

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ANÁLISE BIOMECÂNICA DE PELE E JEJUNO DE
CADÁVERES DE GATOS FIXADOS EM ÁLCOOL E
CONSERVADOS EM SOLUÇÃO AQUOSA DE CLORETO DE
SÓDIO 30% VISANDO AO ENSINO DA TÉCNICA
CIRÚRGICA**

Raphael Chiarelo Zero

Médico Veterinário

2017

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ANÁLISE BIOMECÂNICA DE PELE E JEJUNO DE
CADÁVERES DE GATOS FIXADOS EM ÁLCOOL E
CONSERVADOS EM SOLUÇÃO AQUOSA DE CLORETO DE
SÓDIO 30% VISANDO AO ENSINO DA TÉCNICA
CIRÚRGICA**

Raphael Chiarelo Zero

Orientador: Prof. Dr. Fabrício Singaretti de Oliveira

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção de título de Mestre em Cirurgia Veterinária.

2017

Z58a Zero, Raphael Chiarelo
Análise biomecânica de pele e jejuno de cadáveres de gatos
fixados em álcool e conservados em solução aquosa de cloreto de
sódio 30% visando ao ensino da técnica cirúrgica / Raphael Chiarelo
Zero. -- Jaboticabal, 2017
xv, 59 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017
Orientador: Fabrício Singaretti de Oliveira
Banca examinadora: Gilson Hélio Toniollo, Leandro Luis Martins
Bibliografia

1. Anatomia . 2. Microbiologia. 3. Conservação. 4. Felinos. 5.
Tração. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias.

CDU 611:636.8

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal


CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ANÁLISE BIOMECÂNICA DE PELE E JEJUNO DE CADÁVERES DE GATOS FIXADOS EM ÁLCOOL E CONSERVADOS EM SOLUÇÃO AQUOSA DE CLORETO DE SÓDIO 30% VISANDO AO ENSINO DA TÉCNICA CIRÚRGICA

AUTOR: RAPHAEL CHIARELO ZERO

ORIENTADOR: FABRICIO SINGARETTI DE OLIVEIRA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIRURGIA VETERINÁRIA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. FABRICIO SINGARETTI DE OLIVEIRA
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. GILSON NÉLIO TONIOLLO
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. LEANDRO LUÍS MARTINS
Departamento de Medicina Veterinária / Universidade Estadual de Maringá / Umuarama/PR

Jaboticabal, 27 de julho de 2017

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

RAPHAEL CHIARELO ZERO – nascido em 15 de julho de 1991, em Franca, São Paulo, concluiu o Ensino Médio em Pedregulho, SP, no ano de 2009. Médico Veterinário formado pela Faculdade Dr. Francisco Maeda, FAFRAM, Ituverava, SP, em Dezembro de 2014, com trabalho de conclusão de curso intitulado “Fatores ambientais na resposta fisiológica e comportamental de vacas leiteiras”, sob orientação do Prof. Dr. Sílvio de Paula Mello. Concluiu o Programa de Aprimoramento Profissional em Clínica e Cirurgia de Grandes Animais junto ao Hospital Veterinário também pela FAFRAM, Ituverava, SP, em fevereiro de 2016, sob orientação da Prof^a. MSc. Eliana d’ Aurea. Em Março de 2016, iniciou o curso de Mestrado junto ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária na FCAV – UNESP Câmpus de Jaboticabal, SP, sob orientação do Prof. Dr. Fabrício Singaretti de Oliveira.

A quem sempre soube olhar a vida com bons olhos, guiando-me pelos caminhos do bem, da perseverança, do amor, e graças ao suporte, apoio, e palavras de carinho e incentivo, conquistamos mais esta vitória. Aos meus pais, Célio e Izabel, ao meu irmão Célio Eduardo e aos Meus avos Altino e Maria de Lourdes, Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, pelas oportunidades, sabedoria, saúde e força a mim proporcionados.

Aos meus pais, Célio Roberto Zero e Izabel Chiarelo Zero, pelo suporte, apoio e dedicação. Por todo amor, carinho e confiança depositados em mim. Por fazerem o possível e o impossível para tornarem meus sonhos reais. Por serem meus exemplos e meus heróis.

Ao Meu irmão Célio Eduardo Chiarelo Zero e aos Meus Avos Altino Zero e Maria de Lourdes Polo Zero, por toda a confiança, palavras de incentivo e pelo amor proporcionado.

A minha namorada, Heloísa Silvestre Chiarelo, por todo amor, carinho, atenção e compreensão. Por estar sempre ao meu lado. Por tornar meus dias mais felizes.

Ao Querido Amigo, professor e orientador Fabrício Singaretti de Oliveira, por ter acreditado em mim. Pela dedicação, apoio, confiança, paciência e orientação. Por ter aberto as portas do Laboratório de Anatomia Cirúrgica do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal e pelo exemplo de pessoa, profissional e amigo. Serei eternamente grato por tudo.

Ao Amigo Edmilson Rodrigo Daneze, por todo incentivo, pelas palavras sinceras e amigas, pelas risadas e por todos os ensinamentos transmitidos.

Ao Amigo Thiago André Salvitti de Sá Rocha, por todo carinho, apoio, incentivo, paciência e ajuda. Pelos conhecimentos transmitidos e pela grande colaboração na execução do projeto de pesquisa.

A Marita Vedovelli, pelo carinho e colaboração do processamento microbiológico.

Ao Prof. Dr. Glauco Rolim pelo auxílio na estatística deste trabalho.

A Usina São Martinho, Pradópolis, SP, pela doação do álcool etílico utilizado neste trabalho.

A FAPESP (2015/08259-9) por conceder apoio financeiro para a realização deste estudo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por conceder a bolsa de estudos

A Dona Marilda, Rodrigo, Antonio, Walter e aos demais colegas do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, por toda colaboração, disposição e amizade.

Aos colegas de Pós-Graduação e Iniciação Científica do Laboratório de Anatomia Cirúrgica, Mariana, Caio, Maurício, Henrique, Rafael, Alisson, Nathália, Isabella, Eduardo e Marina, pelo apoio e colaboração.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
LISTA DE ABREVIATURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xiv
1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 Fixadores e Conservantes Utilizados em Laboratórios de Anatomia.....	18
2.1.1 Formaldeído.....	18
2.1.2 Glicerina.....	19
2.1.3 Fenol.....	20
2.1.4 Álcool Etílico.....	20
2.2 Utilização de Animais em Pesquisas e Atividades de Ensino.....	21
2.3 Análise Biomecânica de Tecidos de Animais.....	22
2.4 Aspectos Microbiológicos na Conservação de Peças Anatômicas.....	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 Primeira Fase.....	25
3.1.1 Animais.....	25
3.1.2 Técnica Anatômica Empregada.....	26
3.1.3 Método de Colheita de Material.....	29
3.1.4 Análise Quanto à Resistência dos Tecidos.....	31
3.1.5 Avaliação Microbiológica e Contagem de Bactérias Aeróbias e Anaeróbias Mesófilas Totais.....	32
3.1.5.1 Identificação Bacteriana.....	34
3.1.6 Análise Estatística.....	34
3.2 Segunda Fase.....	35
3.2.1 Análise Descritiva dos Resultados.....	37
4 RESULTADOS	38
4.1 Primeira Fase.....	38
4.2 Segunda Fase.....	47

5 DISCUSSÃO.....	49
6 CONCLUSÃO.....	53
7. REFERÊNCIAS.....	54

ANÁLISE BIOMECÂNICA DE PELE E JEJUNO DE CADÁVERES DE GATOS FIXADOS EM ÁLCOOL E CONSERVADOS EM SOLUÇÃO AQUOSA DE CLORETO DE SÓDIO 30% VISANDO AO ENSINO DA TÉCNICA CIRÚRGICA

RESUMO– É essencial e imperioso ter muito critério quanto ao uso de animais em pesquisa e atividades de ensino e, conseqüentemente, a busca por métodos alternativos que não tragam prejuízo acadêmico ou científico. A utilização de cadáveres frescos é limitante pois há rápida deterioração e, para a fixação e conservação de materiais biológicos, a maioria dos laboratórios de anatomia utiliza o formaldeído, apesar das diversas desvantagens deste produto. Assim, objetivou-se avaliar a viabilidade de uma nova técnica anatômica visando ao ensino da técnica cirúrgica em cadáveres de gatos fixados com álcool etílico (AE) e conservados em solução aquosa de cloreto de sódio a 30% (SACS 30%) e determinar qual o melhor momento para a interrupção da fixação, devido à maior proximidade dos valores de ruptura de pele e jejuno, em relação ao grupo controle (animais frescos, sem fixação ou conservação). Além disso, objetivamos identificar microbiologicamente os principais agentes presentes nestas soluções, e avaliar a aceitabilidade dos alunos e qualidade dos cadáveres de gatos quimicamente conservados, mediante a aplicação de formulário/questionário aos alunos do curso de Medicina Veterinária. Os testes foram realizados previamente à fixação alcoólica em todos os animais para obtenção dos valores controle de cada grupo. Os cadáveres foram divididos em três grupos e mantidos por 30, 60 e 90 dias em fixação em AE, respectivamente. A conservação em SACS 30% foi de 120 para todos os grupos. Foram realizados testes biomecânicos de tração em amostras de pele e jejuno em todos os momentos da fixação e da conservação. Também foram realizadas análises microbiológicas do AE e da SACS 30%, em todos os momentos da fixação e conservação. Não houve diferença estatística entre os momentos de fixação e conservação dos cadáveres em relação ao momento controle quando foi analisada a força necessária para a ruptura das amostras de pele e jejuno não indicaram diferença significativa. Para as amostras de pele, o grupo 2 (60 dias em AE) apresentou menor diferença nas médias, indicando maior semelhança com o grupo controle. Houve estabilização na força de ruptura das amostras avaliadas durante o período de conservação, evidenciando a viabilidade da solução de cloreto de sódio a 30% na conservação de peças anatômicas. Entretanto, houve diferença significativa do alongamento necessário para ruptura das amostras de pele e jejuno, das amostras do grupo 3, em alguns momentos da conservação em SACS 30%. Houve crescimento microbiano em todos os momentos avaliados, entretanto a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC/mL) sempre foi baixa, não revelando sinais aparentes de contaminação, odor desagradável ou putrefação. A técnica anatômica utilizada no preparo de cadáveres de gatos para o treinamento cirúrgico foi classificada como boa e 92% dos alunos foram a favor do uso de cadáveres para o treinamento cirúrgico.

