

Avaliação microbiológica da pele de Tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus) armazenada após descontaminação química para realização de curativos em cães

Microbiological evaluation of skin of Nile Tilapia (Oreochromis niloticus) stored after chemical decontamination for dressing dogs

DOI:10.34117/bjdv8n7-165

Recebimento dos originais: 23/05/2022 Aceitação para publicação: 30/06/2022

Nicolle Kasai do Vale Barreira

Médica Veterinária formada pela Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP)

Instituição: Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP), Campus Luiz Meneghel Endereço: Campus Luiz Meneghel, Rodovia BR-369, Km 54, Cx P. 261, Vila Maria,

> CEP: 86360-000, Bandeirantes – PR E-mail: nicollebarreira123@gmail.com

Caroliny Costa dos Santos

Médica Veterinária formada pela Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP)

Instituição: Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP), Campus Luiz Meneghel Endereço: Campus Luiz Meneghel, Rodovia BR-369, Km 54, Cx P. 261, Vila Maria, CEP: 86360-000, Bandeirantes – PR

E-mail: carolcostasantos131@gmail.com

Claudia Yurika Tamehiro

Professora, Doutora do Setor de Medicina Veterinária e Produção Animal pela Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP)

Instituição: Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP), Campus Luiz Meneghel Endereço: Campus Luiz Meneghel, Rodovia BR-369, Km 54, Cx P. 261, Vila Maria,

CEP: 86360-000, Bandeirantes – PR E-mail: yurikatamehiro@gmail.com

Francielle Gibson da Silva Zacarias

Professora, Doutora do Setor de Medicina Veterinária e Produção Animal pela Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP)

Instituição: Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP), Campus Luiz Meneghel Endereço: Campus Luiz Meneghel, Rodovia BR-369, Km 54, Cx P. 261, Vila Maria,

CEP 86360-000, Bandeirantes – PR E-mail: franciellegs@uenp.edu.br



Carlos Eduardo Pinto Lima Graziano

Mestre em Agronomia pela Faculdade de Agronomia, Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP)

Instituição: Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP), Campus Luiz Meneghel Endereço: Campus Luiz Meneghel, Rodovia BR-369, Km 54, Cx P. 261, Vila Maria, CEP 86360-000, Bandeirantes – PR

E-mail: carlospig@hotmail.com

Ademir Zacarias Junior

Professor, Doutor do Setor de Medicina Veterinária e Produção Animal pela Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP)

Instituição: Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP), Campus Luiz Meneghel Endereço: Campus Luiz Meneghel, Rodovia BR-369, Km 54, Cx P. 261, Vila Maria,

CEP 86360-000, Bandeirantes – PR E-mail: zacarias@uenp.edu.br

RESUMO

A pele de Tilápia do Nilo passou a ser considerada como um possível biocurativo, podendo ser utilizado em feridas superficiais, visando o reparo tecidual de forma mais rápida e menos dolorosa. Entretanto, para o sucesso do procedimento é necessário que a pele passe por rigorosos processos de descontaminação. O objetivo desse trabalho foi comprovar a eficácia do método de descontaminação química desse biomaterial com clorexidina e glicerol com armazenamento de até 60 dias. Em dois períodos de análises, foram utilizadas quatro Tilápias do Nilo. Após o abate, as peles foram removidas e, em seguida, foi realizado a descontaminação química utilizando gluconato de clorexidina a 2% e glicerol em diversas concentrações. As amostras foram armazenadas sob refrigeração (4°C) em envelopes plásticos com dupla selagem. Nos dias 0, 7, 15, 30, 45 e 60, foi realizado a semeadura de uma solução contendo fragmentos de pele em placas dos meios de cultura ágar Sangue, ágar Macconkey e Sabouraund permanecendo encubadas por 72 horas. Após esse período, foi realizada a análise macroscópica e microbiológica de cada placa para a identificação de colônias e não foi observado crescimento bacteriano e/ou fúngico. O método de descontaminação utilizado teve a eficácia comprovada, visto que não houve crescimento bacteriano e/ou fúngico nas estrias de inoculação dos meios de cultura utilizados. Essa metodologia permite a criação de um banco de pele de tilápias armazenadas por até 60 dias.

Palavras-chave: biocurativos, descontaminação química, lesão tegumentar.

