,1	2,89	1,1	1,56
4		4,6	3,42	1,1	2,04	0,24	0,54
5		3,04	3,57	0,93	1,69	0,49	4,18
6		5	5,4	1,21	1,54	0	0,25
Média		4,7 ^a	4,6 ^a	1,4 ^b	1,9 ^b	0,4 ^c	1,3 ^b
DP		1,0	1,1	0,4	0,6	0,4	1,5

a,b – num mesmo grupo, médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente entre si.

Em relação ao percentual de contração das feridas este só passou a ser observado a partir do D14 em ambos os grupos, com exceção do animal 5 e das feridas do GT nos animais 2 e 4, onde no D8 já observou-se contração das feridas. Em geral não se evidencia contração visível da ferida até cinco a nove dias após a lesão. Essa demora é devido ao período de tempo necessário para que os fibroblastos proliferem na ferida e a contração comece (HOSGOOD, 2007).

No D14 o valor médio de contração obtido no GT foi significativamente menor em relação ao GC, indicando uma menor contração das feridas do GT. Em ambos os grupos os percentuais obtidos em D14 e D22 foram significativamente maiores que o observado em D8 (Tabela 5). Segundo Modolin e Bevilacqua (1992), o período compreendido entre o 7º e 14º dia após a lesão é considerado como o correspondente à fase proliferativa, com presença de fibroblastos, que passam a assumir um fenótipo de miofibroblastos, que correspondem à contração da ferida, chegando a 30% da população celular. A maior contração observada nas feridas do GC, no D14, foi um achado inesperado, já que a umidade propiciada pelo curativo de pele de rã facilita a migração celular e, por conseguinte, a expressão dos miofibroblastos. Uma possível explicação seria a tendência a maiores escores de inflamação, observados no GT neste período experimental, que pode ter interferido no processo de migração celular e, conseqüentemente, na contração da ferida.

Tabela 5 – Valores individuais, médios e desvios padrão do percentual de contração de feridas cutâneas tratadas com o curativo biológico de pele de rã (grupo tratamento – GT) ou com solução de NaCl a 0,9% (grupo controle – GC) em cães, segundo o dia de pós-operatório (DPO).

DPO	8		14		22	
Grupo	GC	GT	GC	GT	GC	GT
Animal						
1	-10	-37,5	69,3	59,09	53,3	64,44
2	-32	4	65,9	66,66	100	78,12
3	-48,5	-43	64,64	49,47	47,61	46
4	-15	14,5	76,08	40,35	78,18	73,53
5	24	10,75	69,4	52,66	47,31	69,17
6	-25	-35	75,8	71,48	100	83,76
Média	-17,5 ^a	-14,4 ^a	70,2 ^b	56,6* ^b	71,1 ^b	69,2 ^b
DP	10,6	26,8	4,8	11,5	25,1	13,2

* – significativamente diferente do grupo controle, neste momento experimental.

a,b – num mesmo grupo, médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente entre si.

4.5 Avaliação bacteriológica

Não houve crescimento bacteriano ou fúngico nas amostras de pele conservadas em glicerina a 99,5%, possivelmente devido à atividade antimicrobiana da glicerina. Resultado semelhante foi obtido por Aceto et al. (2007) no uso do glicerol a 98% como meio de conservação de membrana amniótica e pericárdio canino utilizados como curativo biológico e Busnardo et al. (2009) onde não se observaram sinais de infecção, fato atribuído à ação antisséptica da glicerina associada à enrofloxacina na hidratação da membrana de peritônio bovino. Estes resultados comprovam a praticidade e a eficácia da glicerina, quando utilizada como meio conservante de membranas biológicas.

Diferentes gêneros de bactérias foram isoladas dos *swabs* colhidos das feridas ao longo do período de avaliação, tendo-se obtido uma frequência relativa bacteriana de *Staphylococcus* spp. (66,10%), *Streptococcus* spp. (15,25%), *Enterobacteriaceae* spp. (10,17%) e *Corynebacterium* spp. (8,48%).

