

VIABILIDADE DO USO DE PAPAÍNA NO TRATAMENTO DE FERIDAS CONTAMINADAS POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EM RATOS WISTAR

(Viability of using papain in the treatment of wounds contaminated by Staphylococcus aureus in Wistar rats)

Ana Clara Diniz SILVA¹; Ana Caroline Romão da SILVA^{1*}; Guilherme Nascimento CHUNHA²; Breno Almeida WANDERLEY²

¹Faculdade de Medicina Veterinária, Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), Patos de Minas/MG. *E-mail: anacrrs@gmail.com

RESUMO

A papaína, uma protease de origem vegetal, há décadas vem sendo utilizada como alternativa para a terapêutica de feridas associadas a processos infecciosos. O presente estudo objetivou avaliar a cicatrização por segunda intenção de feridas cutâneas contaminadas e tratadas com papaína a 10%. Foram utilizados 15 ratos machos e hígidos, os quais foram submetidos a duas incisões: Ferida Controle tratada com solução fisiológica a 0,9% e a Ferida Teste, tratada com pomada de papaína a 10%. Ambas estavam previamente contaminadas por inoculação de *Staphylococcus aureus*. Os animais foram divididos em três grupos com cinco ratos cada: G1 - biopsados no 3º dia, G2 - 7º dia e G3 - 14º dia após a realização das feridas. A avaliação das feridas foi baseada em aspectos macro e microscópicos nos períodos pré-determinados. Posteriormente à biópsia, foram realizados cortes histológicos corados por Hematoxilina Eosina e Tricrômico de Masson. Verificou-se macroscopicamente que a papaína a 10% na Ferida Teste se mostrou mais eficiente quando comparada a Controle aos 7º e 14º dias do experimento. Microscopicamente, as Feridas Teste tiveram uma melhor resposta, em relação às Feridas Controle, sob vários aspectos: menor presença de crosta hematofibrinosa; menor infiltrado inflamatório no 3º e 7º dia, maior quantidade de tecido de granulação variando de moderado a acentuado no 14º dia; maior quantidade de fibroblastos no 7º e 14º dia e maior presença de matriz colágena (organizada) ao 14º dia. Desta forma, concluiu-se que a utilização da papaína a 10% em lesão tecidual contaminada pode auxiliar de forma positiva o processo cicatricial.

Palavras-chave: Cicatrização, roedores, bactérias, extrato de *Carica papaya*.

ABSTRACT

Papain, a protease of plant origin, has been used for decades as an alternative for the treatment of wounds associated with infectious processes. This study aimed to evaluate healing by second intention of skin wounds contaminated and treated with 10% papain. Fifteen healthy male rats were used, which were submitted to two incisions: Control Wound treated with 0.9% saline solution and Test Wound, treated with 10% papain ointment. Both were previously contaminated by inoculation of Staphylococcus aureus. The animals were divided into three groups with five rats each: G1 - biopsied on the 3rd day, G2 - 7th day, and G3 - 14th day after the wounds were performed. The evaluation of the wounds was based on macro and microscopic aspects in the predetermined periods. After the biopsy, histological sections stained by Hematoxylin Eosin and Masson's Trichrome were performed. It was macroscopically verified that 10% papain in the Test Wound was more efficient when compared to Control at the 7th and 14th days of the experiment. Microscopically, Test Wounds had a better response, compared to Control Wounds, in several aspects: less presence of hematofibrinous crust; less inflammatory infiltrate on the 3rd day and 7th day, greater amount of granulation tissue ranging from moderate to severe on the 14th day; greater amount of fibroblasts on the 7th and 14th day, and greater presence of collagen matrix (organized) on the 14th day. Thus, it was concluded that the use of 10% papain in contaminated tissue lesions can positively assist the healing process.

Keywords: Healing, rodents, bacteria, *Carica papaya* extract.

INTRODUÇÃO

A possibilidade de evolução para o quadro infeccioso é uma das principais complicações de uma ferida aberta. Os tecidos cutâneos expostos oferecem ambiente favorável

para a proliferação bacteriana. Mesmo sob ausência de infecção, a presença de bactérias nas feridas, ativa uma série de respostas locais e sistêmicas no hospedeiro que levam a um retardo na cicatrização, resultando em maior exposição da lesão à contaminação por diversas espécies bacterianas (SIBBALD *et al.*, 2003).

Vários agentes podem ser identificados em feridas contaminadas e infectadas de cães e gatos, dependendo da causa do ferimento (GREENE; DEARMIN, 2006). Segundo Amalsadvala e Swaim (2006) existem diversos tipos de microrganismos em uma mesma ferida, principalmente *Pseudomonas spp.*, *Streptococcus spp.* e *Staphylococcus spp.* Considerando também que as bactérias do gênero *Staphylococcus spp.* são agentes comensais da pele e membranas mucosas de cães (MORRIS, 2011).

Logo, a finalidade do tratamento das feridas é a redução do tempo compreendido no processo (ADIELE *et al.*, 2014). Apesar de existirem muitos avanços na área do tratamento de feridas crônicas ainda se notam restrições, pois apesar de opções terapêuticas como desbridamento, limpeza, antibióticos e agentes cicatrizantes a eficácia restrita e o custo proibitivo encontrado nessas técnicas são fatores que devem ser considerados quando se analisam tratamentos veterinários (MASSON-MEYERS *et al.*, 2013). A cada dia, muitas tecnologias para terapêutica de feridas são lançadas no mercado e dentre esses produtos, tem se a papaína (FEIJÓ *et al.*, 2008). Esta é uma enzima proteolítica complexa cuja origem é vegetal, sendo extraída do látex do mamão (*Carica papaya*).