Palavras- chave: anatomia, microbiologia, conservação, felinos, tração.

BIOMECHANICAL ANALYSIS OF SKIN AND JEJUNUM OF CAT CORPSES FIXED IN ALCOHOL AND PRESERVED IN 30% SODIUM CHLORIDE AQUEOUS SOLUTION AIMING SURGICAL TEACHING

ABSTRACT - Having a lot of criteria about animal utilization in research and teaching activities is essential and imperative and, consequently, the search for alternative methods that won't cause scientific or academic losses. The use of fresh cadavers is limited because there is fast rotting and in fixation and conservation of biological tissues, most of laboratories apply formaldehyde, in spite of several disadvantages of this product. Thus, the present study aimed to evaluate the feasibility of a new anatomical technique aiming the teaching of surgical technique in cadavers of cats fixed with ethylic alcohol (AE) and preserved in 30% sodium chloride aqueous solution (30% SCAS) and to determine the best time for interrupting fixation, due the greatest proximity of skin and jejunum rupture values, in relation to the control group (fresh animals, without fixation or conservation). Besides, we aimed to microbiologically identify the main agents presented in those solutions, and evaluate the students' acceptability and quality of the chemically preserved cats corpses, by applying a form/questionnaire to the Veterinary College students. The tests were performed prior to alcoholic fixation in all corpses to obtain the control values of each group. Cats were separated into three groups and maintained for 30, 60 and 90 days in AE fixation, respectively. The conservation in 30% SCAS was for 120 days in all groups. Biomechanical traction tests were performed on skin and jejunum samples in every moment of fixation and conservation. Microbiological analysis of EA and 30% SCAS were also carried out in every moment of fixation and conservation. A form/questionnaire was applied to the Veterinary College students for acceptance evaluation and quality of chemically prepared cats corpses. Statistical analysis of the skin and jejunum strength forces did not indicate a significant difference between the fixation and conservation moments when compared to the control moment. The means of group 2 skin samples (60 days in EA) were a little smaller than the others, indicating a great similarity with the control group. There was a stabilization in the rupture strength of the samples evaluated during the conservation time, what shows the viability of the 30% sodium chloride aqueous solution in the anatomical specimens conservation. However, there was a significant difference in the elongation necessary for skin and jejunum ruptures in group 3 samples, at some moments of conservation in 30% SACS. There was contamination at all evaluated moments, however, the count of colony forming units (CFU/mL) was always low, and there were no signs of contamination, unpleasant odor and putrefaction. The anatomical technique used in the preparation of cats corpses for surgical training was classified as good and 92% of the students are into the use of corpses for surgical training.

Keywords: anatomy, microbiology, conservation, cats, traction.

LISTA DE ABREVIATURAS

AE.....	Álcool Etílico
CEUA.....	Comissão de Ética no Uso de Animais
FCAV.....	Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
kg.....	Quilogramas
kgf.....	Quilogramas força
Km.....	Quilômetros
min.....	Minutos
mL.....	Mililitros
mm.....	Milímetros
N.....	Newtons
NaCl.....	Cloreto de sódio
R ²	Coeficiente de determinação
SACS 30%.....	Solução Aquosa de Cloreto de Sódio
UNESP.....	Universidade Estadual Paulista
UFC.....	Unidades Formadoras de Colônia

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1	Cadáveres de felinos distribuídos aleatoriamente quanto ao gênero e peso, utilizados para fixação alcoólica e posterior conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%...	26
Tabela 2	Análise da força máxima de ruptura em N, referente às amostras de pele dos grupos 1, 2 e 3, submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio 30% (SACS 30%).....	39
Tabela 3	Análise da força máxima de ruptura em N, referente às amostras de jejuno dos grupos 1, 2 e 3, submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio 30% (SACS 30%).....	40
Tabela 4	Análise do alongamento necessário para a ruptura das amostras de pele dos grupos 1, 2 e 3, submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio 30% (SACS 30%).....	41
Tabela 5	Análise do alongamento necessário para a ruptura das amostras de jejuno dos grupos 1, 2 e 3, submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio 30% (SACS 30%).....	42
Tabela 6	Identificação e quantificação microbiológica do grupo 1, de animais fixados por 30 dias em AE e conservados por 120 dias em SACS 30%.....	45
Tabela 7	Identificação e quantificação microbiológica do grupo 2, de animais fixados por 60 dias em AE e conservados por 120 dias em SACS 30%.....	46
Tabela 8	Identificação e quantificação microbiológica do grupo 3, de animais fixados por 90 dias em AE e conservados por 120 dias em SACS 30%.....	46
Tabela 9	Valores médios das notas e desvios padrão da avaliação realizada por 50 alunos da disciplina de técnica cirúrgica de pequenos animais da FCAV-UNESP, Campus de Jaboticabal, mediante a aplicação de questionário, após o uso de cadáveres de gatos fixados em AE e conservados em SACS 30 %, em aula prática. Os valores propostos variam de 1 (péssimo) a 10 (excelente).....	47

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1	A: Artéria carótida comum de cadáver de felino canulada com agulha 40 x 12 mm (18G) (seta); B: Infusão de solução alcoólica composta por 95% de álcool etílico e 5% de glicerina, com auxílio de seringa de 60 mL, via artéria carótida externa....	27
Figura 2	Caixa plástica com tampa rosqueável e capacidade total de 310 litros, utilizada para a manutenção dos cadáveres de gatos durante fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%. A: caixa aberta, com visualização dos cadáveres sendo fixados; B: Caixa fechada com tampa rosqueável.....	28
Figura 3	Cadáver de gato fixado em álcool etílico. A: Molde de aço inox (seta) devidamente posicionado no local da colheita da pele; B: Detalhe da região de pele incisada; C: Posicionamento do molde de inox para a colheita de amostras de jejuno; D: amostras de jejuno colhidas.....	30
Figura 4	Máquina universal de ensaios biomecânicos (EMIC® DL 2000) utilizada para o teste de tração das amostras de pele e jejuno de gatos submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%. A: vista geral da máquina; B: detalhe da garra de acionamento por compressão manual, acoplada em célula de carga de 500 N (seta); C: detalhe de amostra de pele presa nas garras de compressão manual. Equipamento pertencente ao Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV – UNESP – Jaboticabal.....	31
Figura 5	Em A, frasco de vidro com capacidade de 100 ml e tampa rosqueável, previamente esterilizado e contendo solução utilizada na conservação dos cadáveres de gatos. Em B, frasco devidamente identificado, quanto à data, grupo, solução e momento avaliado.....	32
Figura 6	Estufa bacteriológica e de esterilização, utilizadas para incubação das colônias de bactérias e para esterilização dos frascos e demais materiais utilizados, respectivamente, pertencentes ao setor de microbiologia da FCAV – UNESP – Jaboticabal.....	33

Figura 7	Modelo de formulário aplicado aos alunos do curso de Medicina Veterinária da FCAV – UNESP – Jaboticabal, para a avaliação da aceitação e qualidade dos cadáveres de gatos quimicamente conservados.....	36
Figura 8	Correlação entre a média do alongamento (mm) e da força máxima de ruptura (N) das amostras de pele, em relação aos valores controle, de cadáveres de gatos fixados por 30, 60 e 90 dias em AE e conservados em SACS (30%), referentes aos grupos 1, 2 e 3, respectivamente.....	43
Figura 9	Correlação entre a média do alongamento (mm) e da força máxima de ruptura (N) das amostras de jejuno, em relação aos valores controle, de cadáveres de gatos fixados por 30, 60 e 90 dias em AE e conservados em SACS (30%), referentes aos grupos 1, 2 e 3, respectivamente.....	44

1 INTRODUÇÃO

A preocupação quanto à conservação de peças anatômicas existe há mais de cinco mil anos. O uso de peças cadavéricas naturais é indispensável para o ensino, contribuindo para o aprendizado prático, melhorando as habilidades aplicativas, assimilativas e compreensivas, preparando os estudantes para a situação real (CURY; SENSONI; AMBRÓSIO, 2013).

Busca-se com a conservação, preservar de maneira mais próxima dos animais vivos, a morfologia e características como coloração, consistência e a flexibilidade das peças (KIMURA; CARVALHO, 2010).

Existem várias técnicas de preservação dos tecidos animais para o estudo anatômico, sendo, que é utilizada na maioria das vezes a solução de formaldeído a 10%, ou a glicerina (FREITAS et al., 2009). A solução de cloreto de sódio foi utilizada com sucesso na conservação de peças anatômicas previamente fixadas por formaldeído, durante cinco anos (OLIVEIRA, 2014) e na conservação de pericárdio canino, utilizado para fins cirúrgicos (BRUN et al., 2002).

Quando ocorre a utilização do formaldeído, as peças anatômicas apresentam odor desagradável e causam irritação dos olhos, nariz, garganta, pulmões e pele. Tais fatos consistem em fator de desestímulo tanto para os estudantes, quanto para os professores e funcionários dos laboratórios de anatomia, além de causar escurecimento, aumento de peso e rigidez das peças e sérios problemas ambientais quando descartada de forma incorreta (KARAM et al., 2016).

Objetivou-se, com este trabalho, avaliar a viabilidade de uma nova técnica anatômica no preparo de cadáveres de gatos para o ensino de técnica operatória utilizando álcool etílico (AE) e solução aquosa de cloreto de sódio a 30% (SACS 30%) em diferentes tempos, realizando estudo biomecânico nos tecidos frescos, fixados e conservados, além de determinar qual o melhor momento para se interromper a fixação em AE devido à maior semelhança à resistência tecidual em relação aos cadáveres frescos. Além disso, foi avaliada, a aceitação de graduandos do curso de Medicina Veterinária, assim como a qualidade dos cadáveres, preparados com a técnica de escolha, em treinamentos cirúrgicos, mediante

aplicação de questionário/formulário, e realizada a identificação microbiológica dos principais agentes presentes nas soluções utilizadas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Fixadores e Conservantes Utilizados em Laboratórios de Anatomia

Para que não haja deterioração dos tecidos, as peças anatômicas são fixadas. A fixação é extremamente importante, pois mantém os tecidos firmes, insolúveis e protegidos. Entretanto, para a conservação em meios líquidos, são utilizadas substâncias que impedem a proliferação de microrganismos, sendo o formaldeído, a glicerina, o álcool etílico e o fenol as substâncias mais utilizadas (RODRIGUES, 2010).