Segundo Bieberstein (2003) os microorganismos Gram-positivos predominam entre a flora bacteriana residente da pele e os estafilococos caracterizam o componente principal, estreptococos são tidos como prováveis residentes e o difteróide *Corynebacterium* spp. é facultativo. A maioria dos membros da família Enterobacteriaceae habita o intestino dos

animais (TRABULSI, 1999) sendo considerados microorganismos transitórios comuns na pele e sua presença pode ser justificada pelo fato de os animais contaminarem-se com fezes presentes no ambiente.

Não houve diferença significativa em relação ao crescimento bacteriano entre grupos e entre períodos, porém no animal 2 observou-se crescimento bacteriano em ambos os lados e em todos os momentos de pesquisa microbiológica, exceto no D2 em ambos os lados e no D6 no lado GT. Uma explicação para esse achado é que o animal retirava o curativo com frequência, o que propiciou contato da ferida com o meio exterior, acarretando a colonização do ferimento por estes microorganismos.

O ambiente úmido criado entre o curativo e a ferida poderia favorecer a proliferação de bactérias, porém o uso de curativos oclusivos reduz o índice de infecção, sendo a incidência de infecção com o uso de curativos oclusivos e não oclusivos, respectivamente, de 2,6% e 7,1%. O ambiente formado com a oclusão da ferida propicia a ação dos mecanismos de defesa do hospedeiro, além de funcionar como uma barreira contra a penetração de microorganismos externos em direção à ferida (MENEZES et al., 2008).

5. CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos neste experimento conclui-se que o emprego da pele de *Rana catesbeiana* como curativo biológico oclusivo em feridas cutâneas não estimula o processo cicatricial, embora propicie um menor traumatismo no momento da troca de curativos e, conseqüentemente, redução da área de edema, quando comparada ao curativo com gaze umedecida em NaCl 0,9%.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACETO, M. L. *et al.* Membrana amniótica e pericárdio canino como curativos biológicos na preparação do leito receptor para enxertia cutânea autógena. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 59, n. 2, p. 358-362, Abr. 2007.
- ADZICK, N. S. Cicatrização da ferida: características biológicas e clínicas. In: SABISTON, J. R.; DAVID, C.; LYERLY, H. K. **Tratado de cirurgia: as bases biológicas da prática cirúrgica moderna**. 15.ed. vol.1. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 194-206.
- ALISON, M. R. Repair and regenerative responses. In: McGEE, J. T.; ISAACSON, P. G.; WRIGHT, N. A. (Eds). **Oxford text book of pathology**. Oxford: University Press, 1992. v.1, p. 365-388.
- ANDRADE, M., SEWARD, R., MELO, J. Curativos. **Rev.Med. Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 2, n. 4, p. 228-236, 1992.
- BARBOSA, H.; SOUZA, J. A. G. A ferida operatória. In: BARBOSA, H. **Controle Clínico do Paciente Cirúrgico**. 5. ed. Rio de Janeiro: Livraria Atheneu, 1986. Cap. 8, p. 99-112.
- BELLENZANI, M. C. R.; MATERA, J. M.; GIACOIA, M. R. Homologous pericardium as a biological dressing for treatment of distal limb wound in horses- experimental study. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v.13, n. 4, p. 237-241, Oct. 1994.
- BIBERSTEIN, E. L. A pele como um ambiente microbiano: infecções bacterianas cutâneas. In: HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia Veterinária**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. Cap. 39, p. 194-200.
- BOOTHE, D. M.; BOOTHE JR, H. W. Resposta tecidual local ao traumatismo e à cirurgia. In: BOJRAB, M. J. **Mecanismos da moléstia na cirurgia dos pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1996. Cap. 3, p. 13-20.
- BUSNARDO, C. A. *et al.* Peritônio de bovino como bandagem em queimaduras cutâneas experimentais em coelhos. **Ci. Anim. Bras.**, Goiânia v. 10, n. 3, p. 823-828, Jul./Set. 2009.
- CARVALHO, P. T. C. **Análise da cicatrização de lesões cutâneas através de espectrofotometria: estudo experimental em ratos diabéticos**. 2002. 72 f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Escola de Engenharia de São Carlos/ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 2002.
- COELHO, M. C. O. C.; REZENDE, C. M. F.; TENÓRIO, A. P. M. Contração de feridas após cobertura com substitutos temporários de pele. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 2, p. 297-303. 1999.

