

**UNIVERSIDADE DE SOROCABA  
PRÓ REITORIA ACADÊMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Décio Luís Portella**

**ESTUDO EXPERIMENTAL COMPARATIVO ENTRE DIFERENTES  
CURATIVOS À BASE DE PRATA EM QUEIMADURAS DE 2<sup>o</sup> GRAU  
EM RATOS**

**SOROCABA, SP**

**2013**

**Décio Luís Portella**

**ESTUDO EXPERIMENTAL COMPARATIVO ENTRE DIFERENTES  
CURATIVOS À BASE DE PRATA EM QUEIMADURAS DE 2<sup>o</sup>. GRAU  
EM RATOS**

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba, como exigência parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marli Gerenutti

**Sorocaba/SP**

**2013**

### Ficha Catalográfica

Portella, Décio Luís  
P877e Estudo experimental comparativo entre diferentes curativos à  
base de prata em queimaduras de 2º grau em ratos / Décio Luís  
Portella. – 2013.  
64 f.: il.

Orientadora: Profª. Drª. Marli Gerenutti  
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) –  
Universidade de Sorocaba, Sorocaba, SP, 2013.

1. Queimaduras. 2. Escaldo. 3. Queimaduras – Tratamento. 4.  
Prata – Uso terapêutico. I. Gerenutti, Marli, orient. II. Universidade de  
Sorocaba. III. Título.

**Décio Luís Portella**

**ESTUDO EXPERIMENTAL COMPARATIVO ENTRE DIFERENTES  
CURATIVOS À BASE DE PRATA EM QUEIMADURAS DE 2<sup>o</sup>. GRAU  
EM RATOS**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba.

Aprovado em:

**BANCA EXAMINADORA**

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marli Gerenutti  
Universidade de Sorocaba (Presidente)

Prof Dr. Hamilton Aleardo Gonella  
Pontifícia Universidade Católica de São Paulo

Prof Dr. José Mauro da Silva Rodrigues  
Pontifícia Universidade Católica de São Paulo

Prof. Dr. Nelson Brancaccio  
Pontifícia Universidade Católica de São Paulo

Aos meus avós maternos, José Antonio Portella e Maria Fernandes Portella,  
por terem me ensinado o valor do trabalho.

À minha mãe, Esmenia Celeste Portella, pelo amor incondicional.

À meu tio Fernando Portella, por sempre me aconselhar em horas difíceis.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus amigos Delmo Sakabe e Ricardo Tadeu F. Pires, por sempre estarem dispostos e por transformarem o ambiente de trabalho em prazer e diversão.

Ao Prof. Dr Hamilton A. Gonella, amigo pessoal e exímio cirurgião, agradeço por despertar em mim a paixão pela Cirurgia Plástica. Além de sempre incentivar a aprender mais, eternamente me ensinado algo.

Ao amigo Rogerio Ruiz, por ter me ensinado muito e operado diversas vezes comigo.

Ao Prof. Dr José Mauro S. Rodrigues, por sempre me ensinar, orientar e transmitir seu vasto conhecimento sobre Cirurgia Geral e Trauma. Minha admiração pessoal a sua personalidade, seu trabalho e postura como cirurgião e professor.

Ao Prof. Dr Nelson Brancaccio dos Santos, professor de Patologia, sua participação foi fundamental para a realização deste trabalho. Sempre receptivo e amigo; meu agradecimento pessoal.

À todas as funcionárias do Serviço de Patologia da Faculdade de Medicina de Sorocaba, que ajudaram com este trabalho.

Ao amigo Evandro Pedro de Campos, obrigado pela ajuda fundamental em cuidar e alimentar os ratos. Às doutorandas e amigas Monique Moron e Juliana Barbieri, obrigado por terem me ajudado com as imagens histológicas. À Cristina, amiga desde meus anos de acadêmico na faculdade, maravilhosa funcionária da biblioteca da Faculdade de Medicina, agradeço imensamente pelas referências e formatação. Da mesma forma, agradeço a bibliotecária Regina C. F. Boaventura; funcionária da UNISO que prontamente me ajudou com a formatação final e ficha catalográfica.

Meu agradecimento especial a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marli Gerenutti, pela eterna paciência comigo, pela receptividade quando cheguei a UNISO e pela orientação deste trabalho.

Agradeço a todos os pacientes vítimas de queimadura que já atendi; com eles eu aprendi muito sobre esperança, força e o quanto nossos problemas diários podem ser pequenos.

Smile though your heart is aching  
Smile even though it's breaking  
When there are clouds in the sky, you'll  
get by  
If you smile through your fear and  
sorrow  
Smile and maybe tomorrow  
You'll see the sun come shining  
through for you

Light up your face with gladness  
Hide every trace of sadness  
Although a tear may be ever so near  
That's the time you must keep on  
trying  
Smile, what's the use of crying?  
You'll find that life is still worthwhile  
If you just smile

*John Turner - Geoffrey Parsons 1954 –  
letra adicionada à canção Smile, composta por  
Charlie Chaplin em 1936 para o seu filme  
Tempos Modernos.*

Sorri  
Quando a dor te torturar  
E a saudade atormentar  
Os teus dias tristonhos, vazios  
Sorri  
Quando tudo terminar  
Quando nada mais restar  
Do teu sonho encantador  
Sorri Quando o sol perder a luz E  
sentires uma cruz Nos teus ombros  
cansados, doridos Sorri Vai mentindo  
a tua dor E ao notar que tu sorris Todo  
mundo irá supor Que és feliz.

*versão Braguinha (1955), João deBarro*

## RESUMO

**Introdução:** Milhares de pessoas são vítimas de queimaduras todos os anos, sendo a etiologia por escaldos a mais frequente. Muitas dessas vítimas apresentam queimaduras de pequena extensão corpórea e espessura parcial superficial, sendo tratadas de forma ambulatorial ou mesmo não procurando atendimento médico especializado. Em todo o mundo, a utilização de curativos à base de prata tornou-se rotineira e comum, beirando o uso indiscriminado. Diversos são os curativos que apresentam a prata como agente principal. Este trabalho avaliou queimaduras por escaldos, de pequena extensão e espessura parcial em ratos. **Material e Métodos:** Utilizou-se 45 ratos *Wistar* divididos em cinco grupos e, após queimadura por escaldos, foram tratados com soro fisiológico, sulfadiazina de prata, carboximetilcelulose com prata (Aquacel®), espuma de polietileno associada à prata (Mepilex®) e prata nanocristalina (Actcoat®). Os ratos foram sacrificados nos dias 1<sup>o</sup>, 2<sup>o</sup>, 4<sup>o</sup>, 6<sup>o</sup>, 9<sup>o</sup>, 12<sup>o</sup>, 18<sup>o</sup>, 21<sup>o</sup>, 24<sup>o</sup> e a área queimada foi enviada para análise histopatológica, sem o conhecimento de qual curativo foi utilizado. Os critérios de avaliação foram: epitelização; extensão da área cicatrizada; infiltrado inflamatório crônico; neoformação vascular; proliferação fibroblástica, fibras elásticas e colágeno jovem. Para cada critério avaliado, foi atribuído uma nota conforme a sua maior intensidade na lâmina histológica. **Resultados:** A análise estatística mostrou significância para neoformação vascular ( $p < 0,043$ ), infiltrado inflamatório ( $p < 0,004$ ) e fibras elásticas ( $p < 0,001$ ). Apesar da diferença estatisticamente significativa para neoformação vascular entre os grupos, não foi possível identificar qual grupo difere dos demais. A presença de infiltrado inflamatório foi maior nos ratos tratados com sulfadiazina de prata e com Actcoat® que nos ratos tratados com Mepilex® ( $p = 0,035$  e  $p = 0,019$  respectivamente). As fibras elásticas foram estatisticamente maiores nos grupos Actcoat® e sulfadiazina de prata com relação ao controle ( $p < 0,001$  e  $p = 0,047$ ) e foram maiores no grupo Actcoat® que no grupo Aquacel® ( $p = 0,005$ ). As feridas apresentaram-se epitelizadas entre o 9<sup>o</sup> e 12<sup>o</sup> dia, sem preponderância de um curativo específico. O grupo controle apresentou menor resposta inflamatória comparado aos curativos de prata; no entanto, a neoformação vascular e a presença de fibras elásticas também foram menores. **Conclusão:** Queimaduras de espessura parcial e pequena área corpórea lesada epitelizam independente da utilização de curativos à base de prata. O tratamento com curativo embebido em soro fisiológico não é agressivo ao tecido lesado, apresentando menos infiltrado inflamatório. A presença de fibras elásticas foi maior quando a prata esteve presente.

**Palavras Chaves:** Queimadura. Escaldos. Espessura Parcial. Curativos. Prata.

## ABSTRACT

**Introduction:** Thousands of people are victims of burns every year, and etiology by scalding is the most frequent reason. Many of these victims have burns covering a small body length and superficial as well as partial thickness, being treated on an outpatient basis or even not looking for specialized medical care. Worldwide, the use of silver-based dressings has become routine and common, bordering the indiscriminate use. There are several dressings that have silver as principal agent. This study evaluated burns of small extension and partial thickness in rats. **Materials and Methods:** We used 45 Wistar rats divided into five groups and, after a scald burn, were treated with saline, silver sulfadiazine, silver-carboxymethyl cellulose (Aquacel®), polyethylene foam associated with silver (Mepilex®) and nanocrystalline silver (Actcoat®). The rats were sacrificed on days 1st, 2nd, 4th, 6th, 9th, 12th, 18th, 21st, 24th and the burned area was sent for histopathological analysis, without identifying which dressing had been used. The evaluation criteria were: epithelialization; extension of the healing area; chronic inflammatory infiltrate, neovascularization, fibroblast proliferation, young collagen and elastic fibers. For each criterion assessed, a score was assigned according to its greatest intensity in the histological slide. **Results:** Statistical analysis showed significant neovascularization ( $p < 0.043$ ), inflammatory infiltrate ( $p < 0.004$ ) and elastic fibers ( $p < 0.001$ ). Despite the statistically significant difference in neovascularization between groups, it was not possible to identify which group differed from the others. The presence of inflammatory infiltrates was higher in rats treated with silver sulfadiazine and Actcoat® than in rats treated with Mepilex® ( $p = 0.035$  and  $p = 0.019$  respectively). Elastic fibers were statistically higher in groups Actcoat® and silver sulfadiazine compared to control ( $p < 0.001$  and  $p = 0.047$ ) and were higher in the group Actcoat® than in the group Aquacel® ( $p = 0.005$ ). The wounds were healed between the 9th and 12th day, with no preponderance of a specific healing dressing in the evaluated wounds. The control group had lower inflammatory response compared to silver dressings; however, neovascularization and the presence of elastic fibers were also lower. Partial thickness burns and small damaged area of the body epithelize independently from the use of silver-based dressings. Treatment with dressing soaked in saline is not aggressive to the injured tissue, with less inflammatory infiltrate. The presence of elastic fibers is greater when the silver is present. **Conclusion:** Partial thickness burns and small damaged area of the body epithelize independently from the use of silver-based dressings. Treatment with dressing soaked in saline is not aggressive to the injured tissue, with less inflammatory infiltrate. The presence of elastic fibers is greater when the silver is present.

**Keywords:** Burns. Scald. Partial Thickness. Dressings. Silver.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> -	Graus de queimadura segundo a profundidade da lesão.....	15
<b>Figura 2</b> -	Sistema micro ambiental .....	21
<b>Figura 3</b> -	Procedimentos para indução de queimadura de segundo grau por escaldo.....	22
<b>Figura 4</b> -	Formas de apresentação de curativos à base de prata utilizados em queimaduras.....	23
<b>Figura 5</b> -	Diferentes tratamentos da queimadura de segundo grau por escaldo .	24
<b>Figura 6</b> -	Proporção entre área corpórea e área queimada ( 3x3cm <sup>2</sup> em vermelho) .....	26
<b>Figura 7</b> -	Evolução das lesões de queimadura de 2 <sup>o</sup> grau por escaldo em ratos tratados com curativos à base de prata .....	27
<b>Figura 8</b> -	Grupo controle - 2 <sup>o</sup> dia, discreta presença de infiltrado inflamatório (HE, aumento de 40x) .....	29
<b>Figura 9</b> -	Grupo Acticoat <sup>®</sup> no 2 <sup>o</sup> dia com inflamação intensa (HE, aumento de 40x) .....	29
<b>Figura 10</b> -	Grupo controle 4 <sup>o</sup> dia: extensão da área lesada (HE, aumento de 2x)	30
<b>Figura 11</b> -	Grupo controle no 21 <sup>o</sup> dia, visão geral da área lesada (TM, aumento de 2X).....	30
<b>Figura 12</b> -	Grupo controle no 9 <sup>o</sup> dia, apresentando cicatriz e área epitelizada, (HE, aumento de 2X).....	31
<b>Figura 13</b> -	Grupo controle no 6 <sup>o</sup> dia, apresentando neoformação vascular discreta (HE, aumento de 40x) .....	31
<b>Figura 14</b> -	Grupo controle no 18 <sup>o</sup> dia, com epitelização discreta (HE, aumento de 40x) .....	32
<b>Figura 15</b> -	Grupo Acticoat <sup>®</sup> no 18 <sup>o</sup> , com epitelização intensa (HE, aumento de 40x) .....	32
<b>Figura 16</b> -	Grupo Acticoat <sup>®</sup> no 6 <sup>o</sup> dia, neovascularização intensa mostrando em roxo as células endoteliais (aumento de 40x) .....	33
<b>Figura 17</b> -	Grupo Sulfadiazina de Prata no 9 <sup>o</sup> dia, mostrando cicatriz e tecido de granulação (aumento de 10x).....	38
<b>Figura 18</b> -	Grupo Aquacel <sup>®</sup> no 12 <sup>o</sup> dia, fibras colágenas novas em azul mais intenso à direita (TM, 40x).....	39
<b>Figura 19</b> -	Grupo Mepilex <sup>®</sup> no 18 <sup>o</sup> dia, fibras elásticas (Orseína, aumento 40x) ..	39

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** - Notas atribuídas à área de cicatrização para os diferentes grupos (média +/- erro padrão;  $p > 0,05$ , Teste de Tukey,  $n=9$ ).....35
- Gráfico 2** - Notas atribuídas à neoformação vascular para os diferentes grupos (média +/- erro padrão;  $*p < 0,05$ , Teste de Tukey,  $n=9$ ).. .....35
- Gráfico 3** - Notas atribuídas à proliferação de fibroblastos para os diferentes grupos (média +/- erro padrão;  $p > 0,05$ , Teste de Tukey,  $n=9$ ) .....36
- Gráfico 4** - Notas atribuídas a infiltrado inflamatório para os diferentes grupos (média +/- erros padrões;  $*p < 0,05$ , Teste de Tukey,  $n=9$ ).....36
- Gráfico 5** - Notas atribuídas à fibras elásticas para os diferentes grupos (média +/- erro padrão;  $*p < 0,05$ , Teste de Tukey,  $n=9$ ) .....37
- Gráfico 6** - Notas atribuídas à epitelização para os diferentes grupos (média +/- erro padrão;  $p > 0,05$ , Teste de Tukey,  $n=9$ ).....39
- Gráfico 7** - Notas atribuídas à colágeno jovem para os diferentes grupos (média +/- erro padrão;  $p > 0,05$ , Teste de Tukey,  $n=9$ ) .....39

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> -	Notas para presença de neoformação vascular segundo análise histopatológica em lesões tratadas à base de prata. ....	36
<b>Tabela 2</b> -	Notas para presença de infiltrado inflamatório segundo análise histopatológica em lesões tratadas à base de prata. ....	37
<b>Tabela 3</b> -	Notas para presença de fibras elásticas segundo análise histopatológica em lesões tratadas à base de prata. ....	38
<b>Tabela 4</b> -	Descrição das notas atribuídas aos parâmetros avaliados segundo grupos e resultado dos testes comparativos para os diferentes tratamentos à base de prata.....	40
<b>Tabela 5</b> -	Resultado das comparações múltiplas entre os grupos para os parâmetros que apresentaram diferenças nas notas (Teste de Tukey, $p < 0,05$ ). ....	40

## SUMÁRIO

<b>1INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
1.1Queimadura: Aspectos gerais.....	12
1.2Fisiopatologia .....	13
1.3Cicatrização .....	14
1.4Classificação das Queimaduras .....	15
1.5Curativos.....	15
1.6Utilização da Prata.....	16
<b>2OBJETIVO .....</b>	<b>20</b>
2.1Objetivo geral .....	20
2.2Objetivos específicos.....	20
<b>3MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
3.1Animais .....	21
3.2Indução da lesão por queimadura de segundo grau.....	22
3.3Cálculo da Superfície corpórea do rato Wistar.....	22
3.4Fármacos e Medicamentos.....	22
3.5Curativos.....	23
3.6Análise histopatológica da área queimada .....	24
3.7Análise estatística .....	25
<b>4RESULTADOS.....</b>	<b>26</b>
4.1Experimento 1: Relação entre a área corpórea do rato e a superfície corpórea queimada.....	26
4.2 Experimento 2: Observação macroscópica da lesão tratada com os diferentes tipos de curativo. ....	26
4.3 Experimento 3: Análise microscópica da lesão tratada com os diferentes curativos. ....	28
4.4 Experimento 4: Resultado estatístico .....	34
<b>5DISCUSSÃO .....</b>	<b>41</b>
<b>6CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>46</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>47</b>
<b>ANEXO A – Escores .....</b>	<b>55</b>
<b>ANEXO B – Termo de Avaliação .....</b>	<b>56</b>



## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Queimadura: Aspectos gerais

Queimaduras são lesões resultantes da transferência de energia de uma fonte de calor para o corpo e, quando atingem grandes extensões, além do dano local, podem causar repercussões sistêmicas graves. Este trauma permanece como importante problema público de saúde, frequente em nosso meio e oneroso ao sistema; uma vez que demanda internações prolongadas, múltiplos procedimentos cirúrgicos e curativos. Diversos agentes etiológicos estão envolvidos: fogo, contato, eletricidade, substâncias ácido - básicas e líquidos quentes. Este último se apresenta como agente importante, sendo a água aquecida o mais comum nas queimaduras por escaldamento (NOVAES, 2003).