Nas últimas décadas vem sendo utilizada em estudos, para auxiliar os processos de cicatrização tecidual, em virtude do seu poder acelerador de crescimento tecidual, bactericida, bacteriostático e debridante de tecidos necróticos, desvitalizados e infectados (PAYNE *et al.*, 2008; BAIDANMSHINA *et al.*, 2021). No tecido sadio há uma antiprotease plasmática, a1-antitripsina, que inativa a protease da papaína, desta forma, a papaína não altera o tecido sadio (MONETTA, 1987). Um aspecto importante quanto ao uso da papaína é que embora tenha sido estabelecido há décadas, não há um consenso em relação à forma utilizada, à concentração, ao tempo de duração da solução após diluição e às indicações do uso da papaína (SILVA e ROGENSKI, 2010), demonstrando a necessidade de mais pesquisas que possam evidenciar o efeito da papaína, promovendo uma base para a sua utilização em feridas contaminadas.

O presente estudo avaliou os aspectos macroscópicos e histológicos da cicatrização tecidual de feridas sépticas experimentais, contaminadas com *Staphylococcus aureus*, após o tratamento com a pomada de papaína, visto que essa substância ainda apresenta lacunas a respeito de seus efeitos, tornando importante a busca por novas informações acerca do tema.

MATERIAL E MÉTODOS

Local e animais

O presente estudo foi realizado utilizando ratos provenientes do Biotério do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM). A temperatura ambiente é controlada a 22 °C. Possui sistema de insuflação, exaustão e filtração do ar das salas com 15 a 20 trocas de ar/h e o ciclo de luz é definido 12 horas de claro e 12 horas de escuro. Foi acondicionado um rato/mini-isolador acoplado a uma rack ventilada. A alimentação e água foram fornecidas ad libidum. A cama utilizada foi de maravalha de Pinus. Submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais

do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM) protocolo sob o nº 143/18, tendo sido considerado aprovado para execução, conforme metodologia apresentada.

Obtenção das amostras

Foram utilizados 15 ratos hípidos, machos, com peso entre 200 a 250g submetidos a duas incisões: sendo a primeira a Ferida Controle, tratada com solução fisiológica a 0,9% e a segunda, Ferida Teste, tratada com papaína a 10%. Ambos estavam previamente contaminados por inoculação de *Staphylococcus aureus* 24 horas antes do início do tratamento. Os animais foram divididos em três grupos com cinco ratos cada: G1 - biopsados no 3º dia, G2 - 7º dia e G3 - 14º dia após a realização das feridas.

Anestesia e ato operatório

Os animais foram submetidos à anestesia dissociativa injetável, utilizando cloridrato de midazolam na dose de 2mg/kg, cloridrato de xilazina na dose de 10mg/kg e cloridrato de cetamina na dose de 70mg/Kg, por via intraperitoneal. A analgesia foi realizada com tramadol, utilizando-se 8mg/kg por via subcutânea. Posteriormente a tricotomia, foi realizada a antissepsia do campo cirúrgico com iodo povidona a 0,2%.

As áreas das incisões circulares foram demarcadas no dorso dos animais utilizando um punch keys metálico de biópsia de 8mm de diâmetro. Este foi introduzido em dois locais na linha sagital mediana torácica dorsal, sendo a primeira no terço proximal (Ferida Controle) e a segunda no terço distal (Ferida Teste). Após a demarcação foram realizadas as incisões circulares nas áreas delimitadas transpassando a pele e o subcutâneo com auxílio de bisturi (cabo nº 3 e lâmina nº 11), expondo a fáscia dorsal muscular. Foi então realizada a contaminação dos sítios cirúrgicos (Ferida Controle e Teste) com o volume de 1mL por animal de solução bacteriana. Por gotejamento foi inoculada a solução de *Staphylococcus aureus* ajustada a $1,5 \times 10^8$ ufc/mL. Os animais foram devidamente identificados e colocados em mini-isoladores individuais.

Avaliação macroscópica

O curativo tópico foi realizado uma vez ao dia. Em seguida, as feridas foram mensuradas com paquímetro e fotografadas, além de avaliação macroscópica quanto à coloração do leito da ferida, presença de crostas, exsudação, contração e prurido, sendo este, avaliado de acordo com o local das lesões onde foi possível observar macroscopicamente escoriações, provavelmente os animais estavam coçando com os membros pélvicos devido à localização da ferida. Foi administrado dipirona sódica na dose de 300mg/kg, por via subcutânea, uma vez ao dia por três dias.

Avaliação microscópica

Findado os 3º, 7º e 14º dias pós-incisão foi realizada a biópsia através de incisão elíptica, retirando-se todo o tecido cicatricial. As amostras foram armazenadas em frascos identificados e fixadas em solução de formaldeído a 10% tamponada e levada ao Laboratório de Histopatologia do Centro Clínico Veterinário (CCV). Ainda sob anestesia, os animais foram colocados em câmara de CO₂ a 5L/min por 10min, para realização da eutanásia, obrigatória de

acordo com as normas do CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal), no qual todos os animais utilizados para experimentos devem ser eutanasiados.