2.1.1 Formaldeído

O formaldeído, também conhecido popularmente como formol ou formalina, com fórmula química igual a CH_2O e pH entre 2,8 a 4,0, vendido comercialmente em concentrações entre 30 e 50% (FORMALDEHYDE, 2017).

Nos laboratórios de anatomia, é o fixador e conservante mais utilizado, sendo a solução aquosa a 10%, a mais empregada. Para a utilização em estudos anatômicos, as peças anatômicas necessitam estar em bom estado de conservação. O formaldeído, além de ser de baixo custo e fácil obtenção, destaca-se pela rapidez na penetração dos tecidos (PRZYBYSZ; SCOLIN; NATALI, 2009; RODRIGUES, 2010), sendo utilizado em soluções entre 5 e 20% (CURY; CENSONI; AMBRÓSIO, 2013; KARAM et al., 2016).

A Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC), em 1995, e o Programa Nacional de Toxicologia dos Estados Unidos classificaram o formaldeído como cancerígeno e teratogênico (NTP, 2010).

A exposição ao formaldeído está relacionada à exposição e respiração do ar contaminado nos laboratórios de anatomia e patologia, pelo fumo do tabaco, por

este ser um componente na sua composição, e no ar do ambiente urbano (KARAM et al., 2016).

Há relato da associação entre a exposição do formaldeído ao câncer de pulmão e nasofaringe em humanos, e aumento da incidência de neoplasias de células escamosas nasais em animais expostos a este agente (EPA, 2000).

Quando se utiliza o formaldeído como fixador e conservante por 45 dias, músculos peitorais de frango podem ficar sete vezes mais rígidos ao corte em relação aos músculos frescos (GUASTALLI et al., 2007). A conservação por até um ano neste agente causam enrijecimento entre 4,4 a 5 vezes, e tal fato pode ser observado logo na primeira semana (GUASTALLI et al., 2012).

2.1.2 Glicerina

A glicerinação é uma alternativa dentre as várias técnicas anatômicas disponíveis, para substituição do formaldeído no emprego da conservação de peças para estudo anatômico (CURY; CENSONI; AMBRÓSIO, 2013).

O nome comercial *glicerina* foi dado ao produto proveniente da substância glicerol, e este é um composto orgânico pertencente à função álcool, de forma líquida quando em temperatura ambiente, higroscópico, inodoro, viscoso e de sabor adocicado (SILVA et al., 2008).

Dentre as vantagens relacionadas ao uso da glicerina, ressalta-se a preservação da morfologia, leveza das peças, coloração mais próxima do real, ausência de odor, não havendo irritação de mucosas. Não se trata de substância carcinogênica, não possui risco elevado de contaminação ambiental e pelo fato de causar desidratação celular, atua como fungicida e bactericida (KARAM et al., 2016). Como principal desvantagem do emprego da glicerina, destaca-se o custo 10 vezes maior desta em relação ao formaldeído, o que explica a pouca utilização desta nos laboratórios de anatomia (KRUG et al., 2011).

A utilização de glicerina semipurificada é alternativa viável relacionada ao elevado custo da glicerina pura. Entretanto, por se tratar de um produto proveniente

da produção de biodiesel, representa fator de risco ambiental, quando descartado incorretamente (CARVALHO et al., 2013).

2.1.3 Fenol

O fenol é amplamente utilizado nas preparações para conservação de cadáveres, podendo ser utilizado tanto na forma líquida quanto na forma de cristais. Seu uso torna o meio estéril, protege o material da ação de fungos, e não causa enrijecimento dos tecidos (SANTANA; GUIMARÃES, 2014).

O emprego deste agente em técnicas de conservação, como a de Laskowski, é bem aceita e possui características desejáveis, como por exemplo, a manutenção da coloração e maleabilidade das peças anatômicas (RODRIGUES, 2010). Entretanto, há potencial risco genotóxico e carcinogênico, sendo os órgãos do sistema digestório, respiratório e a pele, as principais formas de absorção e contaminação humana (MIRANDA et al 1997).

2.1.4 Álcool Etílico

O álcool etílico a 96° GL também é utilizado como agente fixador, pois possui grande afinidade e ótima capacidade de penetração nos tecidos, além de ser de baixo custo e fácil aquisição (RODRIGUES, 2010).

Seu uso pode ser de forma isolada em animais de pequeno porte e em pequenas peças anatômicas. Também pode ser utilizado no método de glicerização, a partir da desidratação das peças, permitindo a entrada da glicerina, tendo como principal vantagem, a leveza, maciez e maior facilidade de manuseio (KIMURA; CARVALHO, 2010).

O álcool etílico ainda pode ser utilizado em algumas soluções para a conservação de cadáveres, como por exemplo, na técnica de Laskowski, que

consiste inicialmente da perfusão de álcool etílico, ácido fênico e bórico nas cavidades e vasos dos cadáveres, e na técnica de Giacominni, sendo utilizado na fase inicial de preparo (SANTANA; GUIMARÃES, 2014).

O emprego deste agente na fixação de cadáveres de cães, seguido de conservação com solução aquosa de cloreto de sódio a 30%, mostrou-se eficaz no preparo de modelos para o treinamento cirúrgico em cães (ROCHA, 2016).

2.2 Utilização de Animais em Pesquisas e Atividades de Ensino

Cada vez mais, é imperioso ter muito critério quanto ao uso de animais em pesquisa e atividades de ensino. Torna-se essencial a busca por métodos alternativos a este uso, não havendo prejuízo acadêmico ou científico. A Lei Arouca (nº 11.749) de 2008, com o intuito de regulamentar a utilização de animais em pesquisas e atividades de ensino, estabelece que as Comissões de Ética Institucionais ao Uso de Animais (CEUA) controlem tais atividades nas Universidades, agregando a formação de princípios éticos, de responsabilidade e respeito com a vida. Neste sentido, faz-se necessário a criação de métodos alternativos e éticos pra o ensino e pesquisa que envolvam animais (OLIVEIRA et al., 2013; ROCHA, 2016).

Atualmente, vários são os métodos alternativos que buscam o bem-estar animal no ensino da técnica cirúrgica veterinária. Estes métodos visam substituir o emprego de animais vivos, gerando aprendizado similar ou superior aos alunos (SILVA et al., 2007).

Um estado emocional negativo pode dificultar mecanismos cognitivos mais complexos, isto é, atrapalhar uma aprendizagem. Como grande parte dos alunos sentem-se desconfortáveis e até mesmo chocados em aulas com animais vivos, pode-se concluir que há de fato nestes casos, apenas memorização visual e não aprendizagem, em muitas dessas situações (PAIXÃO, 2008).

O emprego de técnicas humanizadas, como por exemplo, a utilização de cadáveres no ensino das práticas cirúrgicas, promove maior aprendizado, diminui

custos, há aumento da eficiência, aumento do potencial de customização e da repetitividade do exercício, gera aos alunos aumento da confiança e satisfação, devido à diminuição do estresse, quando comparado à utilização de animais vivos (KNIGHT, 2007).

Vários artigos vêm demonstrando a eficácia da utilização de cadáveres preparados quimicamente para uso em aulas de cirurgia veterinária, pois isto proporciona maior aceitação por parte dos alunos e melhor aprendizado (SILVA et al. 2004). Para realizar tal procedimento, animais que vieram a óbito em abrigos, clínicas e hospitais veterinários que seriam descartados, poderiam ser utilizados como substitutos de animais vivos (SILVA et al., 2007; MATHEWS et al., 2010).

Em estudo realizado por Silva et al. (2007), quanto ao aprendizado cirúrgico em cadáveres quimicamente conservados, 88,9% dos estudantes de medicina veterinária reportaram que o ensino foi muito satisfatório, enquanto 5,9% acharam que seria mais eficiente se no ensino fossem utilizados animais vivos, e, independente do processo químico utilizado na conservação de cadáveres, 95,7% dos alunos aprovaram o uso de cadáveres no ensino da cirurgia.

Em outro estudo, foi observado que 81,08% dos alunos são a favor do treinamento inicial de práticas cirúrgicas em cadáveres quimicamente conservados, e que a maioria não mudou de opinião, após a utilização de cães fixados em álcool etílico e conservados em solução saturada de cloreto de sódio (ROCHA, 2016).

Novas técnicas alternativas devem ser testadas incluindo novos conservadores químicos. Apesar de todos os avanços técnicos, permanente consciência ética tem que ser criada entre professores, pesquisadores, alunos e todas as pessoas que trabalham com animais (SILVA et al., 2007).

2.3 Análise Biomecânica de Tecidos de Animais

A análise biomecânica de tecidos animais é realizada por testes em máquinas universais de ensaios mecânicos que promovem a tração, flexão e compressão dos corpos de prova gerando dados computacionais e tabelas. Nos ensaios de tração, o

material estudado sofre forças externas crescentes, promovendo deformações uniformes em todo o corpo de prova, permitindo medir de maneira satisfatória a resistência da amostra avaliada (SOUZA, 1982).

É crescente o interesse pelas propriedades biomecânicas dos tecidos biológicos de animais. Os ensaios biomecânicos de tração têm sido amplamente utilizados para investigação das propriedades mecânicas de músculos e ligamentos, submetidos à diferentes condições, como por exemplo, na presença de lesões por esmagamento e estiramento (SILVA, 2002).

Recentemente, enfoque maior é dado aos estudos comparativos entre os tecidos submetidos à conservação e tecidos frescos, gerando dados que contribuem ao aprimoramento de técnicas cirúrgicas na busca de material biológico alternativo para a realização de implantes e de novas opções de modelos de experimentação animal (CAMARGO et al., 2014).

Em estudo sobre as propriedades tensiométricas de fragmentos do diafragma, pericárdio e peritônio bovino, não conservados e conservados com glicerina 98%, submetidos a ensaios mecânicos de tração, a glicerina reduziu a rigidez dos tecidos avaliados (GUIMARÃES et al., 2008)

Ao compararem peritônio de paca (*Cuniculus paca*) fresco e conservado em glicerina 98%, observou-se melhora da propriedade tênsil do peritônio conservado, sugerindo sua utilização como mais uma opção de material biológico para o uso em cirurgias reconstrutivas (CAMARGO et al., 2014).