Mais de um milhão de queimaduras ocorrem nos Estados Unidos todos os anos. Cerca de 5.000 dessas lesões são fatais e a quarta principal causa de morte por lesão não intencional (BAKER et al., 1992). Globalmente, em 2004, a incidência de queimaduras, graves o suficiente para exigir atenção médica, foi de 11 milhões de pessoas e ficou em quarto lugar entre todos os traumas (atrás apenas dos acidentes automobilísticos, quedas e violência interpessoal); maior do que a combinação da incidência de infecções por tuberculose e HIV e ligeiramente menor do que a incidência de todas as neoplasias malignas (PECK, 2011). No Brasil, segundo Gawryszewski et al. (2012), apesar de não determinarem um forte impacto no perfil da mortalidade da população, têm alta relevância na morbidade. Isso pode ser mais bem evidenciado a partir da análise das fontes oficiais de informação de saúde. Os dados preliminares referentes ao ano de 2009, disponibilizados pelo Sistema de Informações sobre Mortalidade – SIM (BRASIL, 2008a), mostraram que o número de vítimas fatais por essa causa foi 2.175, representando cerca de 1,6% do total de mortes decorrentes de causas externas. Já em relação às vítimas não fatais, a tabulação dos dados do Sistema de Informações Hospitalares do Sistema Único de Saúde (BRASIL, 2008b) para o ano de 2009 mostrou que 80.607 pessoas foram internadas no sistema público por lesões decorrentes de queimaduras nesse ano, representando cerca de 9% do total de internações do grupo das causas externas.

Felizmente, apesar de causarem mais de 300.000 mortes/ano em todo o mundo (MOCK et al., 2008), a grande maioria das queimaduras não são fatais. Entretanto, estão entre as principais causas de sequelas em países pobres e em desenvolvimento. Queimaduras com até 20% da superfície corpórea ocorrem em 153 por 100.000 habitantes de 0-15 anos, sendo a quinta causa mais comum de lesões não-fatais na infância e adolescência (atrás dos traumas cranioencefálicos, ferimentos em geral, intoxicações e fraturas) (PECK, 2011). No entanto, podem exigir longos períodos de hospitalização/tratamento e, em geral, resultam em várias sequelas físicas e problemas psicológicos. A depressão é uma das complicações mais comuns (DYSTER-AAS, 2008; TER SMITTEN, DE GRAAF, VAN LOEY, 2011). Nos países em desenvolvimento, o risco de sequelas é ainda maior; pois, além das condições de vida precárias, o acesso às unidades de tratamento é limitado (DELGADO, 2002).

Devido à gravidade e suas sequelas em todo o mundo, uma melhor investigação, incluindo registros de incidência e formulários adequados, deverão apoiar os esforços de prevenção (COLEBROOK, L., COLEBROOK, V., 1949). Fatores de risco para queimaduras incluem aqueles

relacionados ao baixo nível socioeconômico, a etnia, a idade, ao sexo, a intenção de lesão e comorbidades (BURD, YUEN, 2005; BURD et al., 2007; PECK, 2011). Ainda está associado ao baixo nível educacional, ao desemprego, famílias grandes e famílias monoparentais, habitações precárias e aglomerações de pessoas. Finalmente, é bem sabido que as crianças estão em risco elevado (EDELMAN, 2007).

A magnitude destas lesões salientam a importância do tratamento adequado. Abordagens mais racionais, frutos da pesquisa científica, têm progressivamente substituído os procedimentos empíricos e medicamentos usados desde os primórdios da humanidade. Além de protocolos para utilização de curativos, o tratamento adequado da queimadura requer atendimento médico especializado e instalações adequadas para cuidados especiais.

A abordagem científica das queimaduras na América do Sul começou em 1930 e foi enfatizada na década de 40, como resultado da influência positiva dos Congressos Latino-americanos de Cirurgia Plástica iniciados em 1941 no Brasil (BENAIM, NAMBRARD, 1999).

No Brasil, o primeiro centro de tratamento foi criado em 1945, no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, com 43 leitos (RUSSO, 1958). Em 1961, um incêndio durante uma apresentação do Circo Americano em Niterói, produziu 2.500 vítimas e 400 mortes instantâneas. Esta catástrofe tocou a opinião pública, bem como a do governo que direcionou verbas às queimaduras. No entanto, constatamos que o Brasil ainda carece de registros fiéis e bancos de dados integrados. Não há estatística das queimaduras tratadas ambulatorialmente, podendo o número de vítimas ser alto. Assim como outros traumas, não dispomos do número real; propiciando verbas insuficientes. Sabe-se que o valor médio gasto pelo Ministério da Saúde com o tratamento de pacientes queimados que necessitam de internação hospitalar chegou a apenas um milhão de reais por mês em 2003 (ROSSI et al., 2003).

## **1.2 Fisiopatologia**

Os avanços na compreensão das consequências para a pele e efeitos sistêmicos, tem contribuído, ao longo dos anos, em mudanças importantes no manejo das queimaduras. Nos últimos anos, diversos autores têm estudado as alterações locais (BALBINO, PEREIRA, CURI, 2005). A pele humana pode tolerar, sem prejuízo, temperaturas de até 44°C. Acima deste valor são produzidas lesões de diferentes comportamentos. Verifica-se que o grau de lesão está diretamente relacionado a temperatura e ao tempo de exposição, gerando importante resposta inflamatória local aguda (BALBINO, PEREIRA, CURI, 2005; NOVAES, 2003). O tratamento local das queimaduras é dinâmico, complexo e dependente tanto da resolução da inflamação quanto da promoção da cicatrização; necessitando de curativos que atuem diretamente neste binômio (BOLGIANI, SERRA, 2010; FRANCO, GONÇALVES, 2008).

Pacientes queimados apresentam diversas alterações orgânicas que, além dos danos imediatos com necrose central na ferida, possuem como base fisiopatológica o aumento da permeabilidade dos vasos e edema (BALBINO, PEREIRA, CURI, 2005). Simultaneamente ao dano térmico responsável por áreas de necrose de coagulação envoltas em importante processo inflamatório, a apoptose das células aumenta as áreas já lesadas, enquanto fagócitos e células

imunes possuem funções alteradas (TRENGOVE et al., 1999). Essas alterações podem culminar em uma das complicações mais relevantes em grandes queimados: a infecção na área afetada, diminuindo ou mesmo impossibilitando a epitelização e/ou integração de enxertos de pele. Dois fatores contribuem para o aumento da incidência de infecção: a perda de solução de continuidade e a imunossupressão resultante (presente em pacientes com grande superfície acometida). A antibioticoterapia sistêmica, na maioria das vezes, torna-se ineficiente pela interrupção do fluxo sanguíneo local. Sendo assim, o controle da infecção e a tentativa de se evitar a septicemia, são a chave do sucesso da terapia em pacientes queimados e, talvez, seu maior desafio (STROHAL et al., 2005).

O objetivo final do tratamento é a epitelização, o mais rápido possível, da ferida; a fim de prevenir a infecção e reduzir os danos funcionais e estéticos (SALAS et al., 2000). O uso da quimioterapia tópica tem sido fundamental nesse sentido e tem ajudado a melhorar a sobrevivência de pacientes com queimaduras graves e minimizar a incidência de sepse em queimados, uma das principais causas de mortalidade e morbidade nestes pacientes (FRASER et al., 2004a, 2004b). Uma das estratégias que está ganhando atenção renovada, para combater a ameaça de infecção bacteriana da ferida, é o uso de agentes antimicrobianos de metais nobres, dos quais a mais prevalente é a prata (WRIGHT, HANSEN, BURRELL, 1998; WRIGHT et al., 2002).

### **1.3 Cicatrização**

Segundo Clark (2005, p. 326), a cicatrização de feridas é um fenômeno complexo que envolve vários processos, incluindo a regeneração, migração e proliferação das células parenquimatosas e do tecido conjuntivo, síntese de proteínas da matriz extracelular (MEC), remodelamento do tecido conjuntivo, componentes do parênquima, formação de colágeno e aquisição de resistência da ferida. A eficiência da reparação tecidual promove a reepitelização da epiderme e a substituição da derme por uma nova MEC. A complexa reparação tecidual pode ser dividida em estágios(embora exista sobreposições entre eles) sendo: inflamação, proliferação e remodelação (CARNEIRO, SILVA, 2004, p. 11-16).

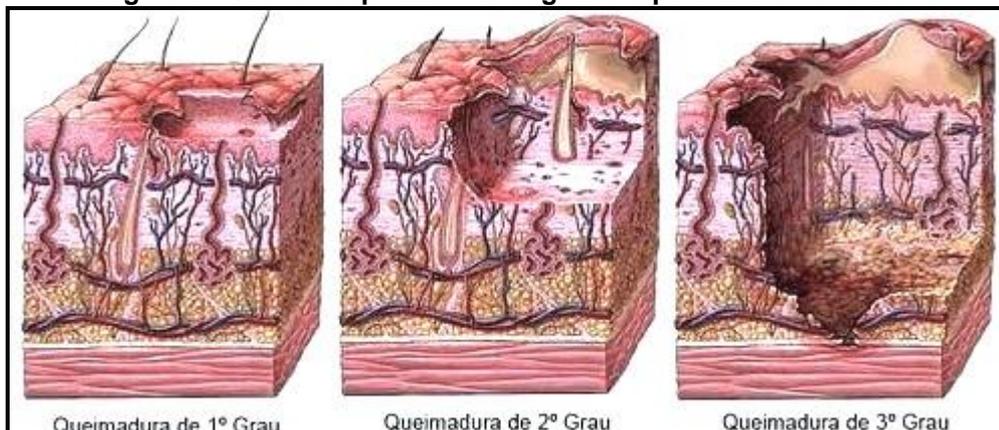
Segundo E. C. O. Guirro e R. R. J. Guirro (2002), na fase inflamatória diversas substâncias como serotonina, plasminas e histaminas são liberadas e agem como mediadores. Em conjunto, macrófagos e leucócitos iniciam a fagocitose e ocorre; então, a degradação do colágeno e elastina, propiciando o início da fase proliferativa. Nessa fase, em um período de 3 a 5 dias, os fibroblastos e as células endoteliais formam o tecido de granulação com formação de novos vasos sanguíneos e de colágeno; uma nova epiderme começa a se formar dando início ao processo de reepitelização (MANDELBAUM, S. H., DI SANTIS, MANDELBAUM, M. H. S., 2003). Na fase de remodelação, o tecido é enriquecido com fibras de colágeno, formando uma massa fibrótica. Durante toda essa fase, a deposição de colágeno se acentua formando a cicatriz. A remodelação continua por meses, até anos, e o novo tecido se altera lentamente (CARNEIRO, SILVA, 2004).

#### 1.4 Classificação das Queimaduras

As queimaduras da pele são classificadas quanto à sua profundidade em: primeiro, segundo e terceiro grau. A de primeiro grau atinge apenas a epiderme, a de segundo grau afeta a epiderme e parte da derme, enquanto a de terceiro grau acomete toda a espessura da derme, podendo envolver estruturas mais profundas como músculos e ossos (ATIYEH, GUNN, HAYEK, 2005). As lesões de segundo grau podem ser denominadas de espessura parcial, porque lesam parcialmente a derme; enquanto as de terceiro grau são denominadas de espessura total por lesar totalmente a derme (RUSSO, 1988).

As queimaduras de segundo grau variam amplamente quanto a sua evolução e tratamento, dependendo da sua profundidade ser maior ou menor, sendo importante diferenciar as lesões superficiais e profundas. Devido a preservação de anexos epidérmicos como folículos pilosos e glândulas sebáceas, estes tipos de queimaduras podem curar sem a necessidade de intervenção cirúrgica e, se envolverem apenas áreas relativamente pequenas, podem ser tratadas de forma segura em ambiente ambulatorial (AMERICAN BURN ASSOCIATION, 2005). Este tipo de queimadura, de espessura parcial e pequena extensão, que é o foco deste trabalho.

**Figura 1 - Graus de queimadura segundo a profundidade da lesão**



Fonte: JANECZKO, Laís. **Queimaduras**. Disponível em: <<http://pt-br.infomedica.wikia.com/wiki/Queimaduras>>.

#### 1.5 Curativos

Diversos foram os curativos para queimaduras na evolução da humanidade como citou Artz (1970). O curativo ideal deve prevenir a desidratação do tecido que leva a morte celular; acelerar a angiogênese; estimular a epitelização e a formação de tecido de granulação; facilitar a remoção de tecido necrótico e fibrina; servir como barreira protetora contra microorganismos e evitar traumas no momento de sua troca (FRANCO; GONÇALVES, 2008). A primeira evidência direta sobre o tratamento de queimaduras foi encontrada nas pinturas rupestres do homem de Neandertal com cerca de mais de 3.500 anos. Registros no papiro egípcio de Edwin Smith (1500 a.C.) defendiam a utilização de uma pomada de resina e mel (MAJO, 1973; BREASTED, 1991); os egípcios ainda realizavam o tratamento com feitiçarias e uma mistura de cola, pelo de cabra e leite de mulher

puérpera. Este papiro também faz referência ao uso de faixas de linho embebidas em preparações oleosas. Entre os séculos VI e V a.C., os chineses e japoneses empregavam tinturas e extratos de folhas de chá. Hipócrates, cerca de 430 a.C., propunha uma mistura de pele de porco com resina e betume aplicados em pedaço de pano. Ele também propôs o uso de roupas embebidas em vinagre morno para aliviar a dor e, posteriormente, tratou queimaduras com soluções de casca de carvalho que, assim como as folhas de chá empregadas pelos orientais, são ricas em tanino (polifenóis de origem vegetal com propriedades antissépticas) (SIMÕES, 2007). Na Roma antiga, Celsus propunha o tratamento com mel e farelos e também cortiça e cinzas. Enquanto Galeno utilizou vinagre ou vinho. No século IX, o médico persa Rhazes empregava água gelada. Somente no início do século XX que uma ampla variedade de medicamentos locais foram empregados para produzir escaras, desde o ácido tânico, violeta de genciana até o nitrato de prata a 5% que permaneceu até o início da Segunda Guerra Mundial. Somente em 1942 que Allen e Koch popularizaram a utilização de curativos compressivos de gase com petrolato, assim, o emprego de curativos oclusivos tornou-se popular na Segunda Guerra (ARTZ, 1970).

## 1.6 Utilização da Prata

A prata tem sido usada como um agente terapêutico há mais de 2000 anos, como evidenciado pela sua citação em muitos documentos históricos, incluindo o livro oficial romano de medicamentos (BOSTOCK, RILEY, 1855). Em 1000 a.C., as suas propriedades antimicrobianas foram atribuídas por manter a água potável (RICHARD, SPENCER, MCCOY, 2002; RUSSELL, HUGO, 1994). Em 400 a.C., Hipócrates fazia alusão à utilização na cicatrização de feridas. Os gregos e os nativos americanos usavam moedas de prata para desinfecção (FONG, WOOD, 2006; FONG, WOOD, FOWLER, 2005).

Segundo Klasen (2000a, 2000b) a prata iônica (Ag<sup>+</sup>) foi amplamente utilizada como um agente antimicrobiano no tratamento de feridas recentes, úlceras da pele e queimaduras desde tempos medievais, sendo a droga fundamental até a descoberta de antibióticos sintéticos. Por vários séculos, a prata foi identificada com propriedades bactericidas e propriedades medicinais (FU-REN, ALLEN, 2002), sendo utilizada como tratamento corriqueiro há mais de 200 anos (BURRELL, 2003; FONG, WOOD, FOWLER, 2005; ULKUR, 2005a).

No século XIX, ela entrava na composição de muitos remédios populares para tétano e reumatismo (FU-REN, ALLEN, 2002). Além disso, era usada para tratar epilepsia, doença venérea e úlceras em membros inferiores (FONG, WOOD, 2006; FONG, WOOD, FOWLER, 2005). Na primeira parte do século 20, estava em remédios para constipações e gonorréia antes do advento dos antibióticos (MIRSATTARI et al., 2004). No final do século 20, o nitrato de prata 1% foi introduzido como colírio nos recém-nascidos para diminuição de infecção neonatal (CHILDRESS et al., 2007; FONG, WOOD, 2006; FONG, WOOD, FOWLER, 2005).