As amostras foram fixadas, desidratadas e emblocadas em parafina. Em seguida, foram realizados os cortes histológicos com 5µm de espessura e fixados dois cortes/amostra/lâmina. Em seguida, as lâminas foram coradas com Hematoxilina Eosina (HE) para avaliar globalmente os cortes de tecido, e pelo Tricrômico de Masson (TM) para avaliação das fibras colágenas. Elas foram analisadas em microscopia de luz em objetiva de 10 e 40x, observando-se: presença de células inflamatórias, proliferação fibroblástica, colagenização, organização das fibras e reepitelização tecidual. Nas observações de microscopia óptica, foi avaliada a colagenização (fibras colágenas). Para tal, foram atribuídas três graduações pelo método de cruzes: 0 ausente, + moderada e ++ acentuada. Referente à presença de células inflamatórias (linfócitos e monócitos) e fibroblastos, estes foram contados em 10 campos, sendo então realizada a média. Avaliação da organização das fibras colágenas deu-se da seguinte forma: desorganizadas, organizadas parcialmente ou completamente. Para a reepitelização tecidual: 0 ausente, + parcial e ++ completa.

Para produção da solução bacteriana foi realizada a ressuspensão das cepas de *Staphylococcus aureus* presentes no Laboratório de Microbiologia. Foi utilizado um tubo contendo em seu interior um swab estéril, um disco com as cepas de *S. aureus* e uma ampola de vidro possuindo o meio de cultura. Em seguida, ocorreu a quebra da ampola de vidro, liberando o meio de cultura para o contato com o swab e com o microrganismo. Após, com o uso do swab contaminado foi feito estrias simples em placas de Petri contendo o meio de cultura Sal Manitol. Ato contínuo as placas foram conduzidas para a estufa de cultura bacteriológica a 35 °C por 24 a 48 horas.

Decorrido esse período foi verificado o crescimento do microrganismo nas placas de Petri. Em seguida com auxílio de uma alça de platina foi feita a transferência de quatro colônias características de *S. aureus* para tubos contendo 5ml de caldo TSB. Posteriormente, estes foram incubados na estufa a 35 °C por 24 horas. Logo após serem retirados da estufa, os tubos contendo o caldo foram novamente semeados para placas contendo o meio de cultura Sal Manitol e sucessivamente incubados na estufa a 35 °C por 24 horas. Dessa forma, foram realizados dois testes de viabilidade das colônias. No Laboratório de Manipulação da Farmácia Universitária foi confeccionada a pomada de papaína a 10% adicionando 80g de carbopol, 9,5mL de água e 10,5g de papaína.

Análise Estatística

Foi realizada análise estatística descritiva absoluta (n) e relativa (%) dos resultados das análises macroscópica e histopatológica. As características qualitativas foram avaliadas pela estatística descritiva absoluta e relativa. Os dados das características quantitativas, foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e posteriormente, ao teste de Tukey, utilizando o software R (2020) considerando o nível de significância de 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise macroscópica das Feridas Controle e Teste ao 3º dia não apresentou alterações marcantes entre os grupos. Em todas as feridas (Controle e Teste) foram evidenciadas

crostas (escaras) de coloração amarelada, com início do processo de contração, porém sem a presença de prurido ou sinais de infecção. De acordo com Ferreira *et al.* (2008) em que avaliaram a atividade antibacteriana in vitro de géis com diferentes concentrações de papaína foi demonstrado que apenas a papaína a 10% foi capaz de inibir o crescimento de *S. aureus* e de duas cepas de *P. aeruginosa*.

O exudato foi relatado em 40% para ambas as Feridas Controle e Teste. Apesar da coloração amarelada do leito das feridas deveu-se a presença de fibrina. Estes achados estão descritos na Tab. 01.

Tabela 01: Frequência relativa (%) referente à presença das características macroscópicas nas Feridas Controle e Teste no 3º, 7º e 14º dias após a cirurgia.

3º dia						
Características Macroscópicas (%)						
Ferida	Exsudato	Prurido	Coloração da ferida		Crosta	Contração
			Vermelha	Amarela		
Controle	40	00	00	100	100	80
Teste	40	00	00	100	100	100
7º dia						
Características Macroscópicas (%)						
Ferida	Exsudato	Prurido	Coloração da ferida		Crosta	Contração
			Vermelha	Amarela		
Controle	40	40	00	100	80	100
Teste	60	60	00	100	20	100
14º dia						
Características Macroscópicas (%)						
Ferida	Exsudato	Prurido	Coloração da ferida		Crosta	Contração
			Vermelha	Amarela		
Controle	00	40	0	0	40	100
Teste	00	00	0	0	00	100

Resultados semelhantes foram descritos por Brito Junior e Ferreira (2015) em que utilizaram papaína na cicatrização de feridas cutâneas em ratos e observaram macroscopicamente que as lesões teciduais induzidas cirurgicamente e contaminadas com *S. aureus*, tratadas ou não com papaína, seguiram à mesma série de eventos do processo inflamatório relacionado à cicatrização, sendo esta etapa também descrita por diversos autores (OLIVEIRA, 2012; SZWED, 2016; MEDEIROS, 2016). Veja as alterações na Fig. 01A.

