

Utilização da pele de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) como xenoenxerto em um equino com ferimento traumático

Treatment of a Traumatic Equine Wound Using Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Skin as a Xenograft

Behatriz Odebrecht Costa¹, Edmar Maciel Lima Júnior², Francisco Vagnaldo Fechine¹, Ana Paula Negreiros Nunes Alves¹, Miguel Marcos Oliveira de Melo⁴, Wesley Lyeverton Correia Ribeiro³, Julliano Pimentel Siqueira⁴ & Manoel Odorico de Moraes Filho¹

ABSTRACT

Background: Wounds are disruptions of the normal continuity of anatomic structures, generally due to local trauma. They are extremely prevalent in animals, especially horses, and a common reason for seeking veterinary attention. Their management aims to restore the function and integrity of the affected area in the shortest possible time and cost, while providing satisfactory cosmetic results. This task becomes challenging when working with horses, considering the contact between wounds and contaminated environment is common. Thus, the present study aims to report the case of a traumatic equine wound treated with Nile Tilapia Fish Skin (NTFS).

Case: A male 27-year-old horse previously castrated, with no defined breed (NDB), and weighing 400 kg presented a 6.0 x 5.5 cm superficial wound in the distal left anterior limb (LAL) due to skin laceration. The animal belonged to the cavalry of the Military Police of Ceará, a public institution in Fortaleza, Brazil. Although in excellent general health, with no previous comorbidities or restriction of movement, the animal was removed from its role in equine-assisted therapy (EAT) until complete wound healing, aiming adequate evaluation of the novel biomaterial via lower influence of external factors. After informed consent from the owner was obtained, Nile Tilapia Fish Skin was applied to the lesion. The Ethics Committee on the use of animals of the Drug Research and Development Center of the Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil, approved the study protocol. Compliance with regulations on the ethical treatment of animals was performed. Nile Tilapia Fish Skin application followed a protocol similar to that established in human clinical studies. Initially, the horse was submitted to wound cleaning with tap water and 2% chlorhexidine gluconate, with no requirement of pre-treatment surgical debridement, as there was no area of necrosis. Before application, the biomaterial was washed thrice in sterile 0.9% saline for 5 min, allowing glycerol removal. Only one sample was required. Coverage of 1 cm of healthy skin in wound borders was performed to ensure movement in the first days of treatment or xenograft retraction after adherence to wound bed would not lead to uncovering of any affected area. The xenograft was then covered with a secondary dressing (i.e., dry gauze and regular bandage), followed by an elastic bandage, in order to reduce the risk of contamination and allow proper adherence. After seven days, when the secondary dressing was removed, it was observed the xenograft remained intact and well adhered to the wound bed. The patient's distal LAL was washed with tap water and 2% chlorhexidine, and the xenograft was easily removed, exposing the wound bed. Clinical evaluation revealed remarkable improvement in the aspect of the lesion, with a decrease in the amount of granulation tissue and no significant presence of exudate. The above-cited findings motivated us to continue adopting the same protocol, which was repeated every seven days. On day 42 of treatment, after six applications of NTFS, wound reepithelialization was found to be complete, with no side effects detected on the animal, which successfully returned to its regular activities.

Discussion: The current study demonstrates the potential of NTFS as a practical and low-cost dressing option for the management of accidental wounds in horses. The treated animal showed complete reepithelialization of the lesion, with satisfactory cosmetic and functional outcomes and no allergic reactions or toxicities. Also, no signs of discomfort (e.g., burning and itching) were detected, considering the patient did not try to remove the secondary dressing on its own and consistently respected the changing times.

Keywords: tilapia skin, healing in horses, traumatic wound.

Descritores: pele de tilápia, cicatrização em equinos, ferida traumática.

DOI: 10.22456/1679-9216.99678

Received: 18 December 2019

Accepted: 10 May 2020

Published: 4 June 2020

¹Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), ²Instituto Dr. José Frota, Fortaleza, ³Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará (UFC) & ⁴Regimento de Polícia Montada Coronel Moura Brasil (RPMON), Fortaleza, CE, Brazil. CORRESPONDENCE: B.O. Costa [odebrecht@gmail.com]. Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) - UFC, Fortaleza, CE, Brazil. Rua Cel. Nunes de Melo n. 1000. CEP 60430-275 Fortaleza, CE, Brazil.

INTRODUÇÃO

As feridas são rupturas da continuidade normal das estruturas anatômicas, geralmente devido a trauma local [13]. Elas são prevalentes em animais e um motivo comum para procurar atenção veterinária. Seu gerenciamento visa restaurar a função e a integridade da área afetada no menor tempo e custo possível, proporcionando resultados cosméticos satisfatórios [11]. A prevenção e o controle de infecções são necessários para que ocorra a reepitelização da ferida. Essa tarefa se torna mais difícil ao se trabalhar com equinos porque é comum o contato entre as feridas e o ambiente contaminado [5].