No entanto, o interesse nos sais ou soluções de prata, para o tratamento de pacientes com queimaduras, desapareceu completamente em torno da 2ª Guerra Mundial (KLASEN, 2000a, 2000b). Levou muitos anos para reavivar o interesse até ressurgir como opção e tratamento viável para infecções encontradas em queimaduras, feridas abertas, e úlceras crônicas (GUPTA, MAYNES,

SILVER, 1998). O uso de compressas de nitrato de prata a 0,5%, empregada por Moyer, e o acetato de mafenide, por Moncrief, conduziu à nova era de agentes antibacterianos locais (HAYNES, 1971). Em 1968, Fox introduziu a sulfadiazina de prata a 1% em forma de creme, revolucionando o tratamento das queimaduras e reduzindo a incidência de infecção. Um dos sucessos das formulações tópicas é que apresentam menor toxicidade e maior ação local. Nas duas últimas décadas, com o advento e desenvolvimento da nanotecnologia, novas formulações de prata surgem como opção terapêutica para as queimaduras de espessura parcial (BURRELL, 2003; FONG, WOOD, 2006; GRAVANTE et al., 2009), todos com objetivo de prevenir a infecção e promover a epitelização.

A prata possui ação antisséptica, antimicrobiana e anti-inflamatória. É biologicamente ativa na sua forma solúvel, iônica ou não ( $Ag^+$  ou  $Ag^0$ ) e a forma  $Ag^0$  é presente nos compostos nanocristalinos. Os cátions de Ag ( $Ag^+$ ) apresentam potente efeito antimicrobiano por meio do bloqueio imediato da cadeia respiratória e destruição da membrana celular e parede bacteriana. Os cátions também se ligam ao DNA / RNA bacteriano, inibindo sua replicação celular (FONG, WOOD, 2006; ULKUR et al., 2005a, 2005b). É eficaz contra um amplo espectro de bactérias aeróbias, anaeróbias, gram positivas, gram negativas; além de atividade contra fungos e vírus (ULKUR et al., 2005a, 2005b). Gravante et al. (2009) realizaram uma meta-análise de cinco estudos prospectivos e randomizados comparando sulfadiazina de prata e/ou nitrato de prata à prata nanocristalina e concluíram que a última é superior às demais formulações (no que tange à infecção, assim como diminui as trocas de curativo, dor e ansiedade de pacientes).

A ação anti-inflamatória foi demonstrada com a prata nano em modelo animal e sua eficácia comparada a esteróides de alta potência como tacrolimus e pimecrolimus (BHOL, ALROY, SCHECHTER, 2004). O provável mecanismo de ação da prata nanocristalina é a supressão do TNF-alfa, interleucina-12, interleucina-8, além da indução de apoptose de células inflamatórias; sem afetar queratinócitos (BHOL, ALROY, SCHECHTER, 2004; MAZURAK et al., 2007; NADWORNÝ et al., 2008; ULKUR et al., 2005a, 2005b).

Nadworný et al. (2008), estudando dermatite de contato em modelo animal, encontraram nas feridas tratadas por sulfato de prata, maior nível de apoptose de células inflamatórias, bem como em fibroblastos e queratinócitos. Já no grupo tratado com prata nano, também ocorreu maior indução da apoptose de células inflamatórias, todavia, poupando queratinócitos. Observaram, também, que o efeito anti-inflamatório da prata nanocristalina independe da atividade antimicrobiana, pois age especificamente nas citocinas inflamatórias. Provavelmente, essa ação seja justificada pela apresentação  $Ag^0$  (FONG, WOOD, 2006; FONG, WOOD, FOWLER, 2005; NADWORNÝ et al., 2008). No entanto, deve ser enfatizado que nem todas as formas da prata são anti-inflamatórias. As propriedades anti-inflamatórias dependem do veículo de entrega, da concentração disponível e da duração da liberação (PADDOCK et al., 2002; WRIGHT et al., 2002).

Em relação as feridas crônicas, estas diferem das lesões agudas devido aos níveis extremos de metaloproteinases (MTP). A função da MTP é o controle da degradação da matriz extracelular, removendo tecidos danificados, permitindo a migração celular e angiogênese. Os elevados níveis dessa enzima proteolítica contribuem para a cronicidade das feridas, pois sua atividade excessiva leva à destruição da própria matriz (WRIGHT et al., 2002). Trengove et al. (1999) demonstraram que

o processo de cura das feridas crônicas (subentende-se redução de seus diâmetros) é atingido com a diminuição dos níveis de MTP. Esse estudo levou vários autores (BARRICK, CAMPBELL, OWEN, 1999; NADWORNÝ et al., 2008; YAGER, NWOMEH, 1999) a proporem que a diminuição da MTP seja o elo perdido entre a cura ou não de feridas crônicas. Com esse raciocínio em mente, Wright et al. (2002), estudando suínos, observaram que a prata nanocristalina apresenta a capacidade de modular a atividade da MTP, diminuindo seus níveis e, embora a sulfadiazina de prata libere as mesmas quantidades de prata, esta não apresenta a mesma capacidade. A explicação mais óbvia para essa aparente discrepância é a natureza das duas formulações. Além das formulações antigas perdem os íons rapidamente, sendo necessárias novas aplicações (por exemplo, a sulfadiazina de prata que necessita de 1 a 2 aplicações ao dia e o nitrato de prata mais de 12 ao dia).

É descrito, como mais uma vantagem, que a impregnação da prata nas membranas biológicas causa um discreto aumento na taxa de reepitelização em áreas doadoras comparado aos curativos convencionais, independente de sua ação antibacteriana (DEMLING, DESANTI, 2002). O enxerto de pele em malha consiste em modelo útil para estudar a reepitelização, pelas áreas abertas entre pontes de epitélio e derme no enxerto. Demling e DeSanti (2002) utilizaram este tipo de enxerto em 20 pacientes com 15 a 40% superfície corpórea queimada, demonstrando os efeitos de agentes tópicos sobre a taxa de reepitelização e concluíram que a exposição a prata nanocristalina sobre enxerto em malha aumentou a taxa de epitelização em comparação às soluções antibióticas tópicas.

Atualmente, curativos a base de prata são rotineiramente usados para o tratamento de queimaduras, mas fortes evidências de sua ação sobre a epitelização permanecem mal definidas. No Brasil, nas unidades de tratamentos de queimados, estão disponíveis curativos como: a sulfadiazina de prata (o mais usado e barato), malha de polietileno associado à prata nanocristalina, espuma de poliuretano associado à prata e hidrofibra de carboximetilcelulose associado à prata. Estes curativos apresentam diferentes liberações de íon prata quando em contato com a ferida, além de propiciarem diferentes proteções contra desidratação (BARRETT, 2009; WHITE, 2005; LOHANA, POTOKAR, 2006). Estes curativos podem ser mudados com menor frequência, reduzindo assim o risco de infecção nosocomial, custos gerais, mais danos aos tecidos e desconforto do paciente (INNES et al., 2001; SHERIDAN et al., 1997). Apesar das muitas opções disponíveis, não há claras evidências científicas que justifiquem o uso de um curativo específico. Wasiak, Cleland e Campbell (2008), em uma revisão sistemática, avaliando 26 estudos controlados e randomizados em humanos, concluiu que todos apresentavam importantes limitações na metodologia e não há evidência que suporte o uso de sulfadiazina de prata. Principalmente pela heterogenicidade das queimaduras e da população estudada.

Dessa forma, não há na literatura publicações que avaliem alguns aspectos de fundamental importância como a epitelização, a deposição e a formação colágena na ferida sob os diferentes tratamentos (WASIAK, CLELAND, CAMPBELL, 2008). Conforme se verifica na literatura, há a necessidade de maiores estudos sobre os aspectos cicatriciais em lesões pós-queimadura frente a escolha e utilização de diferentes curativos pela equipe médica em unidades de queimados. Assim, a avaliação comparativa quanto ao tempo de cicatrização e diversos aspectos cicatriciais da lesão (como: epitelização; área cicatrizada; infiltrado inflamatório; neoformação vascular; proliferação

fibroblástica e fibras elásticas) devem ser melhor elucidadas para compor protocolos e orientações para seleção e utilização dos diferentes tratamentos. Da mesma forma, o entendimento do binômio “tempo de cicatrização e curativo utilizado” pode proporcionar redução do tempo de hospitalização e diminuição dos custos do tratamento. Além disso, pode ajudar a equipe médica na escolha dos diferentes curativos.

Assim, diversos cirurgiões plásticos e outros profissionais que trabalham em unidades de queimados, sentem que existe um elo que pode ser melhor estudado na pesquisa básica; com queimaduras padronizadas tratadas sob diferentes curativos: que curativo de prata proporciona uma melhor e mais rápida epitelização.

## **2 OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo geral**

O presente trabalho tem como objetivo geral a avaliação histopatológica das feridas de segundo grau por escaldamento em ratos, após diferentes tratamentos à base de prata.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Avaliar macroscopicamente a evolução da queimadura;
- Avaliar a intensidade, em análise histopatológica, da epitelização, da neoformação vascular, da proliferação fibroblástica, das fibras elásticas e do colágeno jovem.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Animais

O presente trabalho seguiu o protocolo de manuseio dos animais conforme as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e as normas do Council for International Organization of Medical Sciences (CIOMS); após avaliação e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA). Aprovado pelo CEUA/ULBRA (protocolo 2011- 54P).

Foram utilizados 45 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) adultos, machos, com peso variando entre 230 e 260g. Os animais foram obtidos da Anilab (Paulínia, SP) e ambientados no Biotério de Farmacologia da Universidade de Sorocaba, recebendo ração industrial (Labina<sup>®</sup>) adquirida de fornecedor qualificado (Pet Shop Canino's Ltda) e água "ad libitum". Em um ambiente padronizado, foi controlada e registrada a temperatura ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e a umidade ( $45\% \pm 15\%$ ). Foram mantidos em gaiolas individuais (1 rato por gaiola) com microambiente livre de contaminação externa (Sistema Micro Ambiental - Smaflex<sup>®</sup>), com exaustão apropriada e ventilação individual diretamente no interior da gaiola (figura 2). A maravalha utilizada como cama para os ratos é livre de substâncias químicas, sendo a madeira macia e absorvente, de *Pinus elliotii* e *Eucalyptus sp* esterilizados, sem marca específica. As gaiolas foram devidamente protegidas da ação direta da luz (lâmpadas frias) com ciclos de 12/12h de claro e escuro.

O período de acompanhamento foi de 24 dias com avaliações diárias após o procedimento. Considerando o dia da queimadura como dia 0 (zero), os ratos foram sacrificados nos dias 1<sup>o</sup>, 2<sup>o</sup>, 4<sup>o</sup>, 6<sup>o</sup>, 9<sup>o</sup>, 12<sup>o</sup>, 18<sup>o</sup>, 21<sup>o</sup> e 24<sup>o</sup> dia (em séries de 5 ratos, um de cada grupo) com dose letal de tiopental sódico; sendo dissecada a pele da área queimada, acondicionada em frascos apropriados (solução de formaldeído 10% tamponado) e encaminhada para análise histopatológica.

**Figura 2 - Sistema micro ambiental**



Fonte: Elaboração própria.

### 3.2 Indução da lesão por queimadura de segundo grau

Para a indução da lesão seguiu-se o método descrito por Walker e Mason (1968), ainda utilizado como melhor método para indução de escaldado. Cada animal foi submetido a anestesia e bloqueio neuromuscular prévio a execução da queimadura, sendo utilizados o cloridrato de cetamina (anestésico geral na dose de 100mg/Kg) e o cloridrato de xylasina (relaxante muscular na dose de 6mg/Kg). Os animais foram epilados no dorso numa área de 3x3 cm que, imediatamente, foi colocada em contato com água a 70°C por 10 segundos ( Figura 3).

Este método produz queimaduras de 2º grau; consistindo em modelo padrão utilizando-se um becker contendo 800 mL de água mantida a 70°C por meio de manta térmica elétrica. O início do tratamento foi 30 minutos após a queimadura.

**Figura 3 - Procedimentos para indução de queimadura de segundo grau por escaldado. (WALKER; MASON, 1968)**



Fonte: Elaboração própria.

### 3.3 Cálculo da Superfície corpórea do rato Wistar.

Segundo Varó et al. (1988), a fórmula para cálculo de superfície corpórea do rato Wistar (em  $\text{cm}^2$ ) é  $SC = K \cdot \sqrt[3]{P^2}$  (podendo variar 3% no total) onde K é constante 10,65 e P equivale ao peso médio do rato em gramas.

### 3.4 Fármacos e Medicamentos

A administração de fármacos foi tópica por meio de curativos com período de trocas variável. A figura 4 indica as diferentes apresentações de curativos à base de prata.

1. Solução Fisiológica 0,9% (Grupo Controle) – troca a cada 3 dias;
2. creme de Sulfadiazina de Prata a 1% (Dermazine<sup>®</sup>, Silvestre Laboratório Química e Farmacêutica Ltda)- troca diária ( figura 4a);
3. Espuma macia hidrofílica de poliuretano revestida com uma camada de contato de silicone(Mepilex<sup>®</sup> Ag, Mölnlycke Health Care) – troca a cada 3 dias (figura 4b);

4. Hidrofibra de carboximetilcelulose associado a Prata (Aquacel<sup>®</sup> Ag, ConvaTec) – troca a cada 3 dias ( figura 4c);
5. Malha de Polietileno(dupla camada) de alta densidade impregnada com prata nanocristalina,com uma camada de gaze rayon/polyester no meio (Acticoat<sup>®</sup>, Smith&Nephew) – troca a cada 3 dias (figura 4d);

**Figura 4 - Formas de apresentação de curativos à base de prata utilizados em queimaduras.**



Fonte: Elaboração própria.

### 3.5 Curativos

O primeiro tratamento pós-queimadura foi realizado com os animais anestesiados; sendo que os diversos curativos utilizados permitem conforto pós-operatório livre de dor e com ação analgésica e anti-inflamatória local (BHOL; SCHECHTER, 2005; NADWORNÝ et al., 2008). Os demais curativos foram trocados com o animal em estado vigíl; sem a necessidade de sedação ou analgesia porque, além da área queimada ser mínima, atuamos 24h após o trauma – tempo em que a resposta inflamatória e estímulo doloroso passam a ser toleráveis e mínimos. Mesmo assim, os curativos oclusivos permitem alívio, livre de sofrimento ou dor. Todos os curativos foram fixados ao animal com malha tubular elástica da marca POOLFIX<sup>®</sup> (número 2, calibre 17mm, composição de 24% de Elastodieno recoberto com 76% Poliamida).A figura 5 mostra aplicação dos diferentes tratamentos.

**Figura 5 - Diferentes tratamentos da queimadura de segundo grau por escaldamento**



Fonte: Elaboração própria.

### 3.6 Análise histopatológica da área queimada

A pele queimada foi acondicionada em frascos apropriados (solução de formaldeído 10% tamponado) e encaminhada para análise histopatológica; cortados com 5  $\mu$ m de espessura, com micrótomo da marca Aotec<sup>®</sup> modelo 820 (AMERICAN OPTICAL, 1995) e montados em lâminas de acordo com a técnica clássica de cortes em parafina (MICHALANY, 1990). Para análise histopatológica, o tecido foi corado com Hematoxilina-eosina (HE), Tricrômico de Masson (TM) e Orceína. A hematoxilina é uma base que cora, preferencialmente, componentes ácidos das células em um tom azulado escuro. Como os componentes ácidos mais abundantes são o DNA e o RNA, tanto o núcleo, quanto certas partes do citoplasma, se tornam azulados. A eosina, ao contrário, é um ácido que cora as estruturas básicas da célula de rosa que são abundantes no citoplasma. As colorações para demonstração dos tecidos conjuntivos são colorações tricrômicas. O termo coloração tricrômica é o nome geral para técnicas que evidenciam o músculo, fibras de colágeno, fibrina e eritrócitos. São utilizados três corantes um dos quais é usado como corante nuclear. Assim, o tricrômico de masson cora o núcleo de azul escuro, o citoplasma e o músculo de vermelho e o colágeno de azul. Uma das colorações que permitem visualizar as fibras elásticas é o método da Orceína. Este método cora as fibras elásticas de marrom a vermelho-escuro; o mecanismo de coloração das fibras elásticas pela solução corante não está elucidado (GARTNER; HIATT, 1999).

Toda a análise foi realizada no Serviço de Patologia da Pontifícia Universidade Católica de SP - Sorocaba, por um mesmo médico patologista que desconhecia de qual grupo provinha o corte histológico, tendo acesso apenas a informação do tempo de evolução da queimadura. A análise foi realizada através da microscopia de luz, com microscópio Nikon<sup>®</sup> Eclipse 200. Os critérios de

avaliação foram: 1) epitelização; 2) extensão da área cicatrizada; 3) infiltrado inflamatório crônico; 4) neoformação vascular; 5) proliferação fibroblástica, 6) fibras elásticas e 7) colágeno jovem. Para cada critério avaliado, foi atribuído uma nota (de 0 a 5) conforme a sua maior intensidade na lâmina histológica, com pontuação de 0 (nenhuma representação), 1 (até 20% do aspecto avaliado), 2 (20 a 40%), 3 (40 a 60%), 4 (60 a 80%) e 5 (>80%). O registro fotográfico de todas as lâminas histológicas foi realizado por análise de imagem do software NIS Elements AR – Advanced Research<sup>®</sup>.