Ao 7º dia observou-se que 100% das Feridas (Controle e Teste) apresentavam contração parcial, com coloração amarelada (Fig. 01B). As Feridas Teste revelaram perda precoce das escaras quando comparado com o Controle. No entanto, ao avaliar o exsudato, este revelou presença discretamente superior nas Feridas Teste. Estes dados encontram-se descritos na Tab. 01.

Nayak *et al.* (2007) avaliaram a cicatrização de feridas cutâneas tratadas com papaína em ratos Wistar induzidos experimentalmente a diabetes e relataram que a papaína demonstrou efetivas propriedades cicatrizantes, pois houve uma redução do tamanho da ferida no 5º dia em comparação com o grupo Controle.

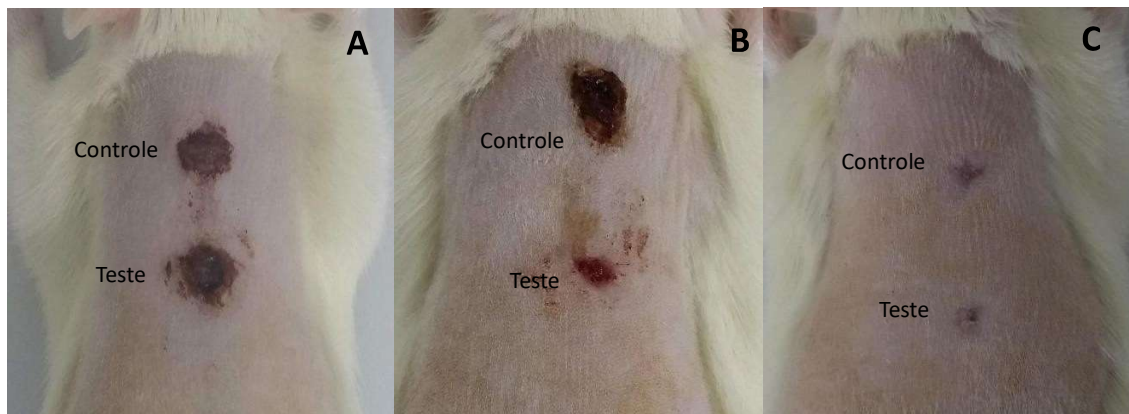


Figura 01: Macrofotografias das Feridas Controle e Teste, realizadas na linha mediana dorsal dos animais ao 3º, 7º e 14º dias de cicatrização.

Obs.: A = 3º dia: Ferida Controle e crostas e contração parcial; B = 7º dia: Ferida Controle, crostas e exsudato e ausência de crostas, contração parcial; C = 14º dia: Ferida Controle, contração parcial e presença de cicatriz e contração completa para o período pré-determinado e cicatriz.

O prurido evidenciado segundo Ikoma *et al.* (2003) pode ser definido por uma sensação desagradável que induz o animal a coçar, a lamber, a morder ou a arranhar a sua própria pele, interferindo no processo cicatricial das feridas e desencadeando sensação dolorosa. A sua presença se deve a liberação de substâncias como proteases, histamina, neuropeptídeos, opioide, mediadores lipídicos e diversas citocinas que se ligam a receptores, também chamados prurireceptores, que medeiam o prurido (GNIRS e PRÉLAUD, 2005; LORENTZ *et al.*, 2009; METZ *et al.*, 2011).

A presença de dor por sua vez estimula reações neuroendócrinas, responsáveis por várias modificações fisiológicas que conseqüentemente dificultam a recuperação do paciente após um procedimento cirúrgico, ou a cicatrização de uma lesão (FANTONI, 2012; MACFARLANE *et al.*, 2014).

Todas as Feridas do presente estudo ao 14º dia apresentaram contração, sendo esta parcial ou completa. A completa foi evidenciada mais frequentemente nas Feridas Teste. Quanto às crostas, esta esteve presente apenas nas Feridas Controle. Referente à coloração do leito das feridas observou-se que estes apresentaram-se brancos, pois majoritariamente já exibiam a formação da cicatriz (Fig. 01C). Estes dados encontram-se descritos na Tab. 01.

Hakim *et al.* (2019), que utilizaram o extrato de *Carica papaya* para avaliar a cicatrização de feridas incisadas em camundongos, observaram que os grupos tratados com 50% e 75% do extrato de mamão obtiveram macroscopicamente a redução total do comprimento da ferida ao 14º dia de cicatrização. Resultados esses, que corroboram com o apresentado no presente estudo.

Assim, através da avaliação macroscópica, notou-se que o uso da pomada de papaína a 10% na ferida teste se mostrou mais eficiente quando comparada a controle (tratamento com solução fisiológica), aos 7º e 14º dias do experimento (Figs. 01B e 01C). No tocante a avaliação histopatológica as células inflamatórias não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos, porém revelou efeito significativo ($p < 0,05$) entre os dias de avaliação. Estes achados encontram-se descritos na Tab. 02.

Tabela 02: Médias e valores-P para as variáveis células inflamatórias e fibroblastos no 3º, 7º e 14º após a cirurgia.