A solução supersaturada de açúcar a 300%, ao ser utilizado na conservação de peritônio de paca, mostrou-se eficaz, garantindo a melhoria da maleabilidade do biomaterial no ato cirúrgico (LEAL et al., 2014).

2.4 Aspectos Microbiológicos na Conservação de Peças Anatômicas

A contaminação por fungos nos laboratórios de anatomia podem desencadear, em profissionais e alunos, quadros alérgicos decorrentes da exposição a esporos suspensos no ar, acarretando, de acordo com a intensidade de

exposição, desordens dos sistemas nervoso central, respiratório e imune (JOHANNING et al., 1996; CORRÊA, 2003).

A fixação das peças anatômicas é de extrema importância para que não haja deterioração e contaminação dos tecidos, além de garantir que mantenham-se protegidos, insolúveis e firmes. Desta forma, o uso de boas práticas de fixação e conservação, além de não permitir a deterioração do material, também evita a proliferação de patógenos que poderão causar doenças nas pessoas que frequentam os laboratórios de anatomia (CORRÊA, 2003; RODRIGUES, 2010).

São utilizadas para a conservação das peças em meios líquidos, substâncias que de certa forma impedem a proliferação de microrganismos, como por exemplo, o formaldeído, a glicerina, o álcool etílico e o fenol (RODRIGUES, 2010).

O formaldeído é o fixador e conservante mais utilizado nos laboratórios de anatomia, comumente em solução aquosa a 10%, que além de ser uma substância barata, possui a característica de penetrar rapidamente nos tecidos (RODRIGUES, 2010). Entretanto, a utilização do formaldeído para esta finalidade, além de trazer sérios riscos à saúde humana, o manuseio e descarte inadequado de carcaças e efluentes, pode contaminar o meio ambiente (WHO, 1991).

Ao se avaliar a resistência de diferentes microrganismos ao formaldeído e o efeito antimicrobiano em diversas concentrações desse agente, observou-se que, *Pseudomonas sp.*, *Klebsiella sp.* e *Salmonella sp.* mostraram-se mais susceptíveis ao formaldeído que *Staphylococcus sp.* Já os fungos mostraram-se mais resistentes que as bactérias, sendo o *Aspergillus niger* mais resistente que *Candida albicans* (SOLOMON, 1975).

A glicerina provoca desidratação de peças anatômicas, além de possuir efeito antisséptico, atuando contra fungos e bactérias. Evita, também, odores prejudiciais à saúde como aqueles liberados pelo formaldeído (ALVARENGA, 1992; KRUG et al., 2011; CURY et al., 2013).

A utilização de álcool etílico na fixação e de solução aquosa de cloreto de sódio a 30% na conservação de cadáveres de cães já foi avaliada, apresentando baixa contagem microbiológica para os gêneros *Bacillus*, *E. coli* e *Pseudomonas*, mas sem contaminação aparente à inspeção visual nos tanques e cadáveres, e sem odor desagradável ou putrefação (PEREIRA et al., 2016).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Primeira Fase

3.1.1 Animais

Foram utilizados 24 (vinte e quatro) cadáveres de gatos, 9 machos e 15 fêmeas, adultos, que vieram a óbito por causas que não envolviam alterações morfológicas evidentes, tais como, grandes massas tumorais, fraturas ósseas ou traumas lacerantes extensos. Todos foram provenientes do Centro de Controle de Zoonoses de Ribeirão Preto, SP, mediante a aprovação do processo 02.2014.000027-1 do Departamento Jurídico Municipal.

Logo após o óbito, os animais foram congelados (freezer a -18°C) e posteriormente transportados ao Laboratório de Anatomia Animal da UNESP Jaboticabal, SP, localizado a 50 km de distância.

Foram selecionados animais adultos com peso médio de $4,43 \pm 1,13$ kg e escore corporal entre 4 e 5, numa escala de 1 a 9 (LAFLAMME, 1997). No escore 4, notam-se costelas facilmente palpáveis, com mínima cobertura de gordura, cintura abdominal facilmente notada, quando vista dorsalmente e prega abdominal evidente. No escore 5, costelas palpáveis e sem excesso de cobertura de gordura, prega abdominal evidente quando vista lateralmente.

Todos receberam identificação individual, mediante utilização de película plástica numerada, no membro torácico direito, na altura da articulação rádio-carpo-ulnar, e cada grupo foi constituído por oito cadáveres (Tabela 1).

Tabela 1. Cadáveres de felinos distribuídos aleatoriamente quanto ao gênero e peso, utilizados para fixação alcoólica e posterior conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%.

Grupo	Gênero	Peso (kg)
1	F	5,6
1	F	4,2
1	F	3,1
1	F	5,6
1	F	7
1	F	5,4
1	M	4,5
1	M	5,3
Média do grupo 1	75 % F, 25% M	5,08
2	F	4,5
2	M	3,2
2	M	4,4
2	F	4,8
2	F	5,2
2	F	3,5
2	M	3,6
2	M	5,2
Média do grupo 2	37,5% F, 62,5% M	4,3
3	F	6
3	M	4,3
3	F	4,5
3	M	3,8
3	F	2,5
3	F	3
3	F	3
3	F	4
Média do grupo 3	75% F, 25% M	3,89

*Grupos 1, 2 e 3: 30, 60 e 90 dias sob fixação alcoólica, respectivamente. F: fêmea; M: macho.

3.1.2 Técnica Anatômica Empregada

Os animais foram descongelados em refrigerador horizontal em temperaturas de 4 a 6°C, pesados e então distribuídos aleatoriamente em três grupos para a fixação com álcool etílico.

Para a fixação dos cadáveres dos grupos 1, 2 e 3, infundiu-se solução alcoólica contendo 95% AE 96°GL¹ e 5% de glicerina, na dose de 120 mL por kg, via

¹ Usina São Martinho® - Pradópolis, SP.

artéria carótida comum, a qual foi canulada após dissecação, com agulha 40 x 12mm (18G), devidamente acoplada à seringa descartável de 60 mL (Figura 1). Foi realizado o desgaste do bisel da agulha previamente a canulação arterial.

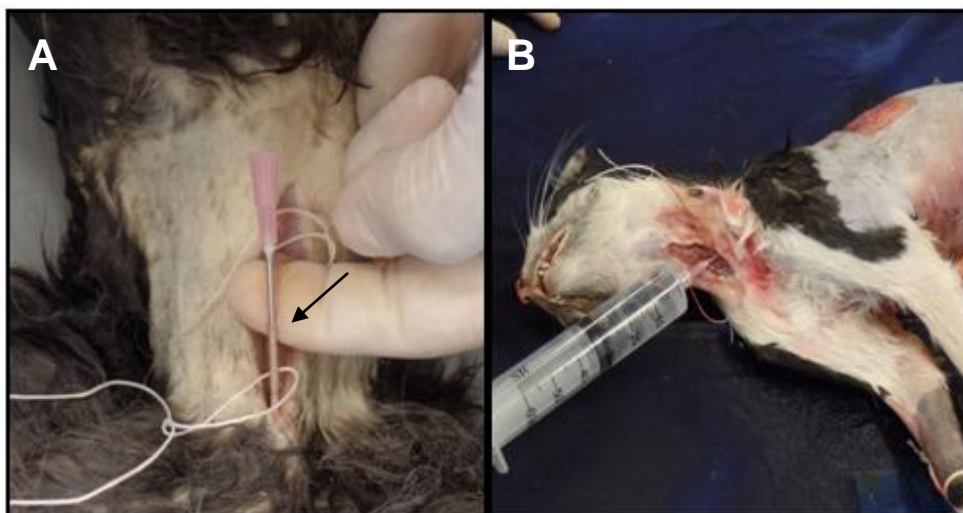


Figura 1. A: Artéria carótida comum de cadáver de felino canulada com agulha 40 x 12 mm (18G) (seta); B: Infusão de solução alcoólica composta por 95% de álcool etílico e 5% de glicerina, com auxílio de seringa de 60 mL, via artéria carótida externa.

Os grupos foram constituídos por oito gatos cada, os quais permaneceram em diferentes tempos sob fixação alcoólica:

- Grupo 1 (G1): 30 dias de fixação em AE e 120 dias de conservação em SACS 30%
- Grupo 2 (G2): 60 dias de fixação em AE e 120 dias de conservação em SACS 30%
- Grupo 3 (G3): 90 dias de fixação em AE e 120 dias de conservação em SACS 30%

Foi realizada a tricotomia prévia na região torácica e abdominal em todos os cadáveres, tomando-se cuidado para não lesar a pele em nenhum momento.

Após a fixação, foi realizada incisão de aproximadamente 14 cm na linha média do abdome e outra de 10 cm na região torácica, entre o quinto e sexto espaço intercostal, com intuito de remover o líquido sanguinolento acumulado nas cavidades

e melhor penetração do agente fixador. Utilizou-se água corrente para lavagem das cavidades, sendo realizadas durante cinco dias consecutivos, a partir do dia da fixação, ou até que não houvesse mais a presença de tal líquido.

Os cadáveres foram transferidos para caixas plásticas com capacidade de 310 litros, com tampa rosqueável, contendo 180 litros de AE (Figura 2).

Cada grupo foi acondicionado em uma caixa e mantido por diferentes períodos de tempo, de acordo com seu grupo. As caixas permaneceram em local fechado, coberto e ventilado. Durante o período de lavagem dos cadáveres, os animais foram inicialmente retirados da caixa plástica, o excesso de álcool foi escorrido, foram procedidas às lavagens e após a retirada do excesso de água, foram novamente acondicionados na caixa plástica de origem.

Após o período de fixação em AE, os animais foram transferidos para caixas plásticas com capacidade de 310 litros e com tampa rosqueável, contendo Solução Aquosa de Cloreto de Sódio (SACS)² a 30%, por 120 dias. Os grupos foram acondicionados em caixas individuais, com 180 litros desta solução.

Com auxílio de etilômetro, foi realizada a mensuração do álcool etílico presente em cada caixa plástica, após o período de fixação, para a obtenção da graduação alcoólica.