CHEM, W. Y. J.; ROGERS, A. A.; LYDON, M. J. Characterization of biologic properties of wound fluid collected during early stages of wound healing. **J. Invest. Dermatol.**, Chapel Hill, v. 99, n. 5, p. 559-564, Nov. 1992.

DAHM, M. *et al.* Immunogenicity of glutaraldehyde-tanned bovine pericardium. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, New York, v. 99, n. 6, p. 1082-1090, Jun. 1990.

DOUGHTY, D. B. Principles of wound healing and wound management. In: BRYANT, R. A. **Acute and chronic wounds: nursing management**. 2. Ed. St Louis: Mosby, 1992. Cap 2. p. 31-68.

DUARTE, I. G. L. **Membrana amniótica como curativo biológico na cicatrização de feridas infectadas: estudo experimental em coelhos**. 2007. 76 f. Tese (Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Medicina) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

FALCÃO, S. C. *et al.* Processo modificado de reprodução e amplificação de imagem para mensuração de área por planimetria: Aplicação em feridas planas produzidas em cães, tratadas por curativos oclusivos de pele de rã. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v. 38, n. 4, p. 165-169, 2001.

_____. Pele de *Rana catesbeiana* como curativo biológico oclusivo no tratamento de feridas cutâneas produzidas em cães: Alterações macroscópicas e microscópicas resultantes da interação desses tecidos. Estudo preliminar. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v. 17, n. 3, p. 151-159, Mai. 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-86502002000300002&script=sci_arttext>. Acesso em: 15 fevereiro 2009.

FERREIRA, L. M. B. M. *et al.* Evolução da cicatrização de feridas da pele de ratos sob efeito da aplicação tópica de pele de *Rana catesbeiana*. In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE CIRURGIÕES, 1., 2001, Porto de Galinhas. **Anais...** Porto de Galinhas: I Congresso Pernambucano do Colégio Brasileiro de Cirurgiões, 2001a.

_____. Estudo toxicológico da pele de *Rana catesbeiana* como curativo biológico em feridas de ratos. In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE CIRURGIÕES, 1., 2001, Porto de Galinhas. **Anais...** Porto de Galinhas: I Congresso Pernambucano do Colégio Brasileiro de Cirurgiões, 2001b.

FEITOSA, F. L. F. Exame físico geral ou de rotina. In: _____. **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico**. São Paulo : Roca, 2004. cap. 4, p. 77-102.

HARARI, J. Cicatrização de ferimentos. In: _____. **Cirurgia de Pequenos Animais**, Porto Alegre: Artmed, Cap. 4, p.54-60, 1999.

HOSGOOD, G. Reparo de feridas e resposta tecidual específica à lesão. In: In: SLATER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3.ed. São Paulo: Manole, 2007. cap. 4, v. 1, p. 66-86.