Tempo Pós-cirúrgico	Média de CélulasInflamatórias	Média de Fibroblastos
3º dia	Média	Média
Controle	201 ^a	0 ^a
Teste	150,2 ^a	0 ^a
p (valor)	0,0922	0
7º dia	Média	Média
Controle	178,2 ^b	35 ^b
Teste	148 ^b	64,8 ^c
p (valor)	0,437	0,0208
14º dia	Média	Média
Controle	77,6 ^c	69,8 ^c
Teste	79,2 ^c	78 ^c
p (valor)	0,907	0,651

Ao 3º dia, ambas as feridas (controle e teste) apresentaram intenso infiltrado inflamatório composto predominantemente por células mononucleares (Figs. 2A e 2B).

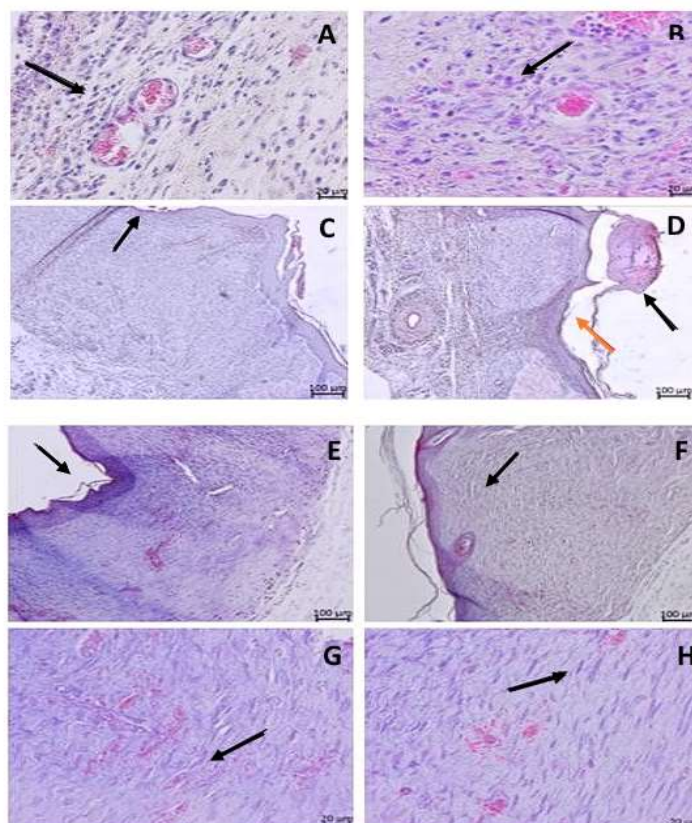


Figura 02: Fotomicrografias das alterações histopatológicas das feridas Controle e Teste corados com H.E e T.M (5,1x e 40x).

Obs.: A = Ferida ao 3º dia Controle; B = Infiltrado inflamatório; C = Ferida ao 7º dia, epitelição parcial; D = crosta hemato-fibrinosa (seta preta) e epitelição completa (seta vermelha); E = Ferida ao 14º dia, epitelição completa e queratinização; F = Epitelição e organização completa das fibras colágenas; G = Ferida ao 14º dia, Controle; H = Grande presença de fibroblastos.

Recebido: jun./2023.

Publicado: dez./2023.

Segundo Dale e Foreman (1989) na maioria das inflamações agudas prevalecem os neutrófilos durante as primeiras 6 e 24 horas no infiltrado inflamatório, mas estes são substituídos em 24 a 48 horas por células mononucleares. Além disso, os neutrófilos, que possuem curta meia-vida, desintegram-se e desaparecem após 24 a 48 horas, enquanto os monócitos permanecem por mais tempo.

No trabalho realizado por Rocha *et al.* (2005) foi observado que tanto nas lesões do grupo controle quanto nas do tratado com papaína a 10% por 7 dias havia presença de exsudato inflamatório mononuclear difuso e tecido de granulação frouxo de quantidade moderada, com fibroblastos e fibras colágeno de distribuição desorganizada. Diferindo apenas na presença da crosta hemato-fibrinosa, a qual estava ausente no grupo tratado com papaína, estando estes resultados de acordo com o presente trabalho.

Ao comparar o 3º e 7º dia, não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre si quanto a variável células inflamatórias, porém foi encontrada diferença ($p < 0,05$) entre os dois primeiros dias avaliados e o 14º dia, indicando que conforme os dias avançam o número de células inflamatórias diminui, conforme descrito na Tab. 02.

Segundo Hax (2009) que avaliou os efeitos da utilização da papaína a 2% e dos ácidos graxos essenciais em lesões cutâneas, os achados histológicos revelaram no terceiro dia a presença de grande infiltrado inflamatório no processo cicatricial na aplicação dos tratamentos propostos, estando de acordo com os dados do presente estudo.

As feridas, no tratamento controle, obtiveram média menor de células inflamatórias no 3º e 7º dia em relação à ferida controle (Tab. 02). Fato este que também foi observado por Brito Junior e Ferreira (2015) no qual o tratamento com solução de papaína a 10%, foi efetivo na fase inflamatória do processo de cicatrização tecidual séptica, contribuindo de forma relevante para a diminuição do exsudato inflamatório, auxiliando na decomposição dos restos necróticos e manutenção do controle da infecção, em comparação com o grupo controle, o que também é corroborado por outros autores na literatura com estudos clínicos em humanos para lesões sépticas (UDOD *et al.*, 1981; ROGENSKI *et al.*, 1995; MONETTA, 1998).