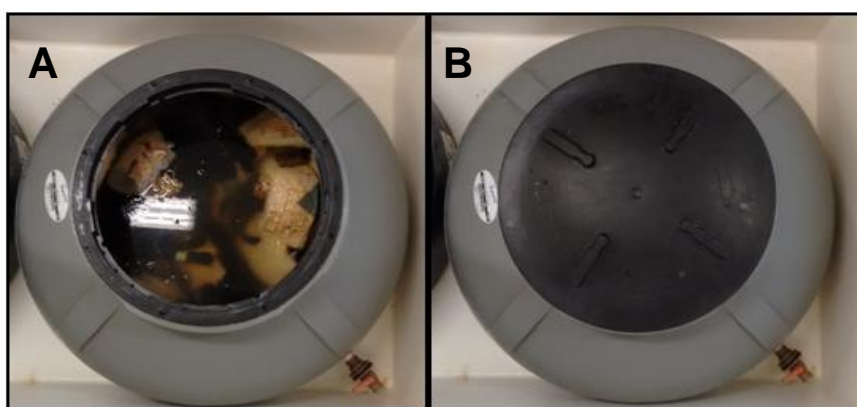


Figura 2. Caixa plástica com tampa rosqueável e capacidade total de 310 litros, utilizada para a manutenção dos cadáveres de gatos durante fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%. A: caixa aberta, com visualização dos cadáveres sendo fixados; B: Caixa fechada com tampa rosqueável.

² Agromix® Nutrição animal – Jaboticabal, SP.

3.1.3 Método de Colheita de Material

Foram colhidas amostras de pele e jejuno de todos os cadáveres, exatamente antes da infusão da solução alcoólica (95% AE 96° GL e 5% de glicerina), as quais foram submetidas imediatamente ao teste de tração biomecânico. Desta forma, os cadáveres frescos serviram de controle, pois estes mesmos cadáveres foram fixados/conservados.

Para a colheita das amostras dos cadáveres frescos e durante o período de fixação e conservação, confeccionou-se um molde de aço inoxidável de 1 x 5 cm (largura x comprimento). Optou-se pela utilização da pele e do jejuno, devido à maior disponibilidade amostral tecidual e pela grande utilização destes no ensino da técnica cirúrgica. As amostras foram colhidas em triplicata, nos seguintes momentos:

- Grupo 1 (G1): controle (cadáveres frescos); 30 dias de fixação em AE e aos 30, 60, 90 e 120 dias de conservação em SACS 30%

- Grupo 2 (G2): controle; 30 e 60 dias de fixação em AE e aos 30, 60, 90 e 120 dias de conservação em SACS 30%

- Grupo 3 (G3): controle; 30, 60 e 90 dias de fixação em AE e aos 30, 60, 90 e 120 dias de conservação em SACS 30%

Foram colhidas 1008 amostras durante o presente estudo.

Para a colheita das três amostras de pele, posicionava-se o cadáver, inicialmente, em decúbito lateral direito. Com o auxílio de bisturi (lâmina número 23), contornava-se o molde excisando os fragmentos cutâneos, colhendo-se três amostras sequenciais em sentido paralelo em relação ao comprimento do animal, na lateral do tórax. As colheitas de pele referentes ao momento controle e da fase de fixação em AE foram realizadas no antímero esquerdo e na fase de conservação em SACS 30%, no antímero direito, em todos os grupos.

Para a colheita das três amostras de jejuno, os animais foram posicionados em decúbito lateral direito, exteriorizando-se o jejuno por tração manual através da celiotomia mediana. Após a identificação da flexura duodenojejunal, posicionava-se o molde de aço sobre o intestino, delimitando-o e seccionando-o com tesoura de Metzenbaum, em sentido longitudinal (Figura 3). Posteriormente, era realizada a

secção da face mesentérica, expondo-se o lúmen, sob o qual era posicionado o molde para incisão com lâmina de bisturi.

Logo após a colheita, as amostras de pele ou jejuno foram acondicionadas em frascos identificados individualmente, contendo a solução utilizada no momento da colheita e imediatamente transportada ao Laboratório de Anatomia Cirúrgica, do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, para as análises biomecânicas.

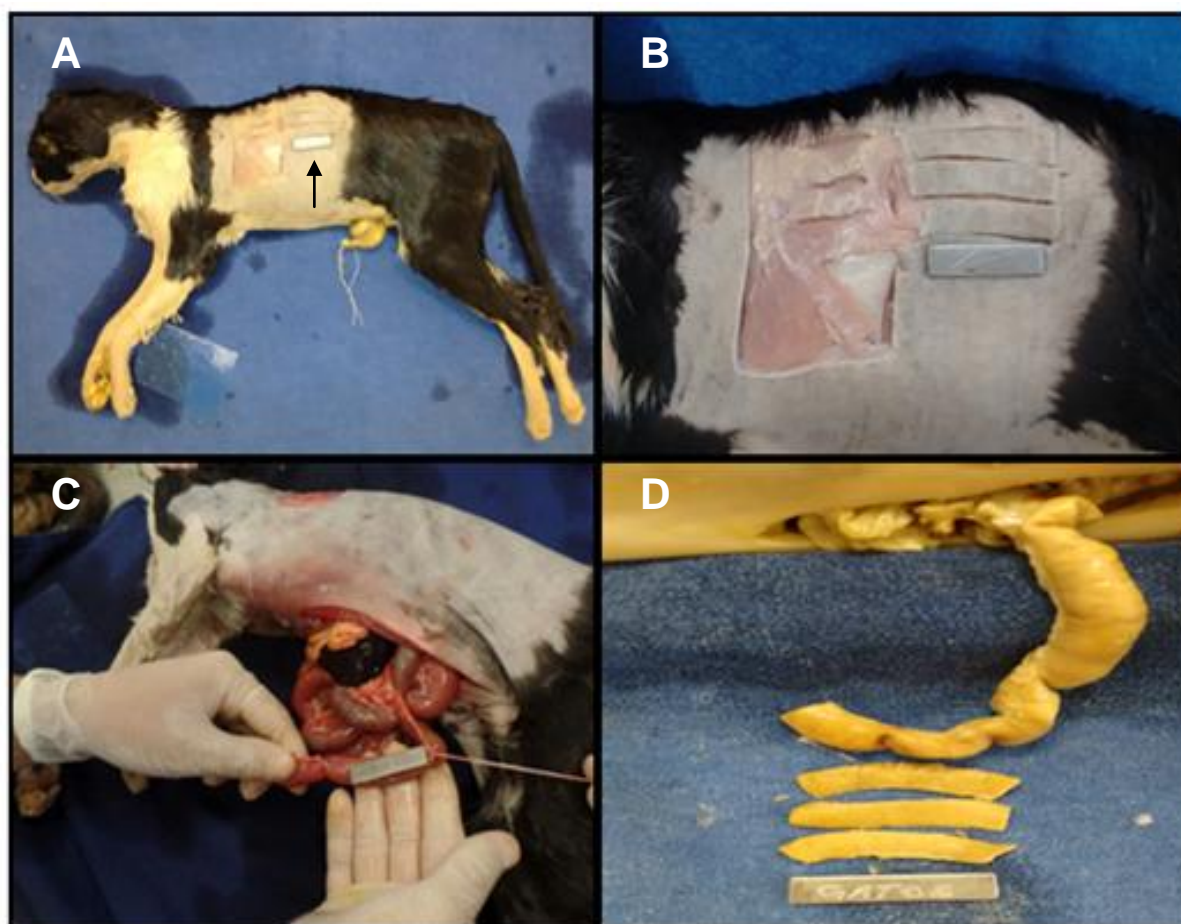


Figura 3. Cadáver de gato fixado em álcool etílico. A: Molde de aço inox (seta) devidamente posicionado no local da colheita da pele; B: Detalhe da região de pele incisada; C: Posicionamento do molde de inox para a colheita de amostras de jejuno; D: amostras de jejuno colhidas.

3.1.4 Análise Quanto à Resistência dos Tecidos

Para avaliação da resistência tecidual, foi utilizado uma Máquina Universal de Ensaio³, com célula de carga de 500 N e de suporte de acionamento eletromecânico com velocidade de 100 mm/min, pertencente ao Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV–UNESP, Jaboticabal (Figura 4).

As amostras de pele e jejuno foram submetidas ao teste de força e deslocamento até o rompimento tecidual completo, gerando-se valores referentes à força máxima aplicada Newtons (N) ou Quilogramas força (Kgf).

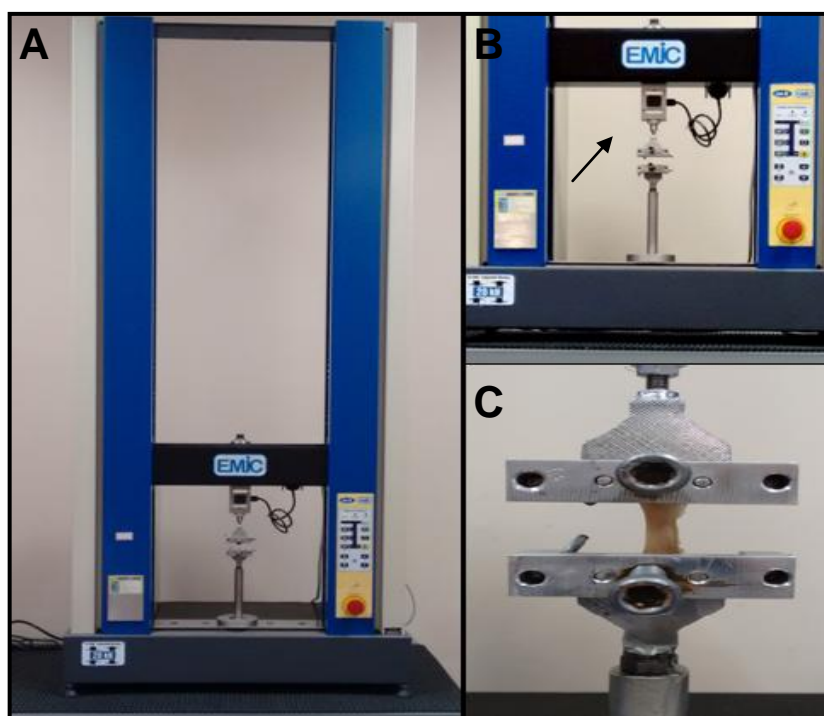


Figura 4. Máquina universal de ensaios biomecânicos (EMIC® DL 2000) utilizada para o teste de tração das amostras de pele e jejuno de gatos submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%. A: vista geral da máquina; B: detalhe da garra de acionamento por compressão manual, acoplada em célula de carga de 500 N (seta); C: detalhe de amostra de pele presa nas garras de compressão manual. Equipamento pertencente ao Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV – UNESP – Jaboticabal.