A cicatrização no cavalo chama a atenção de pesquisadores, visto que esta é uma espécie com tendência à formação de tecido de granulação exuberante, no qual são necessários tratamentos extensos e, muitas vezes, de custo elevado, para tentar modular a cicatrização [2].

A pele da tilápia vem sendo estudada como uma possível fonte de biomaterial para enxertia, pois ela possui características microscópicas semelhantes à estrutura morfológica da pele humana; elevada resistência e extensão à tração em quebra, o que suporta sua possível aplicação como biomaterial [1]. A aplicação da pele de tilápia como curativo biológico oclusivo no tratamento de queimaduras de segundo grau superficial em pacientes humanos demonstrou diminuição da dor no paciente, o que acarreta em um cuidado médico mais humanizado e diminui os custos [3].

Assim, o objetivo do presente estudo é relatar um caso de ferida traumática em um cavalo tratada utilizando a pele de tilápia como xenoenxerto, de forma a estabelecer o potencial do biomaterial como uma terapia eficaz, prática e de baixo custo em equinos.

CASO

Realizou-se atendimento clínico-veterinário, na Cavalaria da Polícia Militar do Ceará, sediada na cidade de Fortaleza, de um animal da espécie equina, do sexo masculino, sem raça definida (SRD), pelagem castanha, 27 anos de idade, pesando 400 kg e castrado. O animal apresentava uma lesão no membro anterior esquerdo (MAE), na região da quartela, de caráter superficial e dimensão inicial de cerca de 6,0 x 5,5 cm (Figura 1). Apesar de o paciente se apresentar em ótimo estado geral, sem demais alterações fisiológicas ou restrição de movimentação, optou-se por afastamento do animal da sua função na Equoterapia, até completa cicatrização da ferida. Com a devida autorização do

Comando, este paciente foi submetido ao tratamento da ferida utilizando pele da tilápia glicerolizada, seguindo um protocolo semelhante ao estabelecido em estudos clínicos em humanos. Esta intervenção não precisou de limpeza cirúrgica pré-tratamento, pois não havia área de necrose na lesão.

A pele de tilápia utilizada foi fornecida pelo Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) da Universidade Federal do Ceará (UFC), onde recentemente se estabeleceu o primeiro banco de pele animal do Brasil e primeiro banco de pele animal aquática do mundo [7]. Após captação na piscicultura Bomar, localizada em Itarema / CE, as peles de tilápia são transportadas ao laboratório, onde os restos de músculos são retirados mecanicamente. Após lavagem em soro fisiológico 0,9%, as peles são incubadas em solução de clorexidina



Figura 1. Após uma laceração cutânea, o cavalo apresentou ferida superficial de 6,0 x 5,5 cm no membro anterior distal esquerdo. Antes da aplicação da pele da tilápia, a limpeza da ferida era realizada com água oriunda do abastecimento público estadual e gluconato de clorexidina a 2%.



Figura 2. Aspecto da ferida no sétimo dia de tratamento. A- Após remoção da gaze e curativo. O xenoenxerto permaneceu intacto e bem aderido ao leito da ferida. B- Após remoção da pele da tilápia.

a 2% para descontaminação e novamente lavadas, sendo então iniciado o processo de glicerolização. Ao final da última etapa do glicerol, as peles são acondicionadas em duplos envelopes plásticos estéreis com selagem dupla e irradiadas em gama cobalto no Instituto de Pesquisa Energética Nuclear (IPEN-SP) a 30 KGs. Por fim, as peles são armazenadas a 4°C para posterior uso [10].

No início do protocolo de tratamento, a ferida foi devidamente limpa e desinfetada com produtos específicos para limpeza, como clorexidina degermante e água oxigenada. Ao mesmo tempo, a pele da Tilápia foi retirada da refrigeração e do envelope, em seguida, lavada por três vezes em solução fisiológica de NaCl a 0,9%, para remover todo o glicerol presente, que conserva o material. Em seguida, foi feito o curativo com a pele da Tilápia, tendo sido aplicado um pedaço

do biomaterial de tamanho suficiente para cobrir o leito da ferida e passar aproximadamente 1,0 cm da borda, evitando que a ferida ficasse descoberta após a retração da pele de Tilápia ou com a movimentação do animal. O xenoenxerto foi então recoberto com um curativo secundário feito de atadura de algodão, seguida de atadura elástica, para diminuir o risco de contaminação, já que a manutenção desse curativo seria por 7 dias.