No 3º dia, a epitelização não foi observada nas Feridas Controle e Teste. Em contrapartida, ao 7º dia observou-se predomínio da epitelização parcial nas feridas controle (Fig. 02C). No 14º dia a mesma mostrou-se majoritariamente completa nas feridas controle e teste (Figs. 02E e 02F). Estes achados encontram-se descritos na Tab. 01.

Na pesquisa de Ajlia *et al.* (2010), em que investigaram a eficácia do limpador de feridas à base de papaína na promoção da regeneração de feridas em ratos Sprague Dawley, o grupo tratado com papaína atingiu reepitelização total no 14º dia, assim como no presente estudo. Em estudo realizado por Araújo *et al.* (2019), em que avaliaram a eficácia da papaína 2% na cicatrização de feridas em ratos, foi observado microscopicamente que no 7º dia de cicatrização o seu uso causou baixa infiltração leucocitária, porém iniciou a formação de fibras de colágeno e reepitelização. Os achados destes autores corroboram com os resultados deste trabalho, demonstrando assim que mesmo em concentrações mais baixas, ela induz efetiva resposta na cicatrização.

Quanto a presença de fibroblastos, observou-se diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos apenas no 7º dia. Estes achados encontram-se descritos na Tab. 04. Também havendo efeito significativo ($p < 0,05$) entre os dias de avaliação. A sua média nas Feridas Teste revelou-se maior nos dias 7 e 14 do que quando comparada a das Feridas Controle,

conforme a Tab. 04. Infere-se também que com o decorrer do tempo, o número de fibroblastos aumenta (Figs. 02G e 02H) fato este corroborado por Knighton *et al.* (1981).

O presente trabalho apresentou-se uma concordância com os resultados de estudos clínicos, observados na literatura (WISEMAN, 1980; MONETTA, 1992 e 1998) bem como aos de Brito Júnior e Ferreira (2015). Nestes estudos, os autores afirmam que a utilização de soluções de papaína a 10% também se mostrou eficaz para o desenvolvimento da fase de fibroplasia, com o auxílio na formação do tecido de granulação denso e remodelagem tecidual, abundante quantidade de fibroblastos e matriz colágeno, em comparação com o grupo controle.

No entanto, estes resultados diferem dos achados de SANCHEZ *et al.* (1993), em que constataram que para os tratamentos com soro fisiológico e papaína, os valores sofreram um aumento significativo a partir do 3º dia, com pico no 7º dia de pós-operatório havendo posteriormente um decréscimo significativo no 14º dia.

Referente ao processo de colagenização, ao 3º dia, ambas as Feridas (Controle e Teste) se mostraram sem fibras colágenas e ao 7º dia estavam presentes de forma moderada em todas as Feridas Controle e em pouco mais da metade das Feridas Teste. Ao 14º dia foi considerada acentuada a presença das mesmas em pouco menos da metade das Feridas Controle e na totalidade das Feridas Teste (Tab. 03).

Ajlia *et al.* (2010), realizaram avaliação de feridas tratadas com papaína 5%, observaram que a densidade de colágeno foi maior no 14º dia, permanecendo até o 21º dia, sendo este último o grupo com maior deposição de colágeno, coincidindo com os achados do presente estudo. Quanto as fibras colágenas ao 7º dia, estas mostraram-se parcialmente organizadas em ambas as Feridas e no 14º dia estavam completamente organizadas em aproximadamente metade das Feridas Controle e em pouco mais da metade das Feridas Teste (Fig. 02F), conforme a Tab. 03.

Tabela 03: Frequência relativa (%) correspondente a epitelização, presença de fibras colágenas e a organização das fibras colágenas das Feridas Controle e Teste no 3º, 7º e 14º dia.

Dias	Epitelização		Fibras colágenas		Organização das fibras colágenas	
	Ferida Controle	Ferida Teste	Ferida Controle	Ferida Teste	Ferida Controle	Ferida Teste
3	100% ausente	10% ausente	100% ausente	100% ausente	-	-
7	80% Parcial	60% parcial	100% moderada	60% moderada	60% org.parcial.	40% org.parcial.
14	20% completa	40% completa	0% acentuada	40% acentuada	40% desorg.	40% desorg.
	0% Parcial	20% parcial	40% acentuada	100% acentuada	40% org.comp.	60% org.comp.
	100% completa	80% completa	60% moderada	0% moderada	40% org.parcial.	40% desorg.

Na cicatrização, a fase de maturação tem como característica mais importante a deposição de colágeno de maneira organizada (BROUGHTON, 2006). De acordo com Araújo *et al.* (2019), aos 14 dias foi observado que no grupo tratado com papaína 2% as fibras de colágeno apresentavam-se mais densas e mais fechadas em comparação com os outros grupos

que receberam tratamentos com colagenase 0,6U/g e solução fisiológica. Indicando uma melhor organização das fibras de colágeno e conseqüentemente uma cicatrização mais eficaz o que corrobora com os resultados do presente estudo. Neste sentido, torna-se importante reiterar que mesmo em baixas concentrações a papaína é capaz de promover uma boa resposta cicatricial.