³ EMIC®, modelo DL 2000 – São José dos Pinhais, PR.

3.1.5 Avaliação Microbiológica e Contagem de Bactérias Aeróbias e Anaeróbias Mesófilas Totais

Foram colhidas amostras do meio de fixação (AE) e conservação (SACS 30%) simultaneamente à colheita das amostras de pele e jejuno, nos diferentes momentos de análise dos três grupos estudados, além da solução alcoólica previamente ao início do estudo. Foi utilizado um frasco de 100 ml, com tampa rosqueável, previamente esterilizado, identificado quanto ao meio fixação/conservação, data, grupo e momento avaliado (Figura 5). Após a colheita, o material foi devidamente encaminhado ao Laboratório de Microbiologia da FCAV-UNESP, Jaboticabal para a realização das análises microbiológicas.

A quantificação das bactérias mesófilas aeróbias e anaeróbias facultativas viáveis foi realizada utilizando a técnica de plaqueamento em profundidade, também conhecida como *Pour Plate*.

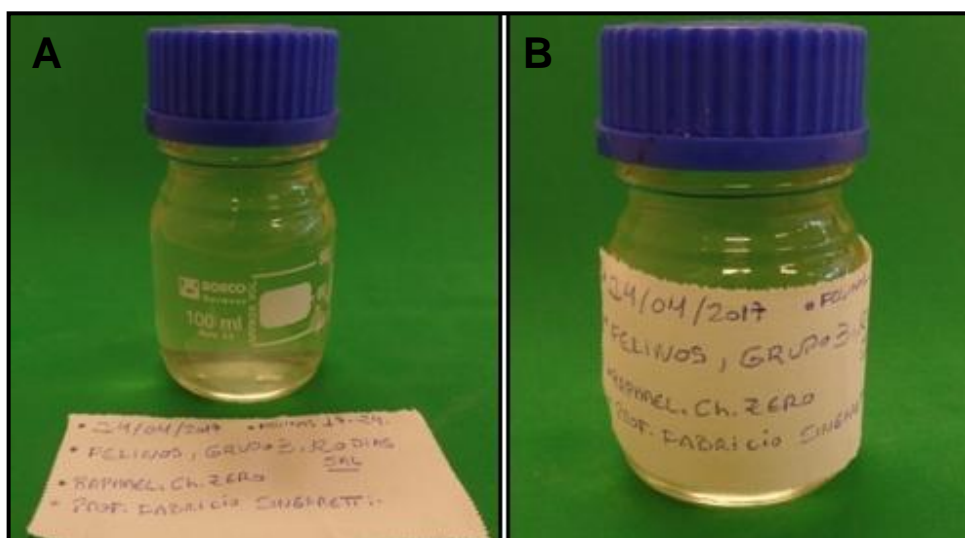


Figura 5. Em A, frasco de vidro com capacidade de 100 ml e tampa rosqueável, previamente esterilizado e contendo solução utilizada na conservação dos cadáveres de gatos. Em B, frasco devidamente identificado, quanto à data, grupo, solução e momento avaliado.

Nesta técnica, dilui-se a amostra em até cinco vezes, em que para cada diluição, utiliza-se 1,0 ml como inóculo, em duplicata, distribuídos em placas de Petri

previamente esterilizadas. Posteriormente, verte-se o meio fundido e esfriado a 45°C em banho-maria, sobre a placa de Petri contendo a suspensão diluída da amostra. O material é homogeneizado através de movimentos circulares no sentido horário e anti-horário, repetidos por cerca de 10 vezes. Após a solidificação do meio, as placas foram incubadas em estufas na temperatura e atmosfera apropriadas, por 24 horas (Figura 6).

Para tal, as placas para contagem de microrganismos aeróbicos foram armazenadas diretamente em estufa bacteriológica, enquanto as placas para contagem de microrganismos anaeróbicos foram armazenadas em jarras de anaerobiose com a utilização de Aneroback (Probac) a 37°C por 24 horas. A contagem da Unidade Formadora de Colônia (UFC) foi realizada através de lupa.



Figura 6. Estufa bacteriológica e de esterilização, utilizadas para incubação das colônias de bactérias e para esterilização dos frascos e demais materiais utilizados, respectivamente, pertencentes ao setor de microbiologia da FCAV – UNESP – Jaboticabal.

Após a contagem, foram isoladas cinco colônias de cada placa, com características fenotípicas diferentes uma das outras, em ágar BHI (*Brain Heart Infusion*), sendo então incubadas a 37°C por 24 horas para posterior identificação.

3.1.5.1 Identificação Bacteriana

As colônias foram submetidas à coloração de Gram para classificação inicial e então semeadas em meios de cultura seletivos para os gêneros analisados, sendo eles: Agar Mac Conkey, para avaliação de *Pseudomonas* e *Escherichia coli*; Agar Sulfito Polimixina Sulfadiazina (SPS), para identificação do gênero *Clostridium*; Agar Base Mannitol Yolk Polymyxin (MYP), para isolamento de *Bacillus*; e Agar Sangue Azida para identificação de *Staphylococcus*.

Após incubação à 37°C por 24 horas, os isolados foram avaliados novamente pelo método de Gram quanto à morfologia celular, e posteriormente, foram submetidas às provas bioquímicas específicas para confirmação de cada gênero ou espécie (BARROW; FELTHAM, 1993).

3.1.6 Análise Estatística

Inicialmente foi realizada a análise de variância (ANOVA) para verificar se houve diferença entre as médias nos momentos avaliados. Posteriormente, foi aplicado o teste de Tukey ($p \leq 0,05$) nos grupos que apresentaram diferença entre as médias. Neste teste, comparou-se a média individual de cada momento, com a média do momento controle, indicando se houve diferença entre elas. Foi utilizado o programa computacional Graphpad Prism 6 para a execução das análises estatísticas.

O ajuste de curvas foi realizado pelo método dos quadrados mínimos ordinários por meio de modelos quadráticos, sendo a variável dependente o alongamento e a variável independente a força aplicada. Foi utilizado o programa Microsoft Excel®.

3.2 Segunda Fase

Após a identificação do melhor momento para a interrupção da fixação alcoólica devido à maior semelhança aos cadáveres frescos, foram preparados quimicamente 10 cadáveres de gatos, cinco machos e cinco fêmeas, seguindo o mesmo protocolo utilizado na primeira fase do trabalho, após análise dos resultados biomecânicos, sendo escolhido o melhor momento de interrupção da fixação no álcool, em relação à maior proximidade do grupo controle, propiciando o preparo de cadáveres com características morfológicas mais próximas do real (G2).

Estes cadáveres foram fornecidos a 50 alunos do sexto semestre letivo do Curso de Graduação em Medicina Veterinária da FCAV – UNESP Câmpus de Jaboticabal, durante a disciplina de Técnica Cirúrgica, para o desenvolvimento das diversas práticas operatórias. Posteriormente, foram submetidos ao formulário/questionário (Figura 7) a seguir, preenchido após o término das aulas:

FORMULÁRIO/QUESTIONÁRIO

Os parâmetros devem ser respondidos baseando-se na facilidade/dificuldade para execução da Técnica Cirúrgica e na aparência morfológica dos cadáveres quanto à simulação mais próxima do que seria considerado real.

Devem ser atribuídos valores de 1 (péssimo) a 10 (excelente).

Resistência da pele quanto à incisão/sutura _____

Resistência da musculatura quanto à incisão/sutura _____

Resistência do estômago quanto à incisão/sutura _____

Resistência do intestino quanto à incisão/sutura _____

Resistência da bexiga urinária quanto à incisão/sutura _____

Maleabilidade dos Intestinos _____

Maleabilidade do Baço _____

Maleabilidade do Fígado _____

Adaptado de Silva, Matera e Ribeiro (2007).

1. Antes de este procedimento cirúrgico começar, você era a favor ou contra o uso de cadáveres no ensino da técnica cirúrgica?

- a) a favor
- b) contra

2. Você mudou sua opinião?

- a) sim
- b) não

3. Que tipo de aula você prefere ou preferiria para o ensino do treinamento cirúrgico (Técnica Cirúrgica)?

- a) Treinamento em modelos sintético, como bastidores, bonecos plásticos ou de silicone ou espumas, seguido por prática em animais da rotina do HV;
- b) Treinamento em pequenas peças frescas, como língua bovina e coxa de frango, seguindo por prática cirúrgica em animais da rotina do HV;
- c) Treinamento em cadáveres quimicamente conservados, seguido por prática cirúrgica em animais de rotina do HV;

Figura 7. Modelo de formulário aplicado aos alunos do curso de Medicina Veterinária da FCAV – UNESP – Jaboticabal, para a avaliação da aceitação e qualidade dos cadáveres de gatos quimicamente conservados.

3.2.1 Análise Descritiva dos Resultados

Com os valores atribuídos pelos discentes, foi calculada a média e o desvio-padrão de cada item a fim de verificar/quantificar a facilidade/dificuldade para execução da técnica cirúrgica, além de se determinar se a maleabilidade visceral dos cadáveres simulou ou não o que seria considerado próximo do real.

As outras questões foram utilizadas para avaliar a opinião dos alunos quanto ao uso de cadáveres quimicamente conservados no ensino da técnica cirúrgica antes e após o uso do modelo testado.

Os termos utilizados nesta pesquisa estão de acordo com a Nomenclatura Anatômica Veterinária Ilustrada (SCHALLER, 1999).

4 RESULTADOS

4.1 Primeira Fase

O emprego da técnica anatômica utilizando AE e SACS 30% mostrou-se eficiente para a fixação e conservação, respectivamente, dos gatos durante todo o experimento. No período de conservação em SACS 30%, houve pouca liberação de gordura dos cadáveres na solução presente nas caixas plásticas. Em nenhum momento houve dificuldade na manipulação e colheita das amostras.