ABSTRACT

The skin of Nile Tilapia came to be considered as a possible biocurative and can be used in superficial wounds aiming at tissue repair in a faster and less painful way. However, for the procedure to be successful, the skin must undergo descontamination procedures. The objective of this research was to prove the effectiveness of the chemical descontamination method of this biomaterial wich chlorhexidine and glycerol with storage of up to 60 days. After slaughter, the skins were removed and then chemical descontamination was performed using 2% chlorhexidine gluconate and glycerol in different concentrations. The samples were stored under refrigeration (4°C) in doublesealed plastic envelopes. On days 0, 7, 15, 30, 45 and 60,0 a solution containing skin fragments was seeded on plates of Blood agar, Macconkey and Sabouraund agar, remaining incubated for 72 hours. After this period, macroscopic and microbiological



analysis of each plate was performed to identify colonies and no bacterial or fungal growth was observed. The descontamination method used had proven effectiveness, since there was no bacterial or fungal growth in the inoculation streaks of the culture media used. This methodology allows the creation of a bank of tilápia skin stored for up to 60 days.

Keywords: biocurative, chemical descontamination, skin injury.

1 INTRODUÇÃO

A lesão do tecido tegumentar em decorrência de traumas de diversas origens varia desde a formação de bolhas até formas mais extensas e profundas, envolvendo epiderme, derme e tecidos adjacentes (ALVES et al., 2015; LIMA JÚNIOR et al., 2017). A resposta do organismo à agressão é proporcional à gravidade que, dependendo, pode resultar em incapacidade física e levar até mesmo a morte.

Dependendo do tipo de ferida, como no caso de feridas cutâneas abertas contaminadas em que não se recomenda o fechamento por oclusão primária ou secundária, ou então feridas com extensas perdas cutâneas, recomenda-se a utilização de curativos biológicos devido à sua capacidade de se aderir ao leito da lesão e favorecer a migração de fibroblastos e queratinócitos (SANTOS E ALENCAR, 2021). Por esse motivo, estudos vêm sendo realizados com o objetivo de encontrar curativos com propriedades de reduzir a contaminação das lesões, favorecer o processo cicatricial e promover melhores resultados estéticos (LIMA JÚNIOR et al., 2017).

Com o avanço da tecnologia, tem-se buscado materiais que possam servir de curativos biossintéticos que atendam à essas características, como pele de porco, submucosa de intestino suíno, pele de rã, pericárdio ou tendão bovino. Porém, tendo em vista o alto potencial de contaminação desses materiais - como a transmissão de encefalopatia espongiforme – foi necessário a busca por outras possibilidades (BAOSHENG et al., 2020; ELBIALY et al., 2020; MIRANDA E BRANDT, 2019; POTAROS et al., 2009; SONG et al., 2019; ZHOU et al., 2016).

A Tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus), pertencente à família dos ciclídeos, teve sua origem na Bacia do Nilo, no Leste da África e, atualmente, encontra-se presente nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo. Sua pele é comumente utilizada para fins artesanais, no entanto, é possível utilizá-la para inúmeras finalidades devido ao seu baixo custo – por estar disponível em território nacional, não necessitando de importação por ser um recurso ilimitado no Brasil – e por apresentar excelentes



qualidades no que se refere às características histomorfológicas (ALVES et al., 2018; FRANCO et al., 2013).

Nessas circunstâncias, a pele de Tilápia do Nilo se destacou, recentemente, como possível subproduto com aplicabilidade clínica de novos biomateriais utilizáveis para a bioengenharia. Pesquisadores do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos da Universidade Federal do Ceará concluíram que a pele de Tilápia do Nilo possui características histomorfológicas semelhantes à pele humana, compostas por feixes de colágeno que são fundamentais para definir e orientar a cicatrização (LIMA JÚNIOR et al., 2017). A pele também apresenta boa resistência à tração e peptídeos com possíveis funções antimicrobianas. Esses são alguns dos fatores que favorecem a biocompatibilidade e permitem redução na frequência de troca do curativo (ALVES et al., 2015; LIMA JÚNIOR et al., 2017; MIRANDA E BRANDT, 2019; ALVES et al., 2018).

A pele de tilápia, utilizada para o tratamento de feridas abertas superficiais, visa o reparo tecidual de forma mais rápida e menos dolorosa, podendo ser mantida até a completa cicatrização da ferida e não necessitando de trocas diárias como os curativos convencionais (LIMA JÚNIOR et al., 2017; MIRANDA E BRANDT, 2019; FILHO et al., 2017; SILVA et al., 2019). Sua utilização diminui o emprego de antibióticos, evitando a indução de resistência bacteriana e o impacto ambiental (MIRANDA E BRANDT, 2019; ALVES et al., 2018; SILVA et al., 2019).