Em última análise, microscopicamente, as Feridas Teste (papaína a 10%) obtiveram uma melhor resposta, em relação às Feridas Controle, sob vários aspectos como: menor presença de crosta hemato-fibrinosa; menor infiltrado inflamatório no 3º e 7º dia, maior quantidade de tecido de granulação variando de moderado a acentuado no 14º dia; maior quantidade de fibroblastos no 7º e 14º dia e maior presença de matriz colágena (organizada) ao 14º dia.

Estes dados corroboram com o trabalho realizado por Rocha *et al.* (2005) que utilizaram papaína em diferentes concentrações, sendo estas de 4, 6 e 10% e são similares aos resultados microscópicos obtidos por Sanchez *et al.* (1993) que trabalharam com papaína a 2%, exceto pelo fato de que esses autores observaram, no 7º dia de análise, a manutenção da crosta hemato-fibrinosa e no 21º dia a presença de tecido de granulação rico em fibras colágenas menos organizadas. Estas diferenças se devem provavelmente em função da variação da concentração de papaína adotada que foi inferior à utilizada neste trabalho.

CONCLUSÕES

Concluiu-se que a utilização da papaína a 10% em lesão tecidual contaminada pode auxiliar de forma positiva o processo cicatricial com a redução do tempo de permanência da crosta hemato-fibrinosa, maior deposição de matriz colágena e reorganização da derme, assim como da presença de menor infiltrado inflamatório.

REFERÊNCIAS

- ADIELE, L.C.; ADIELE, R.C./ ENYE, J.C. Wound healing effect of methanolic leaf extract of *Napoleona vogelii* (Family: *Lecythidaceae*) in rats. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v.7, n.8, p.620-624, 2014.
- AJLIA, S.A.; MAJID, F.A.; SUVIK, A.; EFFENDY, M.A.; NOURI, H.S. Efficacy of papain-based wound cleanser in promoting wound regeneration. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.13, n.12, p.596-603, 2010.
- AMALSADVALA, T.; SWAIM, S. Management of hard to heal wound. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Philadelphia, v.36, n.4, p.693-711, 2006.
- ARAÚJO, L.J.S.; NAVA, J.R.B.; BARRIENTOS, M.O. Análise macro e microscópica da cicatrização de feridas agudas em ratos utilizando a papaína 2%. **Revista Brasileira de Saúde Funcional**, v.7, n.1, p.42-52, 2019.
- BAIDANMESHINA, D.R.; KOROLEVA, V.A.; OLSHANNIKOVA, S.S.; TRIZNA, E.Y.; BOGACHEV, M.I.; ARTYUKHOV, V.G.; HOLYAVKA, M.G.; KAYUMOV, A.R. Biochemical Properties and Anti-Biofilm Activity of Chitosan-Immobilized Papain. **Marine Drugs**, v.19, n.4, art. 197, 2021.

BRITO JUNIOR, L.C.; FERREIRA, P.L. Cicatrização de feridas contaminadas tratadas com papaína. **Medicina** (Ribeirão Preto), v.48, n.2, p.168-74, 2015

BROUGHTON, G.; JANIS, J.E.; ATTINGER, C.E. Wound healing: an overview. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v.117, n.7, supl.1e-S-32e-S, p.1eS-32eS, 2006.

DALE, M.M.; FOREMAN, J.C. Introduction to immunology and pathology of host defence mechanisms. In: DALE, M.M.; FOREMAN, J.C., **Textbook of Immunopharmacology**. 1. ed. Blackwell Scientific Publications, 1989, p.401-411.

FANTONI, D.T. Fatos históricos: a dor como sinal vital; a ética no tratamento da dor; princípios básicos de farmacocinética e farmacodinâmica dos analgésicos para alívio da dor. In: FANTONI, D.T. **Tratamento da dor na clínica de pequenos animais**. 1. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, cap.1/3, 2012. p.3-27.

FEIJÓ, E.; CRUZ, I.C.F.; LIMA, D.V.M. Infecção da ferida - revisão sistematizada da literatura. **Online Brazilian Journal of Nursing**, v.7, p.3, 2008. Disponível em: <https://www.objnursing.uff.br/index.php/nursing/article/view/j.1676-4285.2008.1819/433>. Acesso em: 02 fev. 2019.

FERREIRA, A.M.; WATANABE, E.; NASCIMENTO, A.P.; ANDRADE, D.; ITO, I.Y. Atividade anti-bacteriana in vitro de géis com diferentes concentrações de papaína. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v.10, n.4, p.1035-1040, 2008.

GNIRS, K.; PRÉLAUD, P. Cutaneous manifestations of neurological diseases: 21 review of neuro-pathophysiology and diseases causing pruritus. **Veterinary Dermatology**, v.16, n.3, p.137-146, 2005.

GREENE, C.E.; DEARMIN, M.G. Surgical and traumatic wound infections. In: GREENE, C.E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3. ed. Saint Louis: Saunders/Elsevier, 2006. p.524-531.

HAKIM, R.F.; FAKHRURRAZI, D. Effect of *Carica papaya* extract toward incised wound healing process in mice (*Mus musculus*) Clinically and Histologically. Hindawi. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.2019, p.1-5, 2019.