### **3.7 Análise estatística**

Para elaboração deste estudo foram observados animais submetidos a queimadura de 2º grau com área de 3cm x 3cm, sendo os ratos divididas em 5 grupos de tratamento da ferida, controle (soro fisiológico), Aquacel<sup>®</sup>, Mepilex<sup>®</sup>, Actcoat<sup>®</sup> e Dermazine<sup>®</sup>. Os ratos foram sendo sacrificados ao longo do tempo, sendo que a cada dia de sacrifício (1º, 2º, 4º, 6º, 9º, 12º, 18º, 21º e 24º dias) foi sacrificado um rato de cada grupo. Foram aferidos parâmetros de avaliação da cicatrização, conforme as notas atribuídas variando de 0 (pior situação) a 5 (melhor situação) para cada parâmetro. O objetivo da análise foi verificar se houve diferença nos parâmetros de cicatrização avaliados entre os grupos de tratamento.

Foram descritas as notas atribuídas a cada parâmetro segundo grupos com uso de médias e desvios padrões (KIRKWOOD, STERNE, 2006). Os grupos foram comparados para cada parâmetro com uso de análises de variâncias (ANOVA) com dois fatores (NETER et al., 1996), sendo grupos e dias de sacrifício, as estimativas dos parâmetros foram realizadas com método de mínimos quadrados para evitar problemas com a ausência de normalidade de distribuição das notas. O dia de sacrifício entrou na análise apenas para controle na comparação entre os grupos. Foram utilizadas comparações múltiplas de Tukey (NETER et al., 1996) quando necessárias para comparação dos grupos dois a dois.

Os resultados foram ilustrados com uso de gráficos de barras, representando as médias das notas com os respectivos erros padrões (segundo grupos) e os testes foram realizados com nível de significância de 5%. Todas as análises foram feitas utilizando-se o programa IBM<sup>®</sup> SPSS Statistics 20.0.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Experimento 1: Relação entre a área corpórea do rato e a superfície corpórea queimada.

A figura 6 ilustra a proporção entre as áreas corpórea e queimada do rato. Considerando-se 245g o peso médio dos ratos e a fórmula para o cálculo da superfície corpórea como  $SC = 10,65 \cdot \sqrt[3]{\text{peso médio do rato}^2}$ ; tem-se como resultado aproximadamente  $416,94\text{cm}^2$  para superfície corpórea total do rato. Dessa forma, a queimadura provocada em nosso experimento ( $9\text{cm}^2$ ) equivale a 2,1% da área corpórea.

$\sqrt[3]{\text{peso médio do rato}^2}$ ; tem-se como resultado aproximadamente  $416,94\text{cm}^2$  para superfície corpórea total do rato. Dessa forma, a queimadura provocada em nosso experimento ( $9\text{cm}^2$ ) equivale a 2,1% da área corpórea.

**Figura 6 - Proporção entre área corpórea e área queimada (  $3 \times 3\text{cm}^2$  em vermelho)**



Fonte: Elaboração própria.

### 4.2 Experimento 2: Observação macroscópica da lesão tratada com os diferentes tipos de curativo.

Os ratos foram divididos em 5 grupos de 8 animais cada, estes foram anestesiados e submetidos ao processo de queimadura. A ferida foi avaliada macroscópicamente antes do sacrifício, nos dias: 1<sup>o</sup>, 2<sup>o</sup>, 4<sup>o</sup>, 6<sup>o</sup>, 9<sup>o</sup>, 12<sup>o</sup>, 18<sup>o</sup>, 21<sup>o</sup> e 24<sup>o</sup>. Todas as feridas apresentaram características semelhantes como pequena exsudação e hiperemia em bordas. Nenhum dos ratos avaliados apresentou infecção grave na ferida ou qualquer outra condição adversa ao processo cicatricial. Pequenas áreas com características infecciosas e sinais flogísticos ocorreram nas bordas da área queimada de alguns ratos, nos diferentes curativos utilizados, devido a movimentação do rato e provável deslocamento do curativo. No entanto, mesmo nessas áreas a cicatrização foi o evento final. As feridas apresentaram-se cicatrizadas entre o 9<sup>o</sup> e 12<sup>o</sup> dia, sem preponderância de um curativo específico nas feridas avaliadas.

A figura 7 mostra a evolução das lesões nos dias 2<sup>o</sup>, 6<sup>o</sup> e 18<sup>o</sup> para os diferentes tratamentos.

**Figura 7 - Evolução das lesões de queimaduras de 2º grau por escaldado em ratos tratados com curativos a base de prata**





Fonte: Elaboração própria.

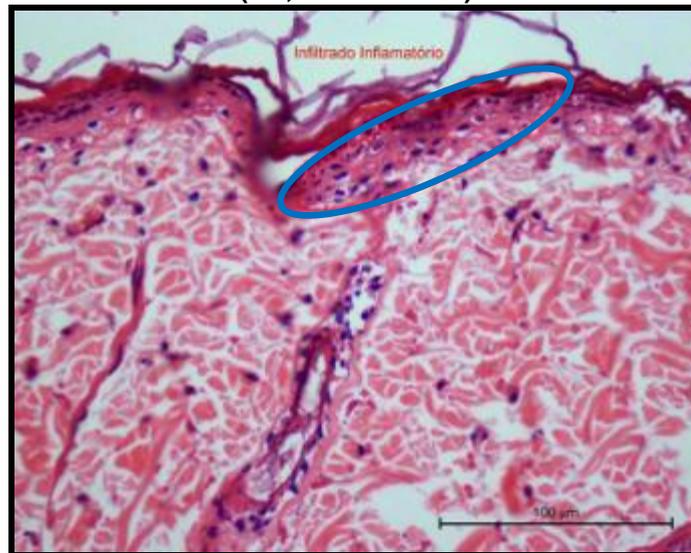
#### 4.3 Experimento 3: Análise microscópica da lesão tratada com os diferentes curativos.

Foram avaliadas cinco amostras de tecido a cada dia de sacrifício (1º, 2º, 4º, 6º, 9º, 12º, 18º, 21º e 24º dias), as quais foram identificadas com códigos numéricos, permitindo apenas a identificação do dia pós-queimadura. Verificou-se que a profundidade da lesão causada pela queimadura variou desde a epiderme até casos que a necrose se estendeu a derme profunda, porém a maioria apresentava lesão uniforme na derme superficial. Foram avaliados parâmetros considerados relevantes para a comparação das feridas: 1) epiteliação; 2) infiltrado inflamatório 3) extensão da área cicatrizada; 4) neoformação vascular; 5) proliferação fibroblástica, 6) fibras elásticas e 7) colágeno jovem. Todos receberam notas variando de 0 a 5.

Sendo assim, o grau de epiteliação foi verificado pelo número de camadas da epiderme e também pela queratinização completa. A intensidade do infiltrado inflamatório (presença de células inflamatórias) foi irregular nas amostras, porém diretamente relacionado à extensão da lesão inicial. A extensão da área cicatrizada e da formação do tecido de granulação (neoformação vascular) foi crescente em todas as amostras conforme o dia de evolução. Pelo método do Tricrômico de Masson foi feita a avaliação da qualidade e intensidade do colágeno. O método da Orceína demonstrou que fibras elásticas foram destruídas pelo calor e parcialmente regeneradas com o passar do tempo, apesar de perderem a arquitetura característica da pele sã.

As figuras de 8 a 20 ilustram os achados histológicos mais frequentes para infiltrado inflamatório, aspecto geral da área lesada, cicatriz, neoformação vascular, aspecto da epitelização, fibras colágenas e elásticas.

**Figura 8 - Grupo controle - 2º dia, discreta presença de infiltrado inflamatório (HE, aumento 40x)**



Fonte: Elaboração própria.

A área circulado em azul indica a presença discreta de infiltrado inflamatório nas amostras tratadas com soro fisiológico. As demais amostras tratadas com curativos à base de prata apresentaram maior intensidade de células inflamatórias

**Figura 9 - Grupo Acticoat® no 2º dia com inflamação intensa (HE, aumento 40x)**



Fonte: Elaboração própria.

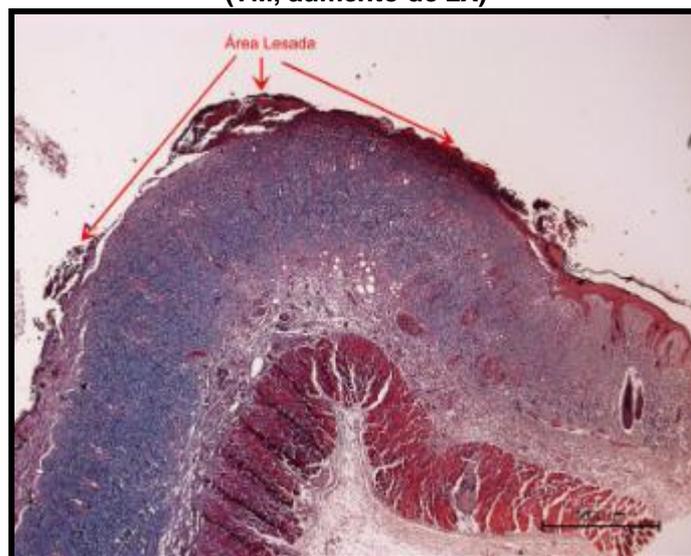
**Figura 10 - Grupo controle 4º dia: Extensão da área lesada (HE, aumento de 2X)**



Fonte: Elaboração própria.

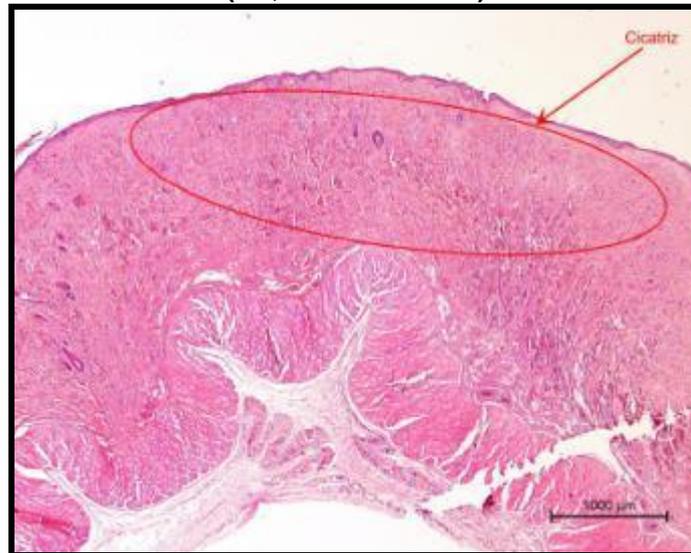
A extensão da lesão foi semelhante em todos os grupos, com lesão de espessura parcial da derme (Fotos 10 e 11).

**Figura 11 - Grupo controle no 21º dia, visão geral da área lesada (TM, aumento de 2X)**



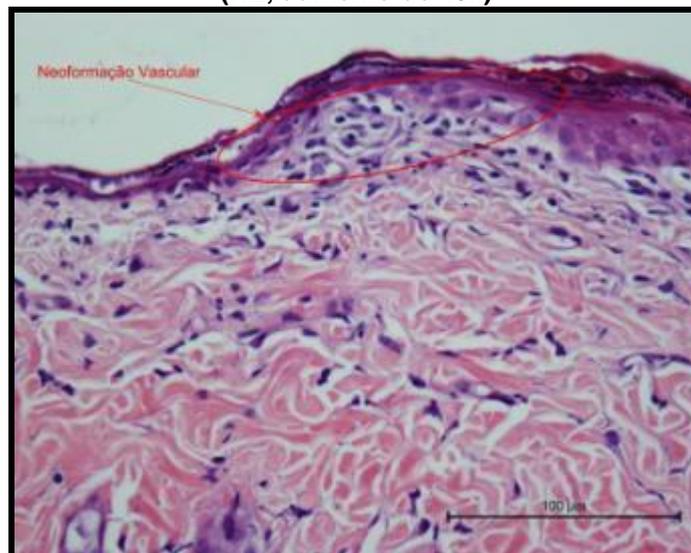
Fonte: Elaboração própria.

**Figura 12 - Grupo controle no 9º dia, apresentando cicatriz e área epitelizada, (HE, aumento de 2X)**



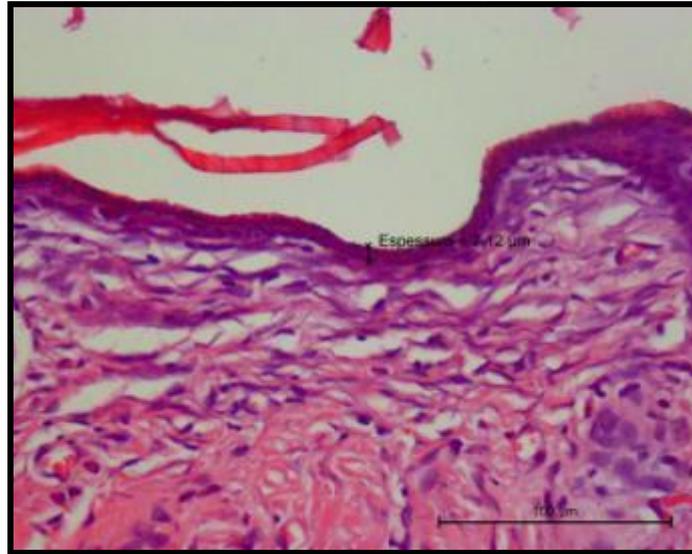
Fonte: Elaboração própria.

**Figura 13 - Grupo controle no 6º dia, apresentando neoformação vascular discreta (HE, aumento de 40x)**



Fonte: Elaboração própria.

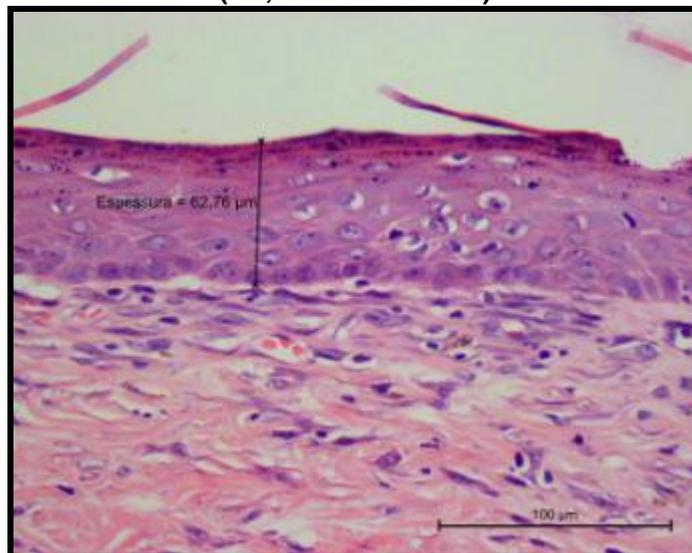
**Figura 14 - Grupo controle no 18º dia, com epiteliação discreta (HE, aumento de 40x)**



Fonte: Elaboração própria.

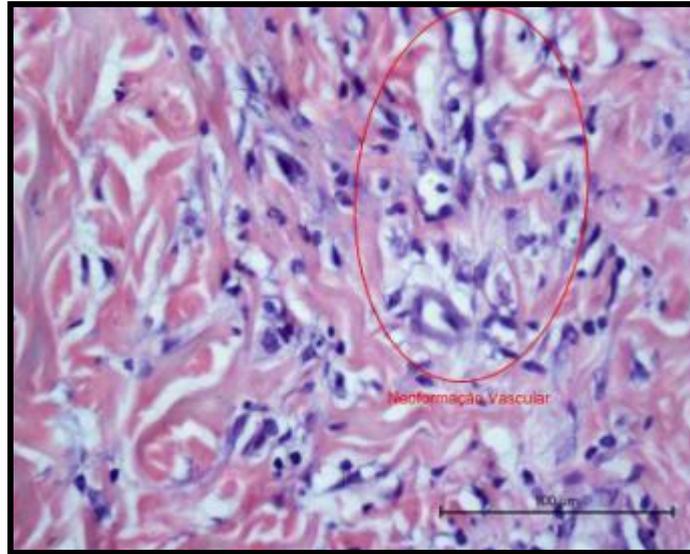
Comparando-se a figura 14 que foi a espessura epitelial mais encontrada, com a figura 15 ( amostra isolada com maior espessura), nota-se uma diferença de mais 55µm.