Por ser um material de origem biológica, pode haver transmissão de agentes patogênicos através do xenoenxerto, portanto, para o sucesso do procedimento, é necessário que a pele passe por rigorosos processos de descontaminação, garantindo que ela esteja apta para utilização (ALVES et al., 2018). Os métodos usuais para a descontaminação são o tratamento químico ou por radiação (ALVES et al., 2018).

O presente trabalho buscou pesquisar a forma de processamento e descontaminação através do método químico utilizando as soluções de gluconato de clorexidine a 2%, cloreto de sódio (NaCl) 0,9% e glicerol em altas concentrações, bem como a eficácia dessa forma de descontaminação em diferentes tempos de armazenamento.



2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada de acordo com autorização emitida pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual do Norte do Paraná, de acordo com o protocolo número 11/2019, no dia 12 de julho de 2019.

2.1 CAPTURA E ABATE DOS ANIMAIS

Em duplicata em períodos distintos de análises foram selecionadas quatro Tilápias do Nilo (Oreochromis niloticus L.), com peso individual entre 800 a 1000g, em cada um dos experimentos. Os animais foram provenientes de um tanque de piscicultura localizado em uma propriedade rural do município de Bandeirantes-PR. Após a captura por rede, os peixes foram colocados em caixa isotérmica contendo água e gelo na proporção de 1:1 com a finalidade de alcançar a insensibilização através do choque térmico. O abate foi realizado por secção de medula no Laboratório de Microbiologia da UENP - Campus Luiz Meneghel (SILVA et al., 2019).

2.2 PREPARAÇÃO DA PELE DE TILÁPIA

Após o abate, foi realizada uma incisão ampla com o bisturi, sobre a pele da região lateral do animal e, em seguida, foi retirada com o auxílio de um alicate turquesa (Figura 1).



Figura 1: Pele de tilápia removida com auxílio de um alicate turquesa.

Fonte: (Barreira, 2019).



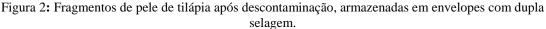
Posteriormente, com auxílio de um bisturi, foram retiradas as escamas e resquícios de músculos que ainda permaneciam ligados à pele. Em seguida, as peles foram submetidas à lavagem em água corrente para a remoção de qualquer resíduo de sangue e outras impurezas (LIMA JÚNIOR et al., 2017). As peles foram colocadas em um recipiente contendo solução de NaCl 0,9% estéril, previamente resfriada (24 horas) a 4°C, para a limpeza final.

2.3 DESCONTAMINAÇÃO E ARMAZENAMENTO

As peles foram recortadas em fragmentos de 4,0 x 4,0 cm e mantidas em grupos de quatro em recipiente estéril (placas de Petri) contendo gluconato de clorexidina a 2% por 30 minutos. Em seguida, os fragmentos foram removidos dessa solução, lavados com NaCl a 0,9% estéril e transferidos para outro recipiente estéril, contendo nova solução de gluconato de clorexidina a 2%, por mais 30 minutos. Na sequência, as peles foram enxaguadas com NaCl a 0,9% e inseridas em um recipiente contendo 50% de glicerol e 50% de NaCl a 0,9%. Nessa solução os fragmentos de pele permaneceram refrigerados a 4°C por um período de 24 horas (LIMA JÚNIOR et al., 2017).

Após as 24 horas na solução descrita anteriormente, as peles foram lavadas com NaCl a 0,9% e colocadas em um novo recipiente contendo 75% de glicerol e 25% de NaCl a 0,9% (as peles foram massageadas manualmente, utilizando luva estéril, durante 5 minutos, com o objetivo de potencializar a penetração da solução no tecido) e mantidas por mais 3 horas. Em seguida, foram removidas, enxaguadas novamente com NaCl a 0,9% estéril e acondicionadas a outro recipiente estéril contendo 100% de glicerol (os fragmentos foram novamente massageados por 5 minutos) e mantidas por mais 3 horas. Após esse período, as peles foram acondicionadas em duplos envelopes plásticos, com dupla selagem e armazenados sob refrigeração à temperatura de 4°C (LIMA JÚNIOR et al., 2017; ALVES et al., 2018).







Fonte: (Barreira, 2019).