HAX, G. **Comparando os efeitos da utilização da papaína e dos ácidos graxos essenciais AGE em lesões cutâneas: estudo experimental**, 2009. 89p. (Dissertação de Mestrado em Medicina e Ciências da Saúde). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

IKOMA, A., RUKWIED, R., STÄNDER, S., STEINHOFF, M. Neurophysiology of pruritus – interaction of itch and pain. **Archives of Dermatology**, v.139, n.11, p.1475–1478, 2003.

KNIGHTON, D.R.; SILVER, I.; HUNT, T.K. Regulation of wound-healing angiogenesis–effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration. **Surgery**, v.90, n.2, p.262-270, 1981.

LORENTZ, M.D.; NEER, T.M.; DEMARS, P.L. **Small Animal Medical Diagnosis**. 3. ed. Wiley-Blackwell, 2009.

MACFARLANE, P.D.; TUTE, A.S.; ANDERSON, B. Therapeutic options for the treatment of chronic pain in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v.55, n.3, p.127-134, 2014.

MASSON-MEYERS, D.; ENWEMEKA, C. S.; BUMAH, V.; ANDRADE, T.; FRADE, M.A. Topical treatment with *Copaifera langsdorffii* oleoresin improves wound healing in rats. **Intern. Avicenna Journal of Phytomedicine**, v.5, n.3, p.378-386, 2013.

MEDEIROS, F. Cicatrização das feridas cirúrgicas. **Journal of Surgical and Clinical Research.**, v.7, n.2, p.87-102, 2016.

METZ, M.; GRUNDMANN, S.; STANDER, S. Pruritus: an overview of current concepts. **Veterinary Dermatology**, v.22, n.2, p.121-131, 2011.

MONETTA, L. Uso da papaína nos curativos feitos pela enfermagem. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v.40, n.1, p.66-73, 1987.

MONETTA, L. Utilização de novos recursos em curativos num consultório de enfermagem. **Revista Paulista de Enfermagem**, v.11, n.1, p.19-26, 1992.

MONETTA, L. **Análise evolutiva do processo de cicatrização em úlceras diabéticas, de pressão e venosa com uso da papaína**, 1998. 171p. (Dissertação de Mestrado em Administração em Enfermagem). São Paulo: EEUSP, 1998.

MORRIS, D.O. Unusual Pyoderma. In: Annual Congress of the ESVD-ECVD, n.25, 2011, Bélgica. **Anais...** Bruxelas: Bélgica, 2011.

NAYAK, S.; PINTO, B. PEREIRA, L.; MAHARAJ, D. Wound healing activity of *Carica papaya* L. in experimentally induced diabetic rats. **Indian Journal of Experimental Biology**, v.45, n.8, p.739-743, 2007.

OLIVEIRA, D. Wound healing: stages and influencing factors. **Acta Veterinária Brasília**, v.6, n.4, p.267-271, 2012.

PAYNE, W.G.; SALAS, R.E.; KO, F.; NAIDU, D.K.; DONATE, G.; WRIGHT, T.E.; ROBSON, M.C. Enzymatic debriding agents are safe in wounds with high bacterial bioburdens and stimulate healing. **Journal of Plastic Surgery**, v.8, n.17, p.151-156, 2008.

ROCHA, A.P.A.; GURJÃO, W.S.; BRITO JUNIOR, L.C. **Avaliação morfológica da cicatrização de lesões ulcerativas assépticas tratadas com soluções de papaína**. In: VII Congresso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica, 2005.

R CORE TEAM, R. **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2020. Disponível em: <https://www.r-project.org/>. Acesso em: 02 fev. 2019.

ROGENSKI, N.M.B.; GUEDES, M.L.; BAPTISTA, C.M.C.; COSTA, L.D.F. Uso de papaína em infecções de vísceras. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v.48, n.2, p.140-3, 1995.

SANCHEZ, NETO R.; BARONE, B.; TEVES, D.C.; SIMÕES, M.J.; NOVO, N.F.; JULIANO, Y. Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas de ratos com e sem tratamento com solução de papaína a 2%. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.8, n.1, p.18-23, 1993.

SIBBALD, R.G.; ORSTED, H.; SCHULTZ, G. S.; COUTTS, P.; KEAST, D. Preparing the wound bed 2003: focus on infection and inflammation. **Ostomy/Wound Management**, v.49, n.11, p.24-51, 2003.

SILVA, C.C.R; ROGENSKI, N.M.B. Uso da papaína: conhecimento de enfermeiros em um hospital da cidade de São Paulo. **Revista Estima**, v.1, n.8, p.12–18, 2010.

SZWED, S. Fatores de crescimento envolvidos na cicatrização de pele. **Cadernos da Escola de Saúde**, Curitiba, v.1, n.15, p.7-17, 2016.

UDOD, V.M.; STOROJUK, V.T. Use of papain in treating suppurative postoperative soft tissue complications and diseases. **Khirurgiia** (Mosk), v.5, n.1, p.99-101, 1981.

URUMOVA, V.; CHAPRAZOV, T.S.; LYUTSKANOV, M.; BORISOV, I. Microbiological analyses of canine infected wounds. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v.163, n.4, p.201-205, 2012.

WISEMAN, A. **Topics in enzyme and fermentation biotechnology**. 1. ed. Chischester: Ellis Horwood, 1980. 4119-4126p.