**Figura 15 - Grupo Acticoat® no 18º, com epiteliação intensa (HE, aumento de 40x)**



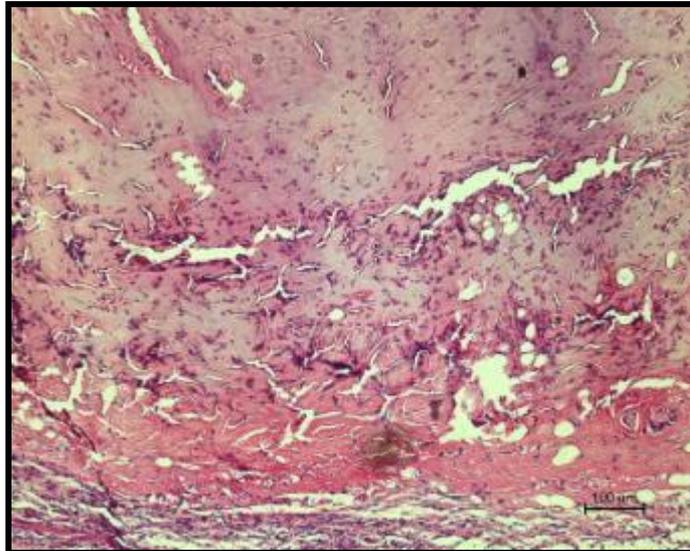
Fonte: Elaboração própria.

**Figura 16 - Grupo Acticoat® no 6º dia, neovascularização intensa mostrando em roxo as células endoteliais (aumento de 40x)**



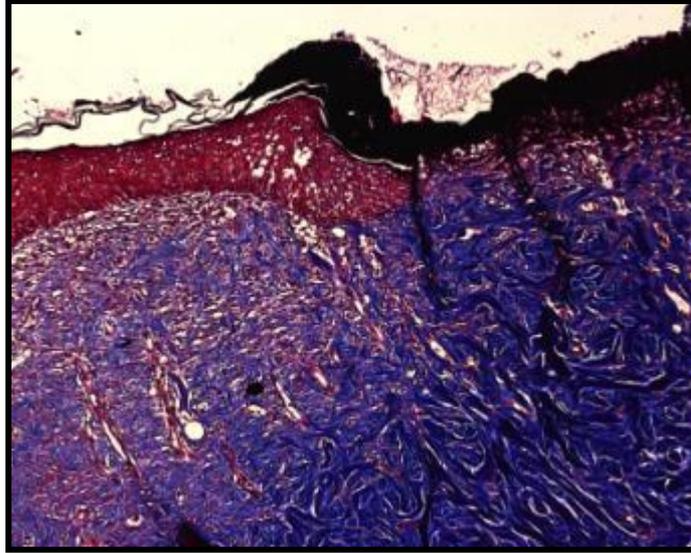
Fonte: Elaboração própria.

**Figura 17 - Grupo Sulfadiazina de Prata no 9º dia, mostrando cicatriz e tecido de granulação (aumento de 10x)**



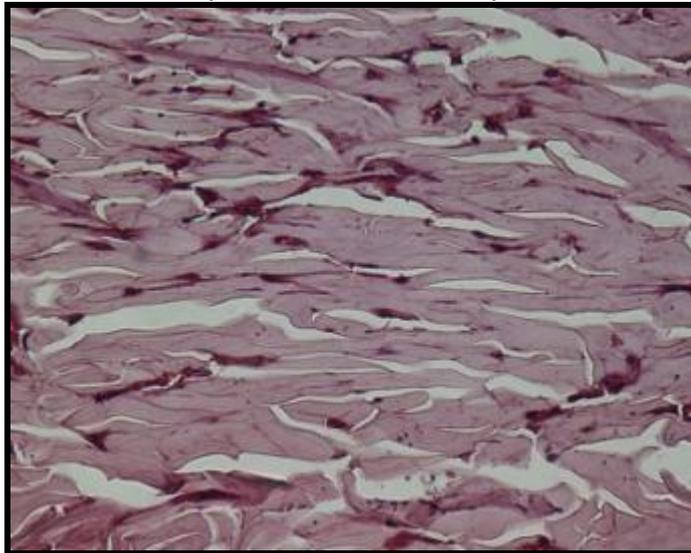
Fonte: Elaboração própria.

**Figura 18 - Grupo Aquacel® no 12º dia, fibras colágenas novas em azul mais intenso a direita ( TM, 40x)**



Fonte: Elaboração própria.

**Figura 19 - Grupo Mepilex® no 18º dia, fibras elásticas (Orseína, aumento 40x)**

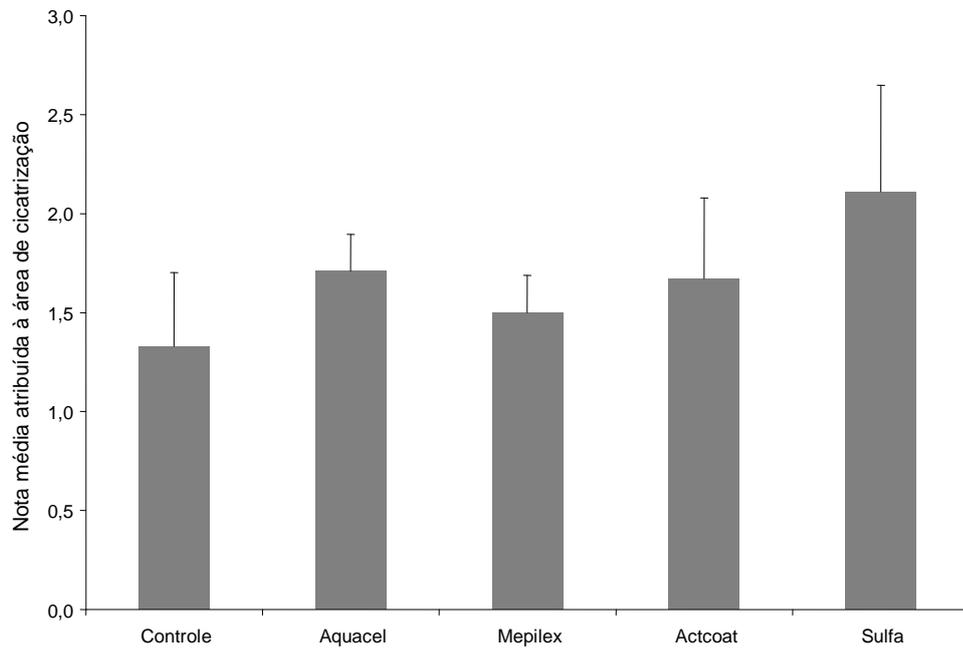


Fonte: Elaboração própria.

#### **4.4 Experimento 4: Comparação entre notas atribuídas para cada tratamento à base de prata**

Os gráficos representam as notas médias atribuídas a cada parâmetro estudado dentro dos grupos, independente do dia de evolução. O Gráfico 1 mostra notas à área de cicatrização bastante semelhantes entre os grupos.

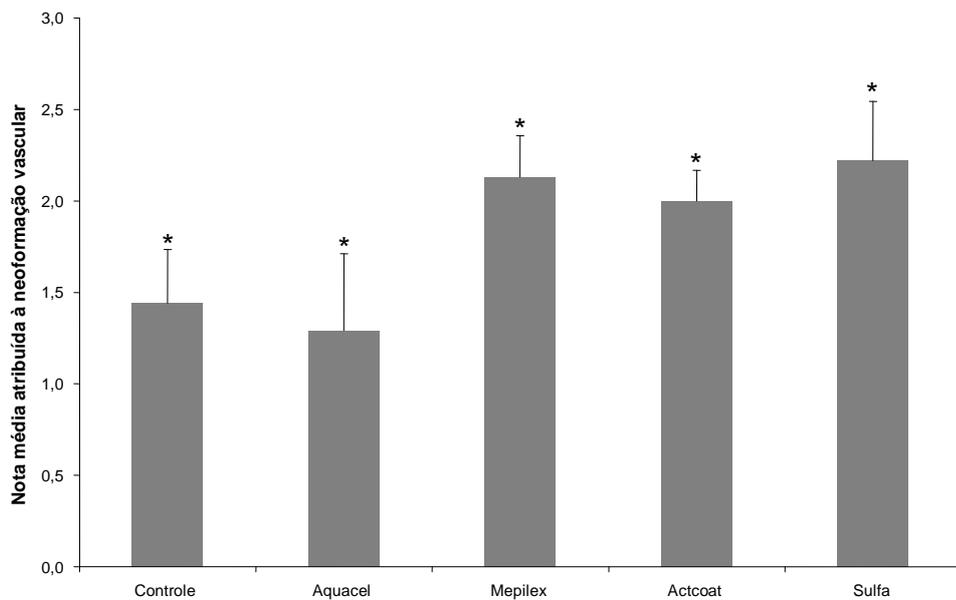
**Gráfico 1 - Notas atribuídas à área de cicatrização para os diferentes grupos tratados à base de prata (Média +/- erros padrões das notas segundo grupos;  $p > 0.05$ , Teste de Tukey,  $n = 9$ ).**



Fonte: Elaboração própria.

O gráfico 2 e a tabela 1 mostram que os ratos do grupo controle e do grupo Aquacel® apresentaram menores notas de neoformação vascular.

**Gráfico 2 - Notas atribuídas à neoformação vascular segundo grupos (Média +/- erro padrão das notas segundo grupos;  $*p < 0.05$ , Teste de Tukey,  $n = 9$ ).**



Fonte: Elaboração própria.

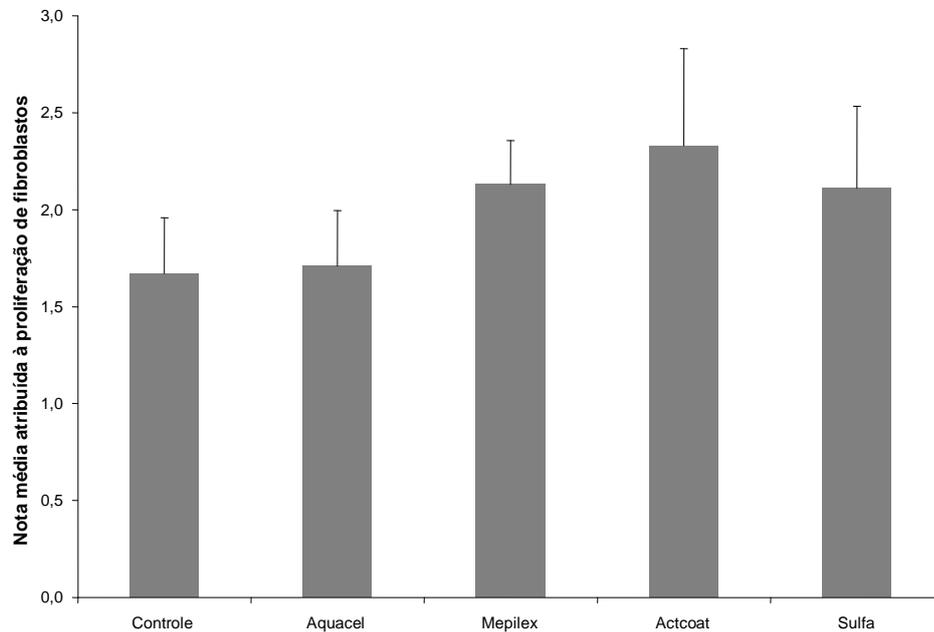
**Tabela 1 - Notas atribuídas para presença de neoformação vascular segundo análise histopatológica em lesões tratadas à base de prata.**

Rato	Neoformação Vascular				
	Soro Fisiol.	Aquacel®	Mepilex®	Acticoat®	Dermazine®
1º dia	0	0	1	1	2
2º dia	0	0	2	2	2
4º dia	1	1	2	2	2
6º dia	2	0	3	2	3
9º dia	2	1	3	3	2
12º dia	2	2	2	2	3
18º dia	2	2	2	2	0
21º dia	2	3	2	2	3
24º dia	2	2	2	2	3

Fonte: Elaboração própria.

O Gráfico 3 mostra que não houve diferenças entre os grupos nas notas atribuídas a proliferação de fibroblastos.

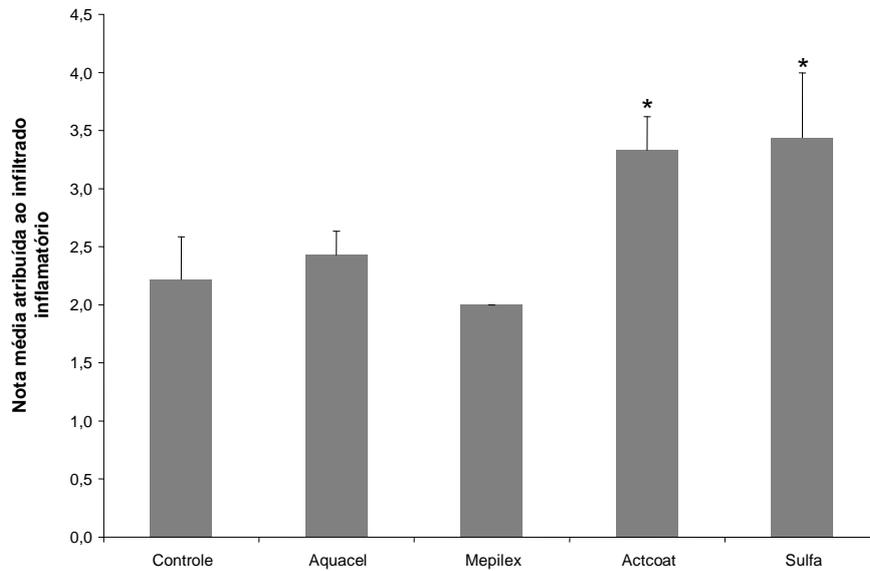
**Gráfico 3 - Notas atribuídas à proliferação de fibroblastos segundo grupos (Média +/- erro padrão das notas segundo grupos;  $p > 0.05$ , Teste de Tukey,  $n=9$ ).**



Fonte: Elaboração própria.

O Gráfico 4 e a Tabela 2 mostram menor nota de infiltrado inflamatório no grupo controle e grupo tratado com Mepilex® em relação aos outros grupos.

**Gráfico 4 – Notas atribuídas a infiltrado inflamatório nos diferentes grupos (Média +/- erros padrões; \*p<0.05, Teste de Tukey, n=9.)**



Fonte: Elaboração própria.

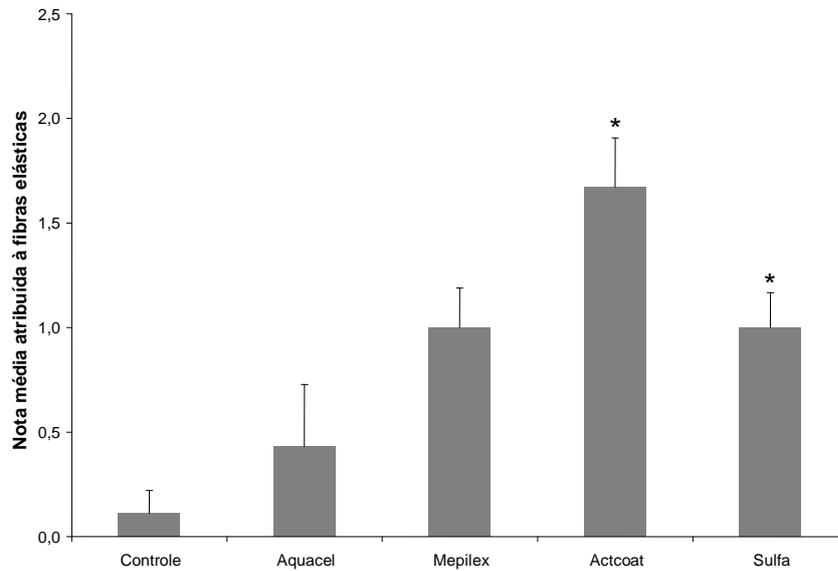
**Tabela 2–Notas para presença de infiltrado inflamatório segundo análise histopatológica em lesões tratadas à base de prata.**

Rato	Infiltrado Inflamatório				
	Soro Fisiol.	Dermazine®	Mepilex®	Aquacel®	Acticoat®
1º dia	1	1	2	2	3
2º dia	1	4	2	2	4
4º dia	3	4	2	2	4
6º dia	3	5	2	0	3
9º dia	3	5	2	3	5
12º dia	1	5	2	3	3
18º dia	2	1	2	2	2
21º dia	4	4	2	3	3
24º dia	1	2	2	2	3

Fonte: Elaboração própria.

O Gráfico 5 e a Tabela 3 mostram maiores notas de fibras elásticas nos ratos tratadas com Actcoat®.

**Gráfico 5 - Notas atribuídas à fibras elásticas nos diferentes grupos (média +/- erros padrões das notas segundo grupos; \* $p < 0.05$ , Teste de Tukey,  $n=9$ .)**



Fonte: Elaboração própria.