Observou-se que durante a fixação em AE, houve discreto enrijecimento da pele e jejuno no manuseio das amostras e, posteriormente, aumento da maleabilidade tecidual durante o período de conservação em SACS 30%.

Ao final do período de fixação em AE, após a mensuração com etilômetro, observou-se que a densidade alcoólica permaneceu entre de 85 a 89°GL, demonstrando ótima quantidade de álcool na solução, favorecendo a correta fixação dos cadáveres a serem colocados na SACS 30% por 120 dias.

A partir dos dados gerais da força máxima de ruptura das amostras de pele submetidas ao teste biomecânico de tração, observou-se que não houve diferença entre as médias da força máxima de ruptura (N) em nenhum dos momentos do grupo 1 ($p=0,2$), grupo 2 ($p=0,9$) e grupo 3 ($p=0,06$), ao nível de significância de 5% pelo teste ANOVA. Desta forma, foi observado que ao final do período de fixação, o grupo 2 apresentou menor variação na força necessária para a ruptura das amostras de pele, com a diferença entre médias de 2,96N, enquanto que a diferença entre médias para os grupos 1 e 3 foi de 51,64N e 40,42N, respectivamente, para as amostras no final do período de fixação (Tabela 2). Não houve diferença entre os momentos de conservação em SACS 30% e o momento controle, em nenhum grupo.

Tabela 2. Análise da força máxima de ruptura em N, referente às amostras de pele dos grupos 1, 2 e 3, submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio 30% (SACS 30%).

Grupo	Parâmetros	Momentos avaliados					(Valor de P) ¹	
		Controle	M1	M2	M3	M4		M5
G1	Força (N)	212,47	160,83	169,38	173,92	190,28	168,69	0,2
	Desvio padrão	82,77	68,81	77,07	98,05	70,55	78,21	
	Diferença entre as médias	-	51,64	43,09	38,55	22,19	43,78	
G2	Força (N)	214,82	211,86	227,73	215,71	220,74	217,35	0,9
	Desvio padrão	136,00	137,50	129,10	147,50	114,60	146,20	
	Diferença entre as médias	-	2,96	-12,91	-0,89	-5,92	-2,53	
G3	Força (N)	199,48	159,06	153,70	175,62	171,56	156,81	0,06
	Desvio padrão	68,79	61,18	67,83	54,94	61,94	61,79	
	Diferença entre as médias	-	40,42	45,78	23,86	27,92	42,67	

¹: Valor de P= Diferença ao nível de 5% de significância pelo teste ANOVA.

Momentos: Controle (amostras frescas/sem fixador ou conservante; M1 (final do período de fixação em AE: 30 dias para o grupo 1; 60 dias para o grupo 2; 90 dias para o grupo 3); M2 (30 dias de conservação em SACS 30%); 3 (60 dias de conservação em SACS 30%); 4 (90 dias de conservação em SACS 30%) e 5 (120 dias de conservação em SACS 30%).

Para as amostras de jejuno, foi observado que não houve diferença em relação à força máxima entre os momentos de fixação e conservação, em relação ao momento controle, ao nível de significância de 5% pelo teste ANOVA, para o grupo 1 ($p= 0,21$), grupo 2 ($p= 0,69$) e grupo 3 ($p= 0,18$). Durante o período máximo de fixação em AE (M1), o grupo 1, correspondente à 30 dias de fixação em AE, apresentou menor diferença entre médias (1,58N), estando desta forma, mais próximo do momento controle, seguido do grupo 2 (2,02N) e grupo 3 (2,98N), respectivamente. Durante o período de conservação em SACS 30% não houve diferença entre os momentos de conservação e momento controle (Tabela 3).

Tabela 3. Análise da força máxima de ruptura em N, referente às amostras de jejuno dos grupos 1, 2 e 3, submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio 30% (SACS 30%).

Grupo	Parâmetros	Momentos avaliados					(Valor de P) ¹	
		Controle	M1	M2	M3	M4		M5
G1	Força (N)	27,12	25,54	24,22	22,92	20,11	21,93	0,21
	Desvio padrão	11,67	10,79	10,98	12,55	8,95	5,37	
	Diferença entre as médias	-	1,58	2,9	4,2	7,01	5,19	
G2	Força (N)	31,27	29,25	26,17	30,57	29,66	25,09	0,69
	Desvio padrão	19,14	11,82	16,18	13,77	13,67	10,67	
	Diferença entre as médias	-	2,02	5,1	0,7	1,61	6,18	
G3	Força (N)	22,53	20,02	24,74	24,04	24,52	23,89	0,18
	Desvio padrão	7,68	2,29	7,22	9,26	7,22	6,81	
	Diferença entre as médias	-	2,51	-2,21	-1,51	-1,99	-1,36	

¹:Valor de P= Diferença ao nível de 5% de significância pelo teste ANOVA.

Momentos: Controle (amostras frescas/sem fixador ou conservante; M1 (final do período de fixação em AE: 30 dias para o grupo 1; 60 dias para o grupo 2; 90 dias para o grupo 3); M2 (30 dias de conservação em SACS 30%); 3 (60 dias de conservação em SACS 30%); 4 (90 dias de conservação em SACS 30%) e 5 (120 dias de conservação em SACS 30%).

A partir dos dados do alongamento máximo necessário para a ruptura das amostras de pele submetidas ao teste biomecânico de tração, observou-se que houve diferença, ao nível de significância de 5% pelo teste ANOVA, entre as médias do grupo 1 ($p < 0,0001$), grupo 2 ($p < 0,0001$) e grupo 3 ($p < 0,0001$). No entanto, no grupo 2 não houve diferença entre os valores dos momentos em relação ao momento controle e a diferença entre as médias, referentes ao período máximo de fixação em AE, apresentou uma menor variação em relação ao momento controle (-0,21mm), sendo desta forma, o grupo mais semelhante aos animais frescos.

Durante o período de conservação em SACS 30%, o teste de Tukey não revelou diferença entre os momentos dentro dos grupos 1 e 2 em relação aos seus momentos controle. Entretanto, para os momentos de 30 e 60 dias de conservação (M2 e M3) do grupo 3, foi observado que houve diferença em relação ao momento controle (Tabela 4).

Tabela 4. Análise do alongamento necessário para a ruptura das amostras de pele dos grupos 1, 2 e 3, submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio 30% (SACS 30%).

Grupo	Parâmetros	Momentos avaliados					(Valor de P) ²	
		Controle	M1	M2	M3	M4		M5
G1	Alongamento ¹	4,20	5,19	4,51	4,05	3,90	3,82	<0,0001
	Desvio padrão	1,29	1,17	0,92	0,72	0,54	0,69	
	Diferença entre as médias	-	-0,99*	-0,31	0,15	0,30	0,38	
G2	Alongamento ¹	3,90	4,11	4,21	3,92	3,66	3,32	<0,0001
	Desvio padrão	1,37	0,87	0,93	0,69	0,60	0,71	
	Diferença entre as médias	-	-0,21	-0,31	-0,02	0,24	0,58	
G3	Alongamento ¹	2,92	4,02	4,06	3,84	3,97	3,30	<0,0001
	Desvio padrão	0,45	0,75	0,87	1,08	1,05	0,77	
	Diferença entre as médias	-	-1,10*	-1,14*	-0,92*	-1,05	-0,38	

¹: Valores expressos em milímetro (mm).

²: Valor de P= Diferença ao nível de 5% de significância pelo teste ANOVA.

* Diferença ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Momentos: Controle (amostras frescas/sem fixador ou conservante; M1 (final do período de fixação em AE: 30 dias para o grupo 1; 60 dias para o grupo 2; 90 dias para o grupo 3); M2 (30 dias de conservação em SACS 30%); 3 (60 dias de conservação em SACS 30%); 4 (90 dias de conservação em SACS 30%) e 5 (120 dias de conservação em SACS 30%).

Em relação ao alongamento máximo necessário para a ruptura das amostras de jejuno, foi observado que houve diferença ao nível de significância de 5% pelo teste ANOVA, entre as médias do alongamento dos diferentes momentos em todos no grupo 1 ($p= 0,001$), grupo 2 ($p = 0,05$) e grupo 3 ($p= <0,0001$). No entanto, as diferenças observadas no grupo 2 são entre as médias referentes aos momentos de fixação e conservação, e não em relação ao momento e o momento controle (Tabela 5). Foi observado que o grupo 2 apresentou menor diferença entre as médias, em relação ao momento máximo de fixação em AE (M1= -0,01N) e momento controle, seguido pelo grupo 1 (-0,75mm) e grupo 3 (1,17mm).

Durante o período de conservação em SACS 30%, o grupo 2 não apresentou diferença em nenhum dos momentos avaliados, enquanto que para o grupo 1 (M2= -

1,27mm) e grupo 3 (M2= 1,28mm, M3= 1,74mm, M4= 1,17mm e M5= 1,83mm), foi observada diferença em relação ao grupo controle, a partir do teste de Tukey.

Foi observada diminuição no alongamento das amostras do grupo 3 (90 dias de fixação), indicando que houve aumento gradual no enrijecimento do material avaliado, podendo ser justificado pela permanência prolongada em AE, visto que este agente causa desidratação dos tecidos, tornando-os ao longo do tempo, mais rígidos.

Tabela 5. Análise do alongamento necessário para a ruptura das amostras de jejuno dos grupos 1, 2 e 3, submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio 30% (SACS 30%).

Grupo	Parâmetros	Momentos avaliados					(Valor de P) ²	
		Controle	M1	M2	M3	M4		M5
G1	Alongamento ¹	2,41	3,16	3,67	2,87	2,47	2,59	0,001
	Desvio padrão	0,80	0,51	1,52	1,37	0,93	0,99	
	Diferença entre as médias	-	-0,75	-1,27*	-0,47	-0,061	-0,18	
G2	Alongamento ¹	2,79	2,80	2,53	2,83	2,46	2,24	0,05
	Desvio padrão	0,79	0,73	1,03	1,57	0,94	1,05	
	Diferença entre as médias	-	-0,01	0,26	-0,04	0,33	0,55	
G3	Alongamento ¹	4,26	3,09	2,98	2,52	2,55	2,43	<0,0001
	Desvio padrão	2,24	1,30	1,21	1,31	1,57	1,08	
	Diferença entre as médias	-	1,17	1,28*	1,74*	1,71*	1,83*	

¹: Valores expressos em milímetro (mm).