2.4 SEMEADURA E AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

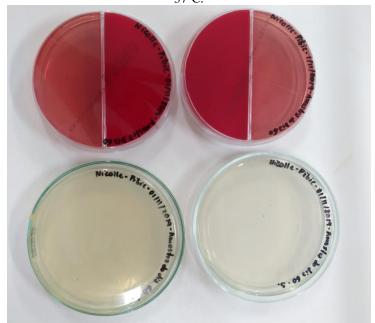
Nos dias 0, 7, 15, 30, 45 e 60, um envelope plástico era aberto e um recorte de pele era retirado com auxílio de uma pinça anatômica previamente esterilizada e lavado com NaCl a 0,9% estéril durante 5 minutos. Em seguida os fragmentos foram novamente fracionados com bisturi em fragmentos de 2,0 x 2,0 cm e, então, encaminhados para testes microbiológicos. Os novos fragmentos foram colocados individualmente em placa de Petri estéril contendo 1 ml de NaCl a 0,9% estéril. A amostra foi fragmentada com bisturi e misturada com a solução salina até atingir a turbidez (LIMA JÚNIOR et al., 2017). Em seguida, placas duplicadas dos meios ágar Sangue (Laborclin ®), MacConkey (Laborclin ®) e Sabouraund foram semeadas com 0,1 ml dessa solução através da alça de inoculação, permanecendo incubadas a 37°C por 72 horas. Após esse período, foi realizada a análise macroscópica de cada placa para a identificação de possíveis colônias fúngicas e/ou bacterianas, para posterior envio para análise microbiológica.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas duas repetições do experimento, que ocorreu em duplicata, não foi observado crescimento de colônias bacterianas e/ou fúngicas nas estrias de inoculação das placas dos meios de cultura ágar Sangue (Laborclin ®), MacConkey (Laborclin ®) e Sabouraund.



Figura 3: Placas dos meios de cultura ágar sangue, MacConkey e Sabourand com ausência de crescimento de colônias bacterianas e/ou fúngicas após inoculação e armazenamento durante 72 horas em estufa a



Fonte: (Barreira, 2019).

Um curativo classificado como ideal precisa apresentar boa flexibilidade, resistência ao estiramento, capacidade de aderência e de suprimir a dor, baixo custo, bons resultados estéticos e, principalmente, é fundamental que previna perdas hidroeletrolíticas, bem como a contaminação bacteriana, além de favorecer a reepitelização, permitindo a formação de tecido de granulação (BAOSHENG et al., 2020; MIRANDA E BRANDT, 2019). Essas características encontram-se presentes na pele de Tilápia, podendo servir de enxerto substituindo temporariamente a pele que foi lesionada por traumas térmicos ou outros elementos (LIMA JÚNIOR et al., 2017; SILVA et al., 2019).

Curativo bioativo é um material que serve como camadas de contato em feridas com exsudação mínima (FOSSUM, 2014). A pele de tilápia é um bom exemplo de curativo bioativo, pois esse material possui características histológicas muito semelhantes às da pele humana, compostas por feixes de colágeno prevalecendo o tipo I e III, que são fundamentais para a cicatrização, além de peptídeos e grupos proteicos como as hepcidinas, defensinas e intelerucinas que auxiliam na cicatrização das feridas (LIMA JÚNIOR et al., 2017; SILVA et al., 2019; DANTAS, 2017; LIMA JÚNIOR et al., 2020).

Curativos convencionais necessitam de trocas diárias, resultando em estresse recorrente para o paciente e risco de contaminação, uma vez que o processo de troca é doloroso e a ferida permanece aberta até que a troca do curativo se concretize. Muitas



vezes, para realizar a troca do curativo é necessária a sedação e analgesia do animal, tornando o procedimento mais arriscado e oneroso (FILHO et al., 2017; FILHO et al., 2014). Em contrapartida, o curativo biológico oriundo da pele de Tilápia não apresenta necessidade de intervenções diárias, visto que pode ser mantido sobre as lesões por longos períodos ou até mesmo ficando até a completa cicatrização, por meio da técnica de fixação com sutura, evitando, dessa forma, as desvantagens do curativo tradicional (LIMA JÚNIOR et al., 2017, FILHO et al., 2017).

Quando aderido ao leito da ferida, a pele de tilápia promove a permeabilidade à água, a retenção de calor e serve de barreira contra a entrada de agentes patogênicos (FILHO et al., 2014). Comparando a curativos convencionais, esse biomaterial apresenta as vantagens de reduzir o tempo de reepitelização, devido a diferenciação dos queratinócitos da epiderme induzida pelo colágeno (ZHOU et al., 2016) e a dor, aumentar a regeneração tecidual e permite um maior intervalo entre trocas (ZHOU et al., 2016; LIMA JÚNIOR et al., 2020; DO NASCIMENTO et al., 2020).