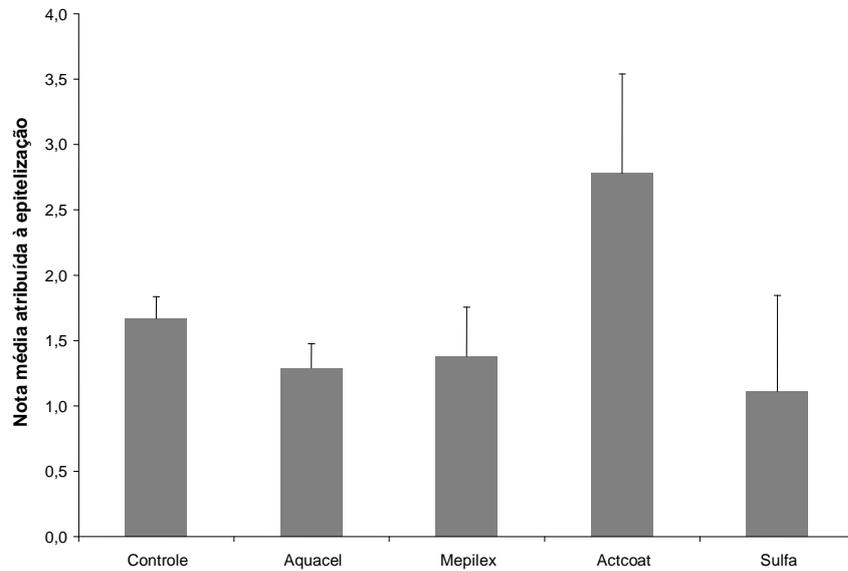
**Tabela 3—Notas atribuídas para presença de fibras elásticas segundo análise histopatológica em lesões tratadas à base de prata.**

Rato	Fibras Elásticas				
	Soro Fisiol.	Aquacel®	Mepilex®	Acticoat®	Dermazine®
1º dia	0	0	0	3	2
2º dia	0	0	1	2	1
4º dia	0	0	1	2	1
6º dia	0	0	2	2	0
9º dia	0	0	1	1	1
12º dia	0	0	1	2	1
18º dia	0	0	1	1	1
21º dia	0	1	1	1	1
24º dia	0	2	1	1	1

Fonte: Elaboração própria.

Observa-se pelo Gráfico 6, que os ratos tratados com Actcoat® apresentam maior nota de epitelização em relação aos demais grupos.

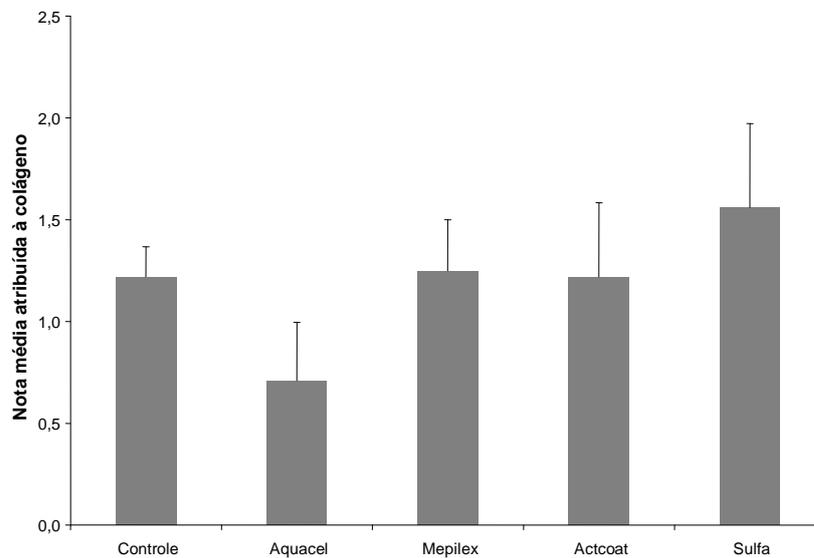
**Gráfico 6 - Notas atribuídas à epitelização nos diferentes grupos (Média +/- erros padrões das notas segundo grupos;  $p>0.05$ , Teste de Tukey,  $n=9$ ).**



Fonte: Elaboração própria.

Não há diferença estatisticamente significativa entre as notas atribuídas a presença de colágeno jovem entre os grupos como é apresentado pelo Gráfico 7.

**Gráfico 7 - Notas atribuídas à colágeno jovem nos diferentes grupos (média +/- erros padrões das notas segundo grupos;  $p>0.05$ , Teste de Tukey,  $n=9$ ).**



Fonte: Elaboração própria.

**Tabela 4 - Descrição das notas atribuídas aos parâmetros avaliados segundo grupos e resultado dos testes comparativos para os diferentes tratamentos à base de prata.**

Variável	Grupo															p
	Controle			Aquacel			Mepilex			Actcoat			Sulfa			
	Média	DP	N	Média	DP	N	Média	DP	N	Média	DP	N	Média	DP	N	
Area cicatrizada	1,33	1,12	9	1,71	0,49	9	1,50	0,54	9	1,67	1,23	9	2,11	1,62	9	0,397
Neoformação vascular	1,44	0,88	9	1,29	1,11	9	2,13	0,64	9	2,00	0,50	9	2,22	0,97	9	<b>0,043</b>
Proliferação fibroblastos	1,67	0,87	9	1,71	0,76	9	2,13	0,64	9	2,33	1,50	9	2,11	1,27	9	0,460
Infiltrado inflamatório	2,22	1,09	9	2,43	0,54	9	2,00	0,00	9	3,33	0,87	9	3,44	1,67	9	<b>0,004</b>
Fibras elásticas	0,11	0,33	9	0,43	0,79	9	1,00	0,54	9	1,67	0,71	9	1,00	0,50	9	<b>&lt;0,001</b>
Epitelização	1,67	0,50	9	1,29	0,49	9	1,38	1,06	9	2,78	2,28	9	1,11	2,21	9	0,183
Colágeno jovem	1,22	0,44	9	0,71	0,76	9	1,25	0,71	9	1,22	1,09	9	1,56	1,24	9	0,476

Resultados ajustados para o dia de sacrifício

Fonte: Elaboração própria.

A Tabela 4 mostra que as notas médias atribuídas aos parâmetros de neoformação vascular, infiltrado inflamatório e fibras elásticas diferem estatisticamente entre os grupos de tratamento ( $p < 0,05$ ); para os demais parâmetros não há diferença média estatisticamente significativa nas notas atribuídas entre os grupos ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 5 - Resultado das comparações múltiplas entre os grupos para os parâmetros que apresentaram diferenças nas notas ( Teste de Tukey,  $p < 0,05$  ).**

Variável	Comparação	Diferença média	Erro padrão	p	IC (95%)	
					Inferior	Superior
Neoformação vascular	Controle - Aquacel	0,16	0,34	0,990	-0,84	1,15
	Controle - Mepilex	-0,68	0,33	0,264	-1,64	0,28
	Controle - Actcoat	-0,56	0,32	0,430	-1,49	0,38
	Controle - Sulfa	-0,78	0,32	0,136	-1,71	0,15
	Aquacel - Mepilex	-0,84	0,35	0,148	-1,86	0,18
	Aquacel - Actcoat	-0,71	0,34	0,253	-1,71	0,28
	Aquacel - Sulfa	-0,94	0,34	0,073	-1,93	0,06
	Mepilex - Actcoat	0,13	0,33	0,995	-0,83	1,08
	Mepilex - Sulfa	-0,10	0,33	0,998	-1,06	0,86
Infiltrado inflamatório	Actcoat - Sulfa	-0,22	0,32	0,956	-1,15	0,71
	Controle - Aquacel	-0,21	0,45	0,990	-1,52	1,10
	Controle - Mepilex	0,22	0,43	0,986	-1,04	1,48
	Controle - Actcoat	-1,11	0,42	0,090	-2,34	0,11
	Controle - Sulfa	-1,22	0,42	0,051	-2,45	0,00
	Aquacel - Mepilex	0,43	0,46	0,884	-0,92	1,77
	Aquacel - Actcoat	-0,90	0,45	0,287	-2,21	0,40
	Aquacel - Sulfa	-1,02	0,45	0,189	-2,33	0,29
	Mepilex - Actcoat	-1,33	0,43	<b>0,035</b>	-2,60	-0,07
Fibras elásticas	Mepilex - Sulfa	-1,44	0,43	<b>0,019</b>	-2,71	-0,18
	Actcoat - Sulfa	-0,11	0,42	0,999	-1,34	1,11
	Controle - Aquacel	-0,32	0,32	0,862	-1,26	0,62
	Controle - Mepilex	-0,89	0,31	0,057	-1,80	0,02
	Controle - Actcoat	-1,56	0,30	<b>&lt;0,001</b>	-2,44	-0,67
	Controle - Sulfa	-0,89	0,30	<b>0,047</b>	-1,77	-0,01
	Aquacel - Mepilex	-0,57	0,33	0,440	-1,54	0,40
	Aquacel - Actcoat	-1,24	0,32	<b>0,005</b>	-2,18	-0,30
	Aquacel - Sulfa	-0,57	0,32	0,413	-1,51	0,37
	Mepilex - Actcoat	-0,67	0,31	0,234	-1,58	0,24
	Mepilex - Sulfa	0,00	0,31	1,000	-0,91	0,91
	Actcoat - Sulfa	0,67	0,30	0,209	-0,21	1,55

Fonte: Elaboração própria.

A Tabela 5 mostra que, apesar da diferença estatisticamente significativa nas notas de neoformação vascular entre os grupos ( $p = 0,043$ ) (Tabela 1), não foi possível identificar qual grupo difere dos demais, mas sugere que os ratos tratados com sulfadiazina de prata apresentam maior nota (média) que os ratos tratados com Aquacel<sup>®</sup> ( $p = 0,073$ ). As notas médias de infiltrado inflamatório foram estatisticamente maiores nos ratos tratados com sulfadiazina de prata e com Actcoat<sup>®</sup> que nos ratos tratados com Mepilex<sup>®</sup> ( $p = 0,035$  e  $p = 0,019$  respectivamente). Já as notas médias para as fibras elásticas foram estatisticamente maiores nos grupos Actcoat<sup>®</sup> e sulfadiazina de prata com relação ao controle ( $p < 0,001$  e  $p = 0,047$ ) e foram em média estatisticamente maiores no grupo Actcoat<sup>®</sup> que no grupo Aquacel<sup>®</sup> ( $p = 0,005$ ).

## 5 DISCUSSÃO

Os pacientes que sofrem queimaduras apresentam um largo espectro de gravidade da lesão; dependendo da profundidade da ferida e a área de superfície do corpo afetada. Esta variabilidade de lesões faz com que seja difícil descrever com precisão o número de pessoas que sofrem a cada ano, pois apenas as mais graves são internadas em hospitais e estes são os casos menos comuns (BURD; YUEN, 2005). Os efeitos dos diversos produtos disponíveis à base de prata sobre a cicatrização de feridas também são variáveis. Da mesma forma, compreender as características dos diversos produtos permite uma utilização mais adequada de acordo com a necessidade específica de cada ferida.

Selig et al. (2012) entrevistaram, no total, 1.000 especialistas em cuidados com queimaduras em todo o mundo. Estes foram convidados por *email* a participar de um estudo transversal, voluntário e aberto na internet. A pesquisa confirmou a visão amplamente aceita de que o curativo “ideal” para o tratamento de queimaduras permanece a ser determinado. As características de um curativo ideal são: não aderência, capacidade absorvente, propriedades antimicrobianas, fácil remoção, garantia de trocas dos curativos sem dor; idealmente, uma ou duas vezes por semana, e ter uma gama de diferentes tamanhos disponíveis (SELIG et al., 2012). Neste trabalho, com a utilização de quatro tipos diferentes de curativos, pode-se verificar que muitas dessas características estiveram presentes; observando-se vantagens e desvantagens entre eles. Subjetivamente, o Mepilex<sup>®</sup> Ag apresentou a mais fácil aplicação e remoção; enquanto o creme de sulfadiazina de prata e Aquacel<sup>®</sup> Ag necessitaram discreta remoção mecânica. Da mesma forma, Mepilex<sup>®</sup> Ag apresentou melhor absorção que Aquacel<sup>®</sup> Ag. Quanto ao Acticoat<sup>®</sup>, foi de fácil aplicação e remoção, mas impregnou a ferida com algumas áreas prateadas; além disso, os ratos apresentaram-se mais agitados com este curativo, podendo corresponder a algum incômodo.

O objetivo final do tratamento da queimadura é a epitelização o mais rápido possível, a fim de prevenir a infecção, sequelas funcionais e estéticas (CAMPOS; MANSILLA; LA CHICA, 2005). O padrão no tratamento ainda é a sulfadiazina prata a 1% em creme. No entanto, descobertas recentes

indicam que seu uso pode retardar o processo de cicatrização de feridas (CHO LEE et al., 2005) e que, a prata, independentemente dos curativos disponíveis no mercado, pode ter atividade citotóxica grave em várias células do organismo (FRASER et al., 2004b; POON; BURD, 2004). A eficácia antimicrobiana da prata nanocristalina foi demonstrada em vários estudos, tanto *in vivo* quanto *in vitro*. Em contraste, há poucos relatos e nenhum estudo sobre efeitos colaterais na terapia. Trop et al. (2006) relatam um paciente que após uma semana com prata nano apresentou descoloração acinzentada na face que gradualmente foi aumentando, acompanhada de cansaço, perda de apetite e alterações das enzimas hepáticas, caracterizando um quadro semelhante a argiria. Esses efeitos cessaram com o término da terapia. Em contra partida, epitelização retardada foi observada clinicamente após o uso de agentes antimicrobianos tópicos contendo prata (HOLLINGER, 1996). Os ensaios clínicos realizados para analisar o efeito da sulfadiazina de prata na taxa de cicatrização de queimaduras, comparando com o curativo de gase embebida em vaselina, indicou que existe um atraso claro no processo de cicatrização de feridas tratadas com a sulfadiazina de prata (POON; BURD, 2004). A mesma comparação efetuada em áreas doadoras não demonstraram qualquer diferença na taxa de cura (STERN, 1989). Outras desvantagens foram identificadas na literatura, o tratamento prolongado conservador com sulfadiazina de prata, especialmente até mais de três semanas; geralmente, resultando em cura com cicatrizes hipertróficas ou atróficas (KLASEN, 2000a; SAWHNEY et al., 1989).

Correlacionando, os ratos avaliados não apresentaram qualquer alteração comportamental; porém, mesmo não realizando avaliação com exames laboratoriais hepáticos, as queimaduras foram de pequena extensão (2,1% da superfície corporal) e por curto período de tratamento, não comprometendo o metabolismo nem a imunidade do animal. Portanto, o processo cicatricial pode ser avaliado independente de alterações sistêmicas. Todas as feridas (incluindo o grupo controle) apresentaram-se cicatrizadas, umas mais cedo e outras mais tarde, entre o 9º e 12º dia. E, também, não se verificou qualquer efeito tóxico para o animal.

Para tomar a decisão certa sobre o tratamento, a avaliação precisa da profundidade da queimadura é importante. Queimaduras mais extensas são uma mistura de diferentes profundidades, podendo mudar e aprofundar após a lesão inicial (HETTIARATACHY, 2004). Feridas de espessura parcial e superficial podem aprofundar caso tornem-se infectadas. O uso de profilaxia antimicrobiana é importante na redução e controle da carga microbiana da ferida. Uma vez que, ao se tornar uma ferida infectada, a cicatrização é retardada (ROBSON, 1997). Assim, o manejo das queimaduras podem ter uma influência considerável sobre o tempo necessário para que a ferida cicatrize. Garantir que a ferida seja adequadamente tratada irá minimizar o risco de infecção, influenciará a qualidade da cicatrização e, a longo prazo, o aspecto da cicatriz. Nesse sentido, manter a limpeza de qualquer ferida é mandatória e, quando não realizada; pode comprometer a cicatrização mesmo com o melhor e mais caro dos curativos. Neste trabalho, todos os ratos receberam monitorização rigorosa para a manutenção da limpeza do ambiente e do curativo; portanto, evitando qualquer viés no grupo tratado apenas com soro fisiológico.

A literatura está repleta de ensaios clínicos que mostram os benefícios da terapêutica com prata sobre a cicatrização, através de sua eficácia antimicrobiana (ATIYEH et al., 2007). Porém,

estudos clínicos em grandes centros de queimadura demonstraram o surgimento de cepas bacterianas resistentes após o uso prolongado de curativos à base de prata, principalmente *Escherichia coli* e *Pseudomonas sp*, igual a muitos antibióticos (CERVANTES; SILVER, 1996; GUPTA; MAYNES; SILVER, 1998). Deixando claro que curativos com efeitos antimicrobianos devem ser usados com critérios e, talvez, apenas para feridas infectadas e/ou pacientes médio e grande queimados. Isso deixaria os curativos apenas embebidos em soro fisiológico como rotina e padrão. Observando que, dos ratos que receberam curativo oclusivo com soro fisiológico, nenhum apresentou infecção na área queimada ou qualquer infecção à distância.