No dia 7 após o início do tratamento, ao remover o curativo secundário, observou-se que a pele da Tilápia ainda permanecia íntegra e bem aderida ao leito da ferida (Figura 2A). O sítio foi lavado com água e clorexidina 2% e o xenoenxerto foi removido facilmente, expondo-se o leito da ferida. Na avaliação clínica, observou-se melhora significativa no aspecto da ferida, o que nos motivou a continuar adotando o



Figura 3. Aspecto da ferida no quadragésimo segundo dia de tratamento, após remoção da pele da tilápia. A reepitelização da ferida estava completa, sem efeitos colaterais detectados no animal.

mesmo protocolo (Figura 2B). A cada 7 dias, foi repetido o protocolo até a completa cicatrização. No 42º dia, a ferida estava completamente fechada (Figura 3).

DISCUSSÃO

O referido caso clínico demonstra o uso da pele de tilápia como uma opção eficaz e segura no tratamento de feridas acidentais em equinos, não sendo limitada apenas ao uso em queimaduras. No entanto, o ideal é que essas feridas sejam superficiais, para que o xenoenxerto fique em contato com todo o leito da ferida. O animal tratado não apresentou nenhum quadro de reação alérgica no local ou ao redor da ferida e não demonstrou incômodo como ardência e prurido, já que não tirou por conta própria o curativo secundário, respeitando os tempos de troca.

Quando comparados a outras espécies, equinos são comumente acometidos por lesões traumáticas ocasionando feridas que, devido à perda excessiva de tecido, contaminação e/ou comprometimento vascular, têm como única opção de tratamento a cicatrização por segunda intenção [14]. Dessa forma, o tratamento se torna mais lento e difícil, devido ao alto grau de contaminação em que essa espécie é exposta.

Várias alternativas de tratamento já foram estudadas para minimizar esse tipo de problema na clínica veterinária, como o uso de ultrassom terapêutico e do óleo de semente de girassol [6]; fitoterápicos como barbatimão, calêndula e confrey [12]; além dos tratamentos convencionais com pomadas cicatrizantes já estabelecidas comercialmente.

A medicina regenerativa fornece novas ferramentas promissoras para o gerenciamento de feridas em equídeos. Temos como exemplo dessas terapias regenerativas: estruturas de matriz extracelular, ácido hialurônico reticulado, plasma rico em plaquetas, terapia a laser de baixo nível e membrana amniótica alogênica. Estas podem ser incorporadas ao manejo rotineiro de feridas em equinos [4].

A pele da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) surge como uma possível aplicabilidade clínica de novos biomateriais utilizáveis para bioengenharia. A pele deste peixe é um produto nobre e de alta qualidade, pois possui resistência peculiar como o couro [10] e é um subproduto de descarte em diversas regiões, tendo um baixo custo de utilização.

As características microscópicas da pele da tilápia são semelhantes à estrutura morfológica da pele humana, apresentando derme composta por feixes de colágeno compactados, longos e organizados, em disposição paralela/horizontal e transversal/vertical, predominantemente, do tipo I, além de demonstrar elevada resistência e extensão à tração em quebra [1]. Outro estudo mais recente também demonstrou uma grande quantidade de matriz de colágeno na pele de Tilápia, indicando que seus andaimes de colágeno podem ser biomateriais valiosos para a regeneração de tecido [8].

Para garantir que o biomaterial não seria uma fonte de contaminação para o leito da ferida, estudos foram realizados para caracterizar a microbiota da pele da tilápia. Estudos laboratoriais indicaram a presença de uma microbiota normal, não infecciosa [9]. A partir disso, foram investigados os possíveis resultados do uso da pele de tilápia como curativo biológico oclusivo

no tratamento de queimaduras em ratos. O biomaterial demonstrou boa aderência no leito das feridas induzidas, interferindo positivamente no processo cicatricial e possibilitando o prosseguimento das investigações para pesquisas em seres humanos, para confirmação da sua segurança e eficácia como curativo biológico [10]. As pesquisas em humanos geraram resultados bastante satisfatórios, estabelecendo uma alternativa eficaz e de menor custo para os pacientes que sofriam com ferimentos por queimaduras no sistema de saúde pública brasileiro [3].

Sendo assim, surge o questionamento se esse modelo de xenoenxerto também não poderia ser aplicado na rotina de médicos veterinários, para o tratamento de feridas em animais. Casos clínicos de ferimento são frequentes na clínica, tanto na de pequenos como na de grandes animais, porém é mais comum a prevalência

de feridas traumáticas por outros tipos de acidentes além da queimadura, como mordidas ou por objetos perfurocortantes.