A microbiota residente da pele de Tilápia é composta principalmente por microrganismos Gram negativos como Pseudomonas aeroginosa, Aeromonas sobria, Shewanella putrefasciens, Acinetobacter spp e Moraxella spp. No entanto, microrganismos Gram positivos, apesar de serem encontrados em menor quantidade, também podem estar presentes, como Enterococcus faecalis, Globicatela sanguinis, Streptococcus uberis e Streptococcus suis (LIMA JÚNIOR et al., 2016). Esses microrganismos, quando em contato com o tecido lesionado do paciente, podem predispor à quadros de infecção bacteriana secundária e, por esse motivo, antes da aplicação sobre uma superfície lesionada, é necessário que o biomaterial passe por rigorosos processos de descontaminação, garantindo que esteja apto a ser utilizada como enxerto em feridas (ALVES et al., 2018). A descontaminação química utilizada nesse experimento contou com o uso de uma solução isotônica de NaCl (0,9%), glicerol e gluconato de clorexidina na concentração de 2%.

A técnica de glicerolização utilizada nessa pesquisa consiste na utilização de glicerol em altas concentrações (iguais ou superiores a 85%). Essa técnica possui propriedades antibacterianas, antifúngicas e antivirais (ALVES et al., 2018; PAGGIARO et al., 2010), sendo comprovado nessa pesquisa pela ausência de crescimento de origem bacteriana e/ou fúngica nas estrias de inoculação nos meios de cultura utilizados. Além disso, é uma técnica viável também pelo fácil acesso e baixo custo dessa solução. Essa substância promove a desidratação do material, pois remove o fluido intracelular não



alterando a concentração de íons na célula, mantendo a integridade tecidual e possibilitando a conservação do biomaterial por longo período de tempo (ALVES et al., 2018; PAGGIARO et al., 2010).

O gluconato de clorexidina também é uma opção viável para que seja realizada a descontaminação química. Na presença de detritos orgânicos, esse agente possui amplo espectro de atividade antimicrobiana e atua também contra alguns fungos, como Pseudomonas aeroginosa e Candida albicans, respectivamente. Esse produto possui atividade residual continuada de até dois dias, tendo sua eficiência aumentada conforme o número de aplicações (ALVES et al., 2018; FOSSUM, 2014).

Os resultados obtidos nessa pesquisa comprovam a descontaminação química da pele de Tilápia utilizando as soluções de gluconato de clorexidina a 2% e glicerol em altas concentrações, permitindo manter um banco de pele de Tilápia do Nilo com armazenamento seguro por até 60 dias.

4 CONCLUSÃO

O presente estudo comprovou a eficácia do método de descontaminação química utilizando as soluções de gluconato de clorexidina a 2%, NaCl a 0,9% e glicerol em altas concentrações. Dessa forma, as peles de Tilápia do Nilo podem ficar armazenadas sob refrigeração de forma segura por até 60 dias em relação ao aspecto microbiológico.



REFERÊNCIAS

ALVES, A. P. N. N. et al. Avaliação microscópica, estudo histoquímico e análise de propriedades tensiométricas da pele de Tilápia do Nilo. Revista Brasileira de 203-210, Disponível **Oueimaduras**, 14, n. 3, p. 2015. http://rbqueimaduras.org.br/details/263/pt-BR/avaliacao-microscopica--estudohistoquimico-e-analise-de-propriedades-tensiometricas-da-pele-de-tilapia-do-nilo

ALVES, A. P. N. N. et al. Study of tensiometric properties microbiological and collagen content in Nile Tilapia skin submitted to differente sterelization methods. Cell and Tissue Banking, 19. 3, 373-382. 2018. Disponível em https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29380095/

BAOSHENG, G. et al. Comprehensive assesment of Nile Tilapia skin (Oreochromis niloticus) collagen hydrogels for wound dressings. Marine Drugs, v. 18, n. 4, p. 178, 2020. Disponível em https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32218368/

COSTA, B. A. et al. Use Tilapia skin as a xenograft for pediatric burn Treatment: Case report. **Journal of Burn Care & Research**, v. 40, n.5, p. 193-197, 2019. Disponível em https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31112268/

DANTAS, V. Brasil inova no tratamento de queimaduras. Revista Brasil Nuclear, n. 47, p. 7 - 9, 2017.