No entanto, os curativos com ação antimicrobiana são, por hábito, utilizados para gerenciar a carga biológica da ferida, minimizando a colonização bacteriana das feridas e reduzindo o risco de infecção invasiva. Nas últimas décadas, a sulfadiazina de prata foi vulgarmente aplicada à queimaduras de espessura parcial (HERMANS, 1998, 2007). Apesar das desvantagens relacionadas com a sulfadiazina (LLOYD et al., 2012; SINGER; DAGUM, 2008), muitos estudos a usaram como terapia padrão de referência para comparação com outros curativos biológicos e não biológicos. De acordo com o banco de dados da Cochrane, esta abordagem precisa ser repensada na prática científica. Segundo a revisão sistemática de Wasiak, Cleland e Campbell (2008), um total de 26 ensaios clínicos randomizados foram incluídos e a maioria, após avaliação criteriosa, foi considerado metodologicamente pobre. Verifica-se que há uma escassez de ensaios clínicos randomizados de alta qualidade avaliando curativos para queimaduras de espessura parcial. Além disso, a maior parte dos trabalhos são de natureza puramente descritiva, identificando a diminuição do eritema e aumento da epitelização. Uma série de curativos parecem ter algum benefício sobre outros produtos no tratamento de queimaduras de espessura parcial. Este benefício refere-se ao tempo de epitelização de feridas, ao número de trocas de curativos e o nível de dor experimentada. A utilização de curativos biossintéticos está associada com uma diminuição do tempo de cura e redução da dor durante as trocas. Porém, os estudos desta revisão avaliaram uma série de intervenções, comparadores e desfechos clínicos. Apesar de alguns resultados potencialmente positivos, a evidência, que em grande parte deriva de estudos com deficiências metodológicas, é de utilidade limitada em ajudar os médicos na escolha adequada de tratamentos e curativos. Há muitos materiais disponíveis para tratar queimaduras, mas nenhum tem uma forte evidência para apoiar sua utilização. Da mesma forma, não há qualquer evidência para apoiar o uso de sulfadiazina de prata. O fato de que a maioria das evidências para o uso de Acticoat<sup>®</sup> é com base no nível 5 da medicina baseada em evidências (MEDEIROS; STEIN, 2002), coloca um problema no que diz respeito a tomada de decisão clínica. Mesmo porque, o uso clínico do curativo Acticoat<sup>®</sup> foi em grande parte baseada em extrapolações a partir de estudos in vitro. Outro estudo afirma que, apesar de serem utilizados na prática clínica por quase 20 anos, a evidência disponível para a utilização do Acticoat<sup>®</sup> é fraca (KHUNDKAR; MALIC; BURGE, 2010). Neste trabalho, adotou-se o curativo com gase embebida em soro fisiológico como grupo controle, evitando-se assim, comparações inadequadas com os demais curativos. Quando o aspecto infiltrado inflamatório foi avaliado nos 45 ratos, todas os grupos apresentaram aumento; sendo menor nos grupos tratados com soro fisiológico, Aquacel<sup>®</sup>, Mepilex<sup>®</sup> e

maior nos grupos do Acticoat<sup>®</sup> e Sulfadiazina ( tabela 4). O que contra diz a literatura, pois os curativos à base de prata nanocristalina e sulfadiazina de prata causaram maior infiltrado inflamatório.

Considerando o trabalho de Demling e DeSanti (2002), o mesmo não se observa nas feridas de ratos tratados com Acticoat<sup>®</sup> e demais curativos com prata deste trabalho, que não foram estatisticamente significativos para o aumento da taxa (em dias) da epitelização. Teve-se, apenas como achado, em uma ferida tratada com Acticoat<sup>®</sup>, um aumento na espessura do epitélio em relação ao controle.

Aziz, Abu e Chong (2012) em uma revisão sistemática sugerem que os curativos contendo prata não foram melhores ou piores do que o curativo controle na prevenção da infecção da ferida e promoção da cicatrização de queimaduras. Pode-se verificar exatamente isso neste trabalho, o curativo aplicado com soro apresentou a mesma eficácia na epitelização e não se verificou infecção da ferida.

Neste trabalho, a epitelização das queimaduras de espessura parcial superficial foi o evento final comum independente do curativo utilizado; dado que está de acordo com o estudo de Gravante et al. (2009) que, em estudo retrospectivo, descobriram que o uso de curativos à base de prata foram cada vez mais usados, mas não encontrou nenhuma vantagem em tempo de epitelização de queimaduras superficiais. Este grupo conseguiu encontrar vantagem apenas para as feridas mais profundas. Este foi um estudo relativamente grande (347 indivíduos), com uma análise adequada.

Apesar de Demling e Desanti (2002) mostrarem um aumento significativo da taxa de reepitelização com Acticoat<sup>®</sup> quando foi comparada com solução de antibiótico, BURD et al. (2007) realizaram estudos envolvendo monocamadas de células, cultivo de tecidos, em modelos animais e sugeriram que o Acticoat<sup>®</sup> pode retardar a taxa de reepitelização da ferida. Huang et al. em estudo randomizado, encontraram uma diminuição no tempo de cura de feridas de queimadura no grupo Acticoat<sup>®</sup> (3,35 dias mais curto,  $p < 0,01$ ) em comparação ao grupo sulfadiazina de prata. A diferença da taxa de cura entre os dois grupos no 15º dia pós-lesão não foi significativa (HUANG et al., 2007). Não se evidenciou qualquer diferença nos 45 ratos avaliados no presente estudo que, invariavelmente, apresentaram completa epitelização entre o 9º e 12º dia.

Assim, a melhor conduta é a cautela e o uso criterioso dos curativos à base de prata; extrapolando a partir de estudos de laboratório para a prática clínica, com base na evidência disponível, é recomendado que esses curativos devem ser evitados, se possível, como uma estratégia antimicrobiana tópica inicial, em casos onde rapidamente proliferam os queratinócitos: áreas doadoras, feridas de espessura parcial superficial e sobre queratinócitos cultivados (AZIZ; ABU; CHONG, 2012). Lembrando que existe a necessidade de estudos clínicos a este respeito porque a cicatrização de feridas e formação de cicatriz em humanos mostram diferenças consideráveis com a cicatrização do tecido em animais (MONAFO; BESSEY, 1996).

Na mesma linha de raciocínio criterioso, Wang, Kravchuk e Kimble (2010) afirmam que a cicatrização é difícil de medir por causa da variabilidade de respostas e tem muitos contribuintes para a sua "qualidade". Assim, o 'melhor' curativo será dependente do que é solicitado; epitelialização mais rápida, manuseio mais fácil, redução da infecção, necessidade de absorção, espaçamento nos dias de troca de curativo, necessidade de aderência em áreas irregulares etc., com vantagens e

desvantagens entre os métodos. Observando a utilização dos curativos industrializados em ratos, todos foram de fácil aplicação e remoção com praticidade. Também apresentaram melhor aspecto geral, no dia da remoção, que os curativos com soro, pois este apresentou maior quantidade de fibrina na gase removida. Aquacel<sup>®</sup> e Mepilex<sup>®</sup> apresentaram adequada absorção de exsudatos da ferida, promovendo um aspecto subjetivo de limpeza sem fibrinas. O Acticoat<sup>®</sup>, de aspecto semelhante a um papel, não apresentou a fácil maleabilidade na manipulação e capacidade absorviva como Aquacel<sup>®</sup> e Mepilex<sup>®</sup>, deixando o leito da ferida com aspecto prateado.

Em relação a lesão da queimadura, o dano térmico a pele tem efeitos sobre a resposta da atividade celular e sua matriz estrutural. O dano térmico as proteínas séricas e os componentes celulares da pele causada por aquecimento é bem documentada (DAVIES, 1982). Da mesma forma, a importância da estrutura do colágeno para a força e função da pele é amplamente reconhecida (YAMAMOTO; NISHIOKA, SASAI, 1995). O aumento da susceptibilidade do colágeno à digestão por enzimas proteolíticas após trauma foi relatado. Uma consequência da lesão térmica é a infiltração do tecido danificado com enzimas proteolíticas (AXELROD; MARTIN, 1953). Estudos foram realizados para avaliar a estrutura do colágeno no tecido da cicatriz. As cicatrizes tornam-se frequentemente hipertróficas, firmes, contráteis e, inicialmente, apresentam reduzida resistência à força de tração. Estas consequências têm sido relacionadas com a má qualidade da rede de colágeno restaurada após a cicatrização (LINARES, 1996; PEACOCK, 1984). A maioria dos estudos sobre a cicatrização de feridas e formação de cicatrizes atentam para os aspectos qualitativos da estrutura desta proteína (COMPTON et al., 1989; EHRLICH et al., 1994; LINARES et al., 1972). A análise microscópica revela que na pele normal, os feixes de colágeno apresentam-se como uma rede com uma estrutura padrão mais ou menos aleatória, enquanto que o tecido da cicatriz consiste de feixes menores alinhados de forma paralela à epiderme (LINARES, 1996). A tensão mecânica tem sido proposta como um fator importante na orientação dos feixes de fibras no tecido da cicatriz (LONGACRE et al., 1968). Avaliando-se o colágeno na cicatrização dos ratos, não ocorreu diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. No entanto, a presença de fibras elásticas foi positiva e mais significativa com o uso de Acticoat<sup>®</sup>. As figuras 19 e 20 mostram fibras colágenas e elásticas assumindo um padrão paralelo e, por ser recente, nada pode-se afirmar sobre o padrão de cicatriz com diferentes curativos.

Sendo assim, todas as variáveis, os recursos financeiros do paciente e/ou da unidade de saúde, a necessidade de continuidade da utilização do curativo e a avaliação dos benefícios são alguns dos aspectos a serem considerados no momento da escolha do tipo de curativo; que devem ser adequados a natureza, a localização e ao tamanho da ferida. É de bom senso a utilização de curativos, ou o primeiro curativo, apenas com soro fisiológico; principalmente para feridas de espessura parcial superficial e de pequena área corpórea acometida que naturalmente apresentam excelente potencial de epitelização.

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

As queimaduras de espessura parcial e pequena área corpórea lesada epitelizam independente da utilização de curativos à base de prata, pois a epitelização é o evento final. O tratamento apenas com soro fisiológico não é agressivo ao tecido lesado, apresentando discreto infiltrado inflamatório e promovendo a epitelização da mesma forma que os demais curativos. Não observou-se qualquer diferença no colágeno frente aos diferentes tratamentos, mas a presença de fibras elásticas foi maior quando a prata esteve presente; porém, novos estudos são necessários.

## REFERÊNCIAS

AMERICAN BURN ASSOCIATION. **Advanced burn life support course provider's manual**. Chicago: American Burn Association, 2005.

ARTZ, C P. Aspectos históricos do tratamento das queimaduras. In: BOSWICK JR., J. A. **Clínica cirúrgica da América do Norte: cirurgia das queimaduras**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1970. p. 1183-1190.

ATIYEH, B. S. et al. Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature. **Burns**, Guildford, v. 33, p. 139-148, 2007.

ATIYEH, B. S.; GUNN, S. W.; HAYEK, S. N. State of the art in burn treatment. **World J. Surg.**, New York, v. 29, n. 2, p. 131-148, feb. 2005.

AXELROD, A. E.; MARTIN, C. J. Biochemical changes in thermally-injured cutaneous tissue. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, Malden, v. 83, n. 3, p. 463-467, 1953.

AZIZ, Z.; ABU, S. F.; CHONG, N. J. A systematic review of silver-containing dressings and topical silver agents (used with dressings) for burn wounds. **Burns**, Guildford, v. 38, n. 3, p. 307-318, may 2012.

BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **RBCF Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, São Paulo, v. 41, n. 1, p. 28-51, jan./mar. 2005.

BAKER, S. P. et al. **The injury fact book**. 2.ed. New York: Oxford University, 1992.

BARRETT, S. Mepilex Ag: an antimicrobial, absorbent foam dressing with Safetac technology. **Br. J. Nurs.**, London, v. 18, n. 20, p. S28, S30-36, nov. 2009.

BARRICK, B.; CAMPBELL, E. J.; OWEN, C. A. Leukocyte proteinases in wound healing: roles in physiologic and pathologic processes. **Wound Repair Regen.**, St. Louis, v. 7, n. 6, p. 410-422, nov./dec. 1999.

BENAIM, F.; NAMBRARD, R. A. Development in the treatment of burns in South America during the last decades. **Burns**, Guildford, v. 25, n. 3, p. 250-255, may 1999.

BHOL, K. C.; ALROY, J.; SCHECHTER, P. J. Anti-inflammatory effect of topical nanocrystalline silver cream on allergic contact dermatitis in a guinea pig model. **Clin. Exp. Dermatol.**, Oxford, v. 29, n. 3, p. 282-287, may 2004.

BHOL, K. C.; SCHECHTER, P. J. Topical nanocrystalline silver cream suppresses inflammatory cytokines and induces apoptosis of inflammatory cells in a murine model of allergic contact dermatitis. **Br. J. Dermatol.**, Oxford, v. 152, p. 1235-1242, 2005.

BOLGIANI, A. N.; SERRA, M. C. V. F. Atualização no tratamento local das queimaduras. **Rev. Bras. Queimaduras**, Florianópolis, v. 9, n. 2, p. 38-44, 2010.

BOSTOCK, J.; RILEY, H. T. **The natural history: pliny the elder**. London: Taylor and Francis, 1855.

BRASIL. Ministério da Saúde. **SIM Sistemas de Informações de Mortalidade**. Brasília, DF, c2008a. Disponível em: <<http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=040701>>. Acesso em: 22 maio 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. **SIHSUS Sistema de Informações Hospitalares do SUS**. Brasília, DF, c2008b. Disponível em: <<http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=040502>>. Acesso em: 22 maio 2013.

BREASTED, J. H.. **The Edwin Smith surgical papyrus**. Chicago: University of Chicago Press, v. 3-4, n. 9, 1991.

BURD, A.; YUEN, C. A global study of hospitalized pediatric burn patients. **Burns**, Guildford, v. 31, p. 432-438, 2005.

BURD, A. et al. A comparative study of the cytotoxicity of silver-based dressings in monolayer cell, tissue explant, and animal models. **Wound Repair Regen.**, St. Louis, v. 15, n. 1, p. 94-104, jan./feb.2007.

BURRELL, R. E. A scientific perspective on the use of topical silver preparations. **Ostomy Wound Manage.**, v. 49, n. 5A Suppl., p. 19-24, 2003.

CAMPOS, L. S.; FERNANDES MANSILLA, M.; MARTINEZ DE LACHICA, A. M. Topical chemotherapy for the treatment of burns. **Rev. Enferm.**, Barcelona, v. 28, p. 5, p. 67-70, maio 2005.

CARNEIRO, S. C. S.; SILVA, M. R. Cicatrização. In: KEDE, M. P. V.; SABATOVICH, O. **Dermatologia estética**. São Paulo: Atheneu, 2004. Cap. 2, p. 11-15.

CERVANTES, C.; SILVER, S. Metal resistance in pseudomonas: genes and mechanisms. In: NAKAZAWA, T. (Ed.). **Molecular biology of pseudomonas**. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1996.

CHILDRESS, B. B. et al. Impact of an absorbent silver-eluting dressingsystem on lower extremity revascularization wound complications. **Ann. Vasc. Surg.**, v. 21, n. 5, p. 598-602, sept. 2007.

CHO LEE, A. R. et al. Reversal of silver sulfadiazine-impaired wound healing by epidermal growth factor. **Biomaterials**, Guilford, v. 26, n. 22, p. 4670-4676, jan. 2005.

CLARK, R. A. F. Mecanismos de reparação cutânea. In: FREEDBERG, I. M. et al. **Fitzpatrick tratado de dermatologia**. 5. ed. São Paulo: Revinter, 2005. p. 326-338.

COLEBROOK, L.; COLEBROOK, V. The prevention of burns and scalds. **Lancet**, London, v. 2, p. 181-188, 1949.

COMPTON, C. C. et al. Skin regenerated from cultured epithelial autografts on full-thickness burn wounds from 6 days to 5 years after grafting: a light, electron microscopic and immunohistochemical study. **Lab. Invest.**, v. 60, p. 600-612, 1989.

DAVIES, J. W. L. Effects of burning skin and other tissues. In: **Physiological responses to burning injury**. London: Academic, 1982. p. 9-36.

DELGADO, J. et al. Risk factors for burns in children: crowding, poverty, and poor maternal education. **Inj. Prevent**, London, v. 8, n. 1, p. 38-41, 2002.

DEMLING, R. H.; DESANTI, M. D. L. The rate of re-epithelialization across meshed skin grafts is increased with exposure to silver. **Burns**, Guildford, v. 28, n. 3, p. 264-266, 2002.

DYSTER-AAS, J. et al. Major depression and posttraumatic stress disorder symptoms following severe burn injury in relation to lifetime psychiatric morbidity. **J. Trauma**, Baltimore, v. 64, n. 5, p. 1349-1356, 2008.

EDELMAN, L. S. Review social and economic factors associated with the risk of burn injury. **Burns**, Guildford, v. 33, n. 8, p. 958-965, dec.2007.

EHRlich, H. P. et al. Morphological and immunochemical differences between keloid and hypertrophic scar. **Am. J. Pathol.**, v. 145, n. 1, p. 105-113, 1994.

FONG, J.; WOOD, F. Nanocrystalline silver dressings in wound management: a review. **Int. J. Nanomedicine**, Auckland, v. 1, n. 4, p. 441-449, 2006.

FONG, J.; WOOD, F.; FOWLER, B. A silver coated dressing reduces the incidence of early burn wound cellulitis and associated costs of inpatient treatment: comparative patient care audits. **Burns**, Guildford, v. 31, n. 5, p. 562-567, 2005.

FRANCO, D.; GONÇALVES, L. F. Feridas cutâneas: a escolha do curativo adequado. **Rev. Col. Bras. Cir.**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 3, p. 203-206, maio/jun. 2008.

FRASER, J. F. et al. An invitro study of the anti-microbial efficacy of a 1% silversulphadiazine and 0.2% chlorhexidine digluconate cream, 1% silversulphadiazine cream and a silver coated dressing. **Burns**, Guildford, v. 30, n. 1, p. 35-41, 2004a.