O presente relato de caso fornece uma nova alternativa para feridas em equinos em que se espera a cicatrização por segunda intenção. A pele de tilápia demonstrou ser segura, eficaz e de baixo custo, favorecendo a completa reepitelização da lesão, sem causar danos ou efeitos colaterais para o paciente. Estudos adicionais devem ser realizados para que o tratamento proposto tenha sua eficácia comprovada, possibilitando seu estabelecimento no arsenal terapêutico não só de feridas em equinos, mas também em outras espécies.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

- 1 **Alves A.P.N.N, Lima Verde M.E.Q., Ferreira Júnior A.E.C, Silva P.G.B., Feitosa V.P., Lima Júnior E.M., Miranda M.J.B. & Moraes Filho M.O. 2015.** Microscopic evaluation, histochemical study and analysis of tensiometric properties of the Nile Tilapia skin. *Revista Brasileira de Queimaduras*. 14(3): 203-10.
- 2 **Barroso C.G. 2017.** Lesões acidentais em equídeos e expressões de cicloxigenase 2 (cox-2) e toll like receptor 2 (tlr-2) em feridas experimentais tratadas com óleo de coco (*Cocos nucifera* L.) em equinos. 82f. Fortaleza, CE. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Ceará.
- 3 **Costa B.A., Lima Júnior E.M., Silva Júnior F.R., Martins C.B., Nascimento M.F.A. & Moraes Filho M.O. 2017.** Avaliação da redução do uso de analgésicos por pacientes ambulatoriais de um centro de queimados de referência em fortaleza com a aplicação da pele de tilápia como curativo biológico oclusivo no tratamento de queimaduras de segundo grau superficial. In: *Resumos do XXXVI Encontro de Iniciação Científica. Encontros Universitários da UFC* (Fortaleza, Brazil). v.2. p.884.
- 4 **Dahlgreen L.A. 2018.** Regenerative Medicine Therapies for Equine Wound Management. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 34(3): 605-620.
- 5 **Frees K.E. 2018.** Equine Practice on Wound Management; Wound Cleansing and Hygiene. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 34(3): 473-484.
- 6 **Freitas I.S. & Prado L.G. 2015.** Utilização do ultrassom terapêutico e do óleo de semente de girassol na cicatrização de feridas cutâneas em equinos. In: *Anais do Congresso de Iniciação Científica da FEPI* (Itajubá, Brazil). pp.1-3.
- 7 **Leontsinis C.M.P, Lima-Júnior E.M, Moraes Filho M.O., Brito M.E.M, Rocha M.B.S., Nascimento M.F.A., Silva Júnior F.R. & Miranda M.J.B. 2018.** Preparation of a protocol for the implementation and functioning of the first animal skin bank of Brazil: Experience report. *Revista Brasileira de Queimaduras*. 17(1): 66-71.
- 8 **Li J., Wang M., Qiao Y., Tian Y., Liu J., Qin S. & Wu W. 2018.** Extraction and characterization of type I collagen from skin of tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its potential application in biomedical scaffold material for tissue engineering. *Process Biochemistry*. 74: 156-163.
- 9 **Lima Júnior E.M., Bandeira T.J.P.G., Miranda M.J.B., Ferreira G.E., Parente E.A., Piccolo N.S. & Moraes Filho M.O. 2016.** Characterization of the microbiota of the skin and oral cavity of *Oreochromis niloticus*. *Journal of Health and Biological Sciences*. 4(3): 193-197.
- 10 **Lima-Júnior E.M., Piccolo N.S., Miranda M.J.B., Ribeiro W.L.C., Alves A.P.N.N., Ferreira G.E., Parente E.A. & Moraes Filho M.O. 2017.** The use of tilapia skin (*Oreochromis niloticus*), as an occlusive biological dressing, in the treatment of burn wounds. *Revista Brasileira de Queimaduras*. 16(1): 10-17.
- 11 **Liptak J.M. 1997.** An overview of the topical management of wounds. *Australian Veterinary Journal*. 75: 408-413.

- 12 **Martins P.S., Alves A.L.G., Hussni C.A., Sequeira J.L., Nicoletti J.L.M. & Thomassian A. 2003.** Comparison between phytotherapics on equine wound healing. *Archives of Veterinary Science*. 8(2): 1-7.
- 13 **Mickelson M.A., Mans C. & Colopy S.A. 2016.** Principles of Wound Management and Wound Healing in Exotic Pets. *The Veterinary Clinics of North America. Exotic Animal Practice*. 19: 33-53.
- 14 **Wilmink J.M. & Weeren P.R. 2004.** Differences in wound healing between horses and ponies: application of research results to the clinical approach of equine wounds. *Clinical Techniques in Equine Practice*. 3(2): 123-133.