- KOOPMANN, C. Cutaneous wound healing. **Otolaryngologic Clin North Am**, v. 28, n. 5, p. 835-845, 1995.
- LEMOS, P. F. B. A. *et al.* Pele alógena como um curativo biológico de feridas cutâneas de cães. Estudo experimental. **Medicina Veterinária**, Recife, v. 2, n. 4, p. 1-9, out-dez, 2008.
- LIPTAK, J. M. An overview of the topical management of wounds. **Aust. Vet. J.**, Sidney, v. 75, n. 6, p. 408-413, Jun. 1997.
- MADDEN, J.; AREM, A. A cicatrização das feridas. Aspectos biológicos e clínicos. In: SABISTON, D. **Tratado de Cirurgia**. 14. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. v. 1, Cap. 10, p. 156-168.
- MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P. ; MANDELBAUM, M. H. S. **Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares-parte I**. Na. Bras. Dermatol., Rio de Janeiro, v. 78, n. 4, p. 393-408. 2003.
- MEDEIROS, C. A.; DANTAS FILHO, A. M.; ROCHA, K. F. B.; AZEVEDO, I. M.; MACEDO, F. Y. B. Ação do fator de crescimento de fibroblasto básico na cicatrização da aponeurose abdominal de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 18, n.1, p.5-9, 2005.
- MENEZES, F. F., COELHO, M. C. O. C., LEÃO, A. M. A. C. et al. Avaliação clínica e aspectos histopatológicos de feridas cutâneas de cães tratadas com curativo temporário de pele. **PUBVET**, v. 2, n. 4, Jan, 2008.
- MODOLIN, M., BEVILACQUA, R. Cicatrização das feridas. In: RAIA, A., ZERBINI, E. **Clínica Cirúrgica Alípio Corrêa Neto**. 4 ed. São Paulo: SARVIER, 1992. p. 133-138.
- OLIVEIRA, V. A.; ALVARENGA, J. Membrana amniótica preservada em glicerina no reparo de feridas cutâneas de membros locomotores de equinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, p. 623-628, Mai. 1998.
- PARK, J. E. P.; BARBUL, A. B. Understanding the role of immune regulation in wound healing. **The American Journal of Surgery**, v. 187, p. 115-165, 2004.
- POPE, E. R. Cicatrização da pele. In: BOJRAB, M.J. **Mecanismos da moléstia na cirurgia dos pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1996. Cap. 24, p. 178-183.
- PRATA, M. C. *et al.* Uso tópico do açúcar em ferida cutânea: estudo experimental em rato. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 43-48, 1988.
- PROBST, C. W. Cicatrização das feridas e regeneração de tecidos específicos. In: SLATER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1998. Cap. 4, v. 1, p. 66-78.
- RAMSEY, D. T. *et al.* Effects of three occlusive dressings materials on healing of full-thickness skin wounds in dogs. **Am J Vet Res.**, Schaumburg, v. 56, n. 7, p. 941-949, Jul. 1995.

RODRIGUES, J. M.; MEDEIROS, A. C. Tratamento de queimaduras do dorso de ratos com pele de rã como curativo biológico. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 9., 1998, Natal. **Anais...** Natal: Congresso de Iniciação Científica, 1998. p. 49.

SAI, K. P.; REDDY, P. N.; BABU, M. Investigations on wound healing by using amphibian skin. **Indian J Exp Biol.**, New Delhi, v. 33, n. 9, p. 673-676, Sep. 1995.

SILVA, M. P. F. **Avaliação histopatológica do processo cicatricial de lesões induzidas em pele de ratos tratados por 14 dias, com cobertura natural provenientes de pele de *Rana catesbeiana*.** 2006. 35 f. Monografia (Curso de Especialização “Lato Sensu” em Clínica Cirúrgica em Pequenos Animais) - Universidade Castelo Branco, Campo Grande, 2006.

SILVA, S. C.; JUNIOR, S. C. S. Queimaduras: tratamento local. In: RAIA, A. A.; ZERBINE, E. J. **Clínica Cirúrgica Alípio Correia Netto**. 4.ed. São Paulo: Sarvier; 1988. p. 217-35.

SINGER, A. J.; CLARK, R. A. Cutaneous wound healing. **N. Engl. J. Med.**, London, v.341, n.10, p.738-746, 1999.

STASHAK, T. S. Principles of wound healing. In: _____. **Equine wound management**. London: LEA & FEBIGER, p.1-18 1994.

TRABULSI, L. R.; CAMPOS, L. C. Generalidades sobre enterobactérias. In: TRABULSI *et al.* **Microbiologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 1999. Cap. 27, p. 207-213.

WALDRON, D. R.; TREVOR, P. Tratamento dos ferimentos superficiais. In: SLATER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1998. v. 1, Cap. 25, p. 334-347.

WERNER, S.; GROSE, R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. **Physiological Reviews**, v. 83, p. 835-870, 2003.