DO NASCIMENTO, A.B. et al. O uso da pele de Tilápia no tratamento de queimaduras - The use of Tilapia skin in the treatment of burns, **Temas em saúde**, edição especial 128-143. FSM. Diponível https://temasemsaude.com/wp-2020. em content/uploads/2020/05/art-06-FSM.pdf

ELBIALY, Z. I. et al. Collagen extract obtained from Nile Tilapia (Oreochromis niloticus L.) skin accelerates wound healing in rat model via up regulating VEGF, bFGF, and a-SMA genes expression. **BMC Veterinary Research**, v. 16, n.1, p. 1-11, 2020. Disponível em https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-020-02566-2

FILHO, J. W. et al. Benefícios do uso da pele de Tilápia no tratamento de queimaduras. Anais da Monstra de Pesquisa e Ciência e Tecnologia, v. 8, p. 4667, 2017.

FILHO, N. et al. Uso de coberturas no tratamento de feridas de cães e gatos. **Medvep** – Revista Ciêntifica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de **Estimação**, v. 12, n. 42, p.424 – 435,2014. Disponível em https://medvep.com.br/wpcontent/uploads/2020/07/07-Uso-de-coberturas-no-tratamento-de-feridas-dec%C3%A3es-e-gatos.pdf

FOSSUM, T. Cirurgia de pequenos animais. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

FRANCO, M.L.R.S. et al. Comparação das peles de Tilápia do Nilo, PACU e Tambaqui: histologia, composição e resistência. Archivos de Zootecnia, v. 62, n. 237, p. 21-32, 2013. Disponível em https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-05922013000100003

FREIRE, C. E. C.; GONÇALVES, A. A. Diferentes métodos de abate do pescado produzido em aquicultura, qualidade da carne e bem estar do animal. Holos, v. 6, n. 29, p. 33-41, 2013. Disponível em https://www.redalyc.org/pdf/4815/481548608004.pdf



LIMA JÚNIOR, E. M. *et al.* Characterization of the microbiota of the skin and oral cavity of *Oreochromis niloticus*. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 4, n. 3, p. 193-197, 2016. Disponível em https://periodicos.unichristus.edu.br/jhbs/article/view/767

LIMA JÚNIOR, E. M. *et al.* Innovative burn treatment using Tilapia skin as a xenograft: A Phase II Randomized Controlled Trial. **Journal of Burn Care & Research**, v. 41, n.3, p. 585-592, 2020. Disponível em https://academic.oup.com/jbcr/article-abstract/41/3/585/5695972

LIMA JÚNIOR, E. M. *et al.* Uso da pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*), como curativo biológico oclusivo, no tratamento de queimaduras. **Revista Brasileira de Queimaduras**, v. 16, n.1, p.10-17, 2017. Disponível em http://repositorio.ufc.br/handle/riofc/28917

MIRANDA, M. J. B.; BRANDT, C. T. Xenoenxerto (pele da Tilápia-do-Nilo) e hidrofobia com prata no tratamento das queimaduras de II grau em adultos. **Revista Brasileira de Cirurgias Plásticas**, v. 34, n. 1, p. 79-85, 2019.

PAGGIARO, A.O. *et al.* Estabelecimento de protocolo de glicerolização de membranas amnióticas para uso como curativo biológico. **Revista Brasileira de Queimaduras**, v. 9, n. 4, p. 2 – 6, 2010. Disponível em http://www.rbqueimaduras.com.br/details/25

POTAROS, T. *et al.* Characteristics of collagen from Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin isolated by two diferente methods. **Agriculture and Natural Resources**, v. 43, n. 3, p. 584-593, 2009. Disponível em https://li01.tci-thaijo.org/index.php/anres/article/view/244706

SANTOS, T. S.; ALENCAR, C. L. M. Utilização da pele de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus L.*) como curativo oclusivo biológico em feridas cutâneas de cães e gatos. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária**, v. 4, n. 1, 2021.

SILVA, S.C. *et al.* Using Tilapia skin (*Oreochromis niloticus*) as an occlusive biological curative in equine wounds. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 56, n. 4, p. e154079-e154079, 2019. Disponível em https://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/154079

SONG, W.K. *et al.* Physicochemical and biocompatibility properties of tipe I collagen from the skin Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) for biomedical applications. **Marine Drugs**, v. 17, n. 3, p. 137, 2019. Disponivel em https://www.mdpi.com/1660-3397/17/3/137

ZHOU, T. *et al.* Electrospun Tilapia collagen nanofibers accelerating wound healing via inducing keratinocytes proliferation and differentiation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 143, p. 415-422, 2016. Disponível em https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0927776516302089