FRASER, J. F. et al. Cytotoxicity of topical antimicrobial agents used in burn wounds in Australasia. **ANZ J. Surg.**, Carlton, v. 74, n. 3, p. 139-212, mar. 2004b.

FU-REN, F. F.; ALLEN, J. B. Chemical, electrochemical, gravimetric, and microscopic studies on antimicrobial silver films. **J. Phys. Chem., B.**, v. 106, n. 2, p. 279-287, 2002.

GAWRYSZEWSKI, V. P. et al. Atendimentos decorrentes de queimaduras em serviços públicos de emergência no Brasil, 2009. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 4, p. 629-640, 2012.

GRAVANTE, G. et al. Nanocrystalline silver: a systematic review of randomized trials conducted on burned patients and an evidence-based assessment of potential advantages over older silver formulations. **Ann. Plast. Surg.**, Boston, v. 63, n. 2, p. 201-215, 2009.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Tratado de histologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

GUIRRO, E. C. O.; GUIRRO, R. R. J. **Fisioterapia dermatofuncional: fundamentos, recursos, patologias**. Barueri: Manole, 2002.

GUPTA, A.; MAYNES, M.; SILVER, S. Effects of halides on plasmid mediated silver resistance in *Escherichia coli*. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v. 64, n. 12, p. 5042-5045, dec.1998.

HAYNES JR, B. W. Mafenide Acetate in Burn Treatment. **N Engl J Med.**, Massachusetts, v. 284, n. 23, p. 1324, Jun. 1971.

HERMANS, M. H. Results of a survey on the use of different treatment options for partial and full thickness burns. **Burns**, Guildford, v. 24, n. 6, p. 539-551, sept. 1998.

HETTIARATCHY, S.; PAPINI R. Initial management of a major burn: II -assessment and resuscitation. **BMJ**, London, v. 329, n. 7457, p. 101-103, 2004.

HIPPOCRATES. **Places in Man. Glands. Fleshes. Prorrhetic 1-2. Physician. Use of Liquids. Ulcers. Haemorrhoids and Fistulas**. Tradução e edição Paul Potter. Cambridge: Harvard University Press, 1995. v. 8. (Loeb Classical Library, n. 482).

HOLLINGER, M. A. Toxicological aspects of topical silver pharmaceuticals. **Crit. Rev. Toxicol.**, Boca Raton, v. 26, n. 3, p. 255-260, may 1996.

HUANG, Y. et al. A randomized comparative trial between Acticoat and SD-Agin in the treatment of residual burn wounds, including safety analysis. **Burns**, Guildford, v. 33, n. 2, p. 161-166, mar. 2007.

INNES, M. E. et al. The use of silver coated dressings on donor site wounds: a prospective, controlled matched pair study. **Burns**, Guildford, v. 27, n. 6, p. 621-627, 2001.

KHUNDKAR, R.; MALIC, C.; BURGE, T. Use of Acticoat™ dressings in burns: what is the evidence? **Burns**, Guildford, v. 36, n. 6, p. 751-758, sept. 2010.

KIRKWOOD, B. R.; STERNE, J. A. C. **Essential medical statistics**. 2. ed. Massachusetts: Blackwell Science, 2006.

KLASEN, H. J. A historical review of the use of silver in the treatment of burns. II. Renewed interest for silver. **Burns**, Guildford, v. 26, n. 2, p. 131-138, mar. 2000a.

KLASEN, H. J. Historical review of the use of silver in the treatment of burns. I. Early uses. **Burns**, Guildford, v. 26, n. 2, p. 117-130, mar. 2000b.

LINARES, H. A. Pathophysiology of the burn scar. In: HERNDON, D. N. (Ed.). **Total burn care**. London: W.B. Saunders, 1996. p. 383–397.

LINARES, H. A. et al. The histiotypic organization of the hypertrophic scar in humans. **J. Invest. Dermatol.**, v. 59, p. 323-331, 1972.

LLOYD, E. C. et al. Outpatient burns: prevention and care. **Am. Fam. Physician**, v. 85, p. 25-32, jan.2012.

LOHANA, P.; POTOKAR, T. S. Aquacel Ag<sup>®</sup> in paediatric burns: a prospective audit. **Ann. Burns Fire Disasters**, v. 19, n. 3, p. 1447, sept.2006.

LONGACRE, J. J. et al. The relation of the ultrastructure of collagen to scar formation and its surgical management. **Br. J. Plast. Surg.**, v. 21, n. 1, p. 49-59, 1968.

MAJO, G. **The healing hand**. Harvard: Harvard University, 1973.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte 1. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 4, p. 393-410, jul./ago. 2003.

MAZURAK, V. C. et al. The effect of treating infected skin grafts with Acticoat on immune cells. **Burns**, Guildford, v. 33, n. 1, p. 52-8, feb. 2007.

MEDEIROS, L. R.; STEIN, A. Níveis de evidência e graus de recomendação da medicina baseada em evidências. **Rev. AMRIGS**, Porto Alegre, v. 46, n. 1-2, p. 43-46, jan./jun. 2002.

MICHALANY, J. **Técnica histológica em anatomia patológica**. 2. ed. São Paulo: Michalany, 1990.

MIERLEY, M. C.; BAKER, S. P. Fatal house fires in an urban population. **JAMA**, Chicago, v. 249, n. 11, p. 1466-1468, mar. 1983.

MIRSATTARI, S. M. et al. Myoclonic status epilepticus following repeated orolingestion of colloidal silver. **Neurology**, Minneapolis, v. 62, n. 8, p. 1408-1410, apr.2004.

MOCK, C. et al. **A WHO plan for burn prevention and care**. Geneva: World Health Organization, 2008.

MONAFO, W.; BESSEY, P. Q. Wound care. In: HERNDON, D. N. (Ed.). **Total burn care**. London: W.B. Saunders, 1996. p. 88-97.

NADWORNÝ, P. L. et al. Anti-inflammatory activity of nanocrystalline silver in a porcine contact dermatitis model. **Nanomedicine**, New York, v. 4, n. 3, p. 241-251, 2008.

NETER, J. et al. **Applied linear statistical models**. 4. ed. Illinois: Richard D. Irwing, 1996.

NOVAES, F. N. Primeiro atendimento ao paciente queimado. **J. Bras. Med.**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 5, p. 56-62, 2003.

PADDOCK, H. N. et al. **Clinical assessment of silver-coated antimicrobial dressing on MMPs and cytokine levels in non-healing wounds**. Baltimore, Md: Presented at the Annual Meeting of the Wound Healing Society; 2002.

PEACOCK, E. E. Structure, synthesis, and interaction of fibrous protein and matrix. In: PEACOCK, E. E. (Ed.). **Wound repair**. 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1984. p. 56-101.

PECK, M. D. Epidemiology of burns throughout the world. Part I: Distribution and risk factors. **Burns**, Guildford, v. 37, n. 7, p. 1087-1100, nov. 2011.

POON, V. K.; BURD, A. In vitro cytotoxicity of silver: implication for clinical wound care. **Burns**, Guildford, v. 30, n. 2, p. 140-147, mar. 2004.

RICHARD, J. W.; SPENCER, B. A.; McCOY, L. F. Acticoat™ versus Silverlon™: the truth. **J. Burns Surg. Wound Care**, Springfield, v. 1, p. 11, 2002.

ROBSON, M. C. Wound infection: a failure of wound healing caused by an imbalance of bacteria. **Surg. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 77, n. 3, p. 637-650, jun. 1997.

ROSSI, L. A. et al. Prevenção de queimaduras: percepção de pacientes e de seus familiares. **Rev. Latino-Am. Enferm.**, Ribeirão Preto, v. 11, n. 1, p. 36-42, 2003.

RUSSELL, A. D.; HUGO, W. B. Antimicrobial activity and action of silver. **Prog. Med. Chem.**, London, v. 31, p. 351-370, 1994.

RUSSO, A. C. Atividades do Serviço de Queimaduras nos seus 10 primeiros anos de funcionamento. **Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. S. Paulo**, São Paulo, v. 13, p. 474-480, 1958.

RUSSO, A. C. Considerações gerais sobre queimaduras. In: NETTO, A. C.; RAIÁ, A. A.; ZERBINI, E. J. **Clínica Cirúrgica**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 1988. p. 216-220.

SALAS, A. et al. Heparin attenuates TNF-alpha induced inflammatory response through a CD11b dependent mechanism. **Gut**, London, v. 47, n. 1, p. 88-96, July 2000.

SAWHNEY, C. P. et al. Long-term experience with 1 percent topical silver sulphadiazine cream in the management of burn wounds. **Burns**, Guildford, v. 15, n.

6, p. 403-406, 1989.

SELIG, H. F. et al. The properties of an "ideal" burn wound dressing. What do we need in daily clinical practice? Results of a worldwide online survey among burn care specialists. **Burns**, Guildford, v. 38, n. 7, p. 960-966, nov. 2012.

SHERIDAN, R. L. et al. Once-daily wound cleansing and dressing change: efficacy and cost. **J. Burn Care Rehabil.**, Lake Forest, v. 18, p. 139-140, mar. 1997.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007.

SINGER, A. J.; DAGUM, A. B. Current management of acute cutaneous wounds. **N. Engl. J. Med.**, Massachusetts, v. 359, p. 1037-1046, sept. 2008.

STERN, H. S. Silver sulphadiazine and the healing of partial thickness burns: a prospective clinical trial. **Br. J. Plast. Surg.**, Edinburgh, v. 42, n. 5, p. 581-585, sept. 1989..

STROHAL, R. et al. Nanocrystalline silver dressings as an efficient anti-MRSA barrier: a new solution to an increasing problem. **J. Hosp. Infect.**, New York, v. 60, n. 3, p. 226-230, july 2005.

TER SMITTEN, M. H.; DE GRAAF, R.; VAN LOEY, N. E. Prevalence and comorbidity of psychiatric disorders 1-4 years after burn. **Burns**, Guildford, v. 37, n. 5, p. 753-761, aug. 2011.

TRENGOVE, N. J. et al. Analysis of the acute and chronic wound environments: the role of proteases and their inhibitors. **Wound Repair Regen.**, St. Louis, v. 7, n. 6, p. 442-452, 1999.

TROP, M. et al. Silver-coated dressing acticoat caused raised liver enzymes and argyria-like symptoms in burn patient. **J. Trauma**, Baltimore, v. 60, n. 3, p. 648-652, 2006.

ULKUR, U. et al. Comparison of silver-coated dressing (Acticoat), chlorhexidine acetate 0.5% (Bacti-grass), and fusidic acid 2% (Fucidin) for topical antibacterial effect in methicillin-resistant Staphylococci-contaminated, full-skin thickness rat burn wounds. **Burns**, v. 31, n. 7, p. 874-877, 2005a.

ULKUR, U. et al. Comparison of silver-coated dressing (Acticoat), chlorhexidine acetate 0.5% (Bacti-grass), and silver sulfadiazine 1% (Silverdin) for topical antibacterial effect in Pseudomonas aeruginosa-contaminated, full-skin thickness burn wounds in rats. **J. Burn. Care Rehabil.**, v. 26, n. 5, p. 430-433, 2005b.

VARÓ, J. A. et al. Determinación de la superficie corporal del ratón albino adulto. **An. Vet. (Murcia)**, v. 4, p. 7-11, 1988.

WALKER, H. L.; MASON, A. D. Jr. A standard animal burn. **J. Trauma**, Baltimore, v. 8, n. 6, p. 1049-1051, 1968.

WANG, X. Q.; KRAVCHUK, O.; KIMBLE, R. M. A retrospective review of burn dressings on a porcine burn model. **Burns**, Guildford, v. 36, n. 5, p. 680-687, 2010.

WARDA, L.; TENENBEIN, M.; MOFFATT, M. E. K. House fire injury prevention update. Part I. A review of risk factors for fatal and non-fatal house fire injury. **Inj. Prevent**, London, v. 5, p. 145-150, sept.1999.

WASIAK, J.; CLELAND, H.; CAMPBELL, F. Dressings for superficial and partial thickness burns. **Cochrane Database Syst. Rev.**, n. 4, CD002106, oct. 2008.

WHITE, R. Evidence for atraumatic soft silicone wound dressing use. **Wounds**, v. 1, n. 3, p. 104-109, 2005.

WRIGHT, J. B.; HANSEN, D. L.; BURRELL, R. E. The comparative efficacy of two antimicrobial barrier dressings: in vitro examination of two controlled release of silver dressings. **Wounds**, v. 10, n. 6, p. 179-188, 1998.

WRIGHT, J. B. et al. Early healing events in a porcine model of contaminated wounds: effects of nanocrystalline silver on matrix metalloproteinases, cell apoptosis, and healing. **Wound Repair Regen.**, St. Louis, v. 10, n. 3, p. 141-151, may/june 2002.

YAGER, D. R.; NWOMEH, B. C. The proteolytic environment of chronic wounds. **Wound Repair Regen.**, St. Louis, v. 7, n. 6, p. 433-441, nov./dec.1999.

YAMAMOTO, N.; NISHIOKA, S.; SASAI, Y. Polarization microscopic investigation of collagen and acid glycosaminoglycans in the skin of progressive systemic sclerosis (PSS). **Acta Histochem.**, Jena, v. 97, n. 2, p. 195-202, apr. 1995.

## ANEXO A – ESCORES

Notas atribuídas pelo patologista nos diferentes critérios avaliados.

RATO controle	Área Cicatrizada	Neoformação Vascular	Proliferação Fibroblasto	Infiltrado Inflamatório	Epitelização	Fibras Elásticas	Colágeno Jovem
1º dia	0	0	0	1	2	0	1
2º dia	0	0	1	1	2	0	1
4º dia	0	1	1	3	2	0	1
6º dia	1	2	2	3	2	0	1
9º dia	2	2	2	3	2	0	1
12º dia	2	2	2	1	2	0	2
18º dia	2	2	2	2	1	0	1
21º dia	2	2	2	4	1	0	1
RATO Aquacel	Área Cicatrizada	Neoformação Vascular	Proliferação Fibroblastos	Infiltrado Inflamatório	Epitelização	Fibras Elásticas	Colágeno Jovem
1º dia	1	0	1	2	1	0	0
2º dia	1	0	1	2	1	0	0
4º dia	2	1	2	2	1	0	0
6º dia	0	0	0	0	0	0	0
9º dia	2	1	1	3	1	0	1
12º dia	2	2	2	3	1	0	1
18º dia	2	2	2	2	2	1	1
21º dia	2	3	3	3	2	2	2
RATO Sulfá	Área Cicatrizada	Neoformação Vascular	Proliferação Fibroblastos	Infiltrado Inflamatório	Epitelização	Fibras Elásticas	Colágeno Jovem
1º dia	1	2	1	1	0	2	1
2º dia	3	2	3	4	0	1	2
4º dia	1	2	2	4	0	1	1
6º dia	1	3	2	5	0	0	1
9º dia	1	2	1	5	0	1	1
12º dia	0	3	0	5	0	1	0
18º dia	4	0	4	1	5	1	4
21º dia	4	3	3	4	0	1	1
24º dia	4	3	3	2	5	1	3
24º dia	2	2	2	4	2	1	1
1º dia	0	1	1	3	0	3	0
2º dia	0	2	0	4	0	2	0
4º dia	1	2	2	4	4	2	1
6º dia	1	2	1	3	2	2	0
9º dia	2	3	2	5	0	1	1
12º dia	2	2	3	3	4	2	2
18º dia	3	2	4	2	5	1	3
21º dia	3	2	4	3	5	1	2
24º dia	3	2	4	3	5	1	2
1º dia	1	1	1	2	1	0	0
2º dia	1	2	2	2	1	1	2
4º dia	1	2	2	2	1	1	1
6º dia	2	2	2	2	1	2	2
9º dia	2	3	3	2	1	1	1
12º dia	2	3	3	2	1	1	1
18º dia	1	2	2	2	1	1	1
21º dia	2	2	2	2	4	1	2
24º dia	2	2	2	2	4	1	2

## ANEXO B – TERMO DE AVALIAÇÃO



## Comissão de Ética no Uso de Animais

## TERMO DE AVALIAÇÃO

Protocolo nº: 2011-54P
Título: Avaliação do uso de <i>Casearia sylvestris</i> em diferentes tipos de curativos no tratamento de queimaduras de segundo grau
Docente responsável: Maíli Gerenutti
Tipo de projeto: Pesquisa/TCC Graduação
Curso: Farmácia/Universidade de Sorocaba-UNISO
Número de animais a serem utilizados: 40
Espécie: <i>Rattus norvegicus</i> Wistar
Instituição de execução: Universidade de Sorocaba-UNISO/São Paulo

O projeto, acima identificado, foi avaliado e APROVADO pelo plenário da Comissão de Ética no Uso de Animais da ULBRA (CEUA/ULBRA), estando eticamente adequado e de acordo com a Lei 11.794/08 e com o Decreto 6.899/09, que estabelecem procedimentos para o uso científico de animais.

Ao término das atividades, ou quando esta CEUA julgar necessário, o docente responsável deverá apresentar relatório.

Canoas, 22 de março de 2012.

Prof. Dr. Paulo Tadeu Campos Lopes

Coordenador da CEUA/ULBRA