²: Valor de P= Diferença ao nível de 5% de significância pelo teste ANOVA.

* Diferença ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Momentos: Controle (amostras frescas/sem fixador ou conservante; M1 (final do período de fixação em AE: 30 dias para o grupo 1; 60 dias para o grupo 2; 90 dias para o grupo 3); M2 (30 dias de conservação em SACS 30%); 3 (60 dias de conservação em SACS 30%); 4 (90 dias de conservação em SACS 30%) e 5 (120 dias de conservação em SACS 30%).

Os valores das medianas dos coeficientes (R^2) encontradas entre força (N) e alongamento (mm), em relação às médias do momento controle para as amostras de pele, dos grupos 1, 2 e 3, foram 0,65, 0,72 e 0,42, respectivamente (Figura 8),

indicando que houve correlação de 65%, 72% e 42% entre a força e o alongamento necessário para romper as amostras de pele, no decorrer do tempo.

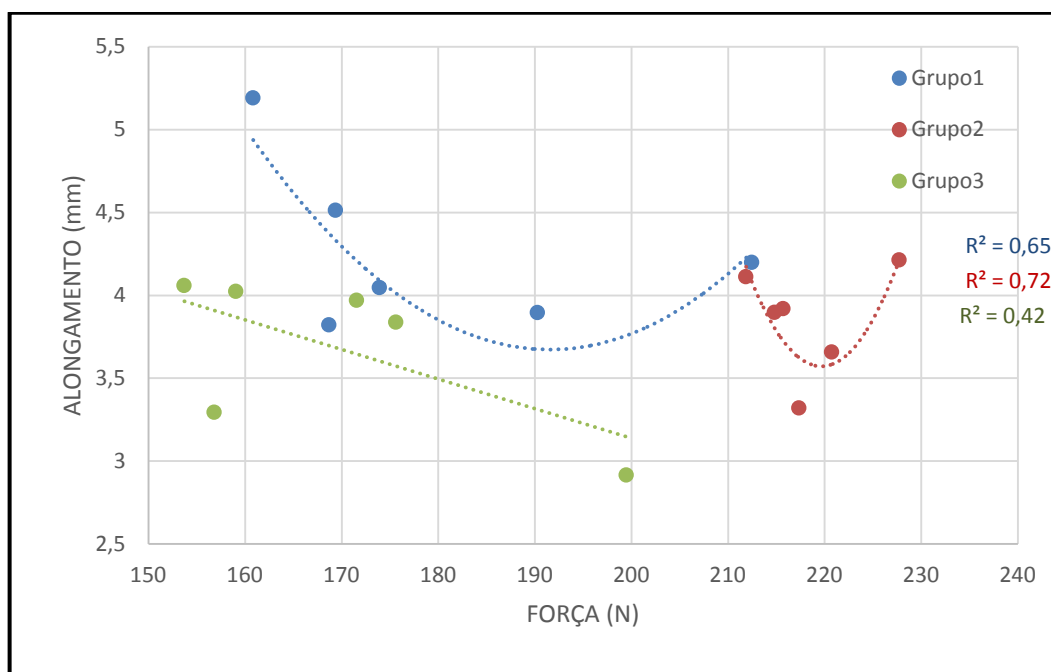


Figura 8. Correlação entre a média do alongamento (mm) e da força máxima de ruptura (N) das amostras de pele, em relação aos valores controle, de cadáveres de gatos fixados por 30, 60 e 90 dias em AE e conservados em SACS (30%), referentes aos grupos 1, 2 e 3, respectivamente.

Para as amostras de jejuno, os valores das medianas dos coeficientes (R^2) entre a Força (N) e o alongamento (mm), dos grupos 1, 2 e 3, foram de 0,58, 0,66 e 0,45, respectivamente, indicando desta forma que, houve correlação de 58%, 66% e 45 % entre a força e o alongamento necessário para o rompimento total das amostras de jejuno, para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente (Figura 9).

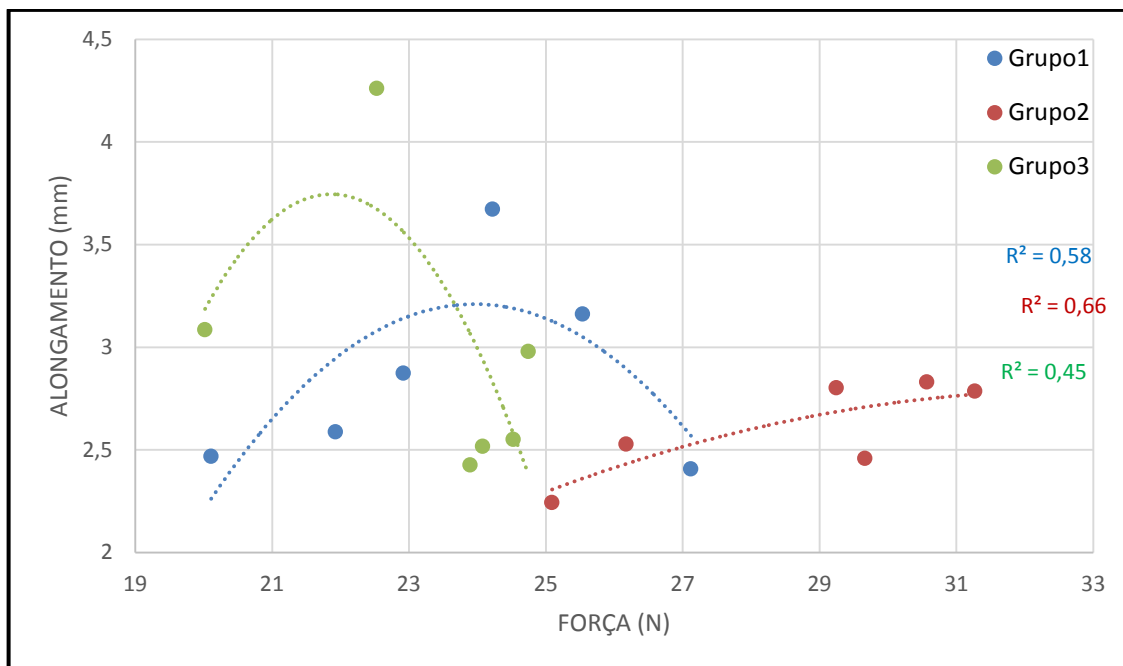


Figura 9. Correlação entre a média do alongamento (mm) e da força máxima de ruptura (N) das amostras de jejuno, em relação aos valores controle, de cadáveres de gatos fixados por 30, 60 e 90 dias em AE e conservados em SACS (30%), referentes aos grupos 1, 2 e 3, respectivamente.

Como o grupo 2 apresentou os melhores resultados referente à força máxima de ruptura da pele, ao alongamento da pele e ao do jejuno, além dos mais altos coeficientes de determinação (R^2) da força em relação ao alongamento (da pele e do jejuno), considerou-se este grupo como o ideal para a fixação por AE e conservação por SACS visando ao treinamento cirúrgico em cadáveres de gatos.

As análises microbiológicas das soluções utilizadas nos diferentes momentos de fixação e conservação dos cadáveres dos gatos estudados indicaram condições satisfatórias para o emprego do AE e da SASC 30%, respectivamente, para essa finalidade. Não houve crescimento microbiano na solução alcoólica previamente ao início do experimento.

A identificação e quantificação microbiológica dos principais agentes presentes nas soluções utilizadas para a fixação e conservação das peças anatômicas, em momentos distintos e nos três grupos avaliados estão descritas a seguir, nas tabelas 6, 7 e 8, referentes aos grupos 1, 2 e 3, respectivamente.

No Grupo 1, observou-se que durante o período de fixação houve contaminação da solução com bactérias dos Gêneros *Pseudomonas sp*,

Staphylococcus sp., *Clostridium sp.* mas em valores abaixo de $1,0 \times 10$ UFC/mL para Aeróbios totais e Anaeróbios totais, respectivamente. Durante o período de conservação, também houve contaminação em todos os momentos, e foram identificadas bactérias dos Gêneros *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Clostridium sp.*, e também a presença de fungo. Os valores mantiveram-se entre $1,0 \times 10$ e $7,0 \times 10$ UFC/mL para Aeróbios totais e Anaeróbios totais.

Tabela 6. Identificação e quantificação microbiológica do grupo 1, de animais fixados por 30 dias em AE e conservados por 120 dias em SACS 30%.

GRUPO 1				
Dias	Solução	Aeróbios totais (UFC/mL)	Anaeróbios totais (UFC/mL)	Agentes isolados
0	AE	0	0	-
30	AE	$< 1,0 \times 10$	$< 1,0 \times 10$	<i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Staphylococcus sp.</i> , <i>Clostridium sp.</i>
30	SACS	$< 1,0 \times 10$	$2,2 \times 10$	<i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Staphylococcus sp.</i> , <i>Clostridium sp.</i>
60	SACS	$5,2 \times 10$	$3,7 \times 10$	<i>Staphylococcus sp.</i> , <i>Clostridium sp.</i> , <i>Fungo</i>
90	SACS	$3,0 \times 10$	$7,0 \times 10$	<i>Staphylococcus sp.</i> , <i>Clostridium sp.</i> , <i>Fungo</i>
120	SACS	$1,1 \times 10$	$7,0 \times 10$	<i>Clostridium sp.</i> , <i>Fungo.</i>
Total	-	$11,3 \times 10$	$20,9 \times 10$	-

Também houve presença de agentes contaminantes, no grupo 2, destacando-se a presença dos Gêneros *Bacillus sp.* e *Clostridium sp.* no período de fixação alcoólica, entretanto os valores das contagens de UFC/mL foram abaixo de $1,0 \times 10$.

Os principais agentes isolados nos momentos de conservação em SACS 30% foram *Clostridium sp.*, *Bacillus sp.*, *Staphylococcus sp.*, além de fungo aos 90 dias de conservação. O valor máximo de UFC/mL observado durante a conservação foi de $9,0 \times 10$.

Tabela 7. Identificação e quantificação microbiológica do grupo 2, de animais fixados por 60 dias em AE e conservados por 120 dias em SACS 30%.

GRUPO 2				
Dias	Solução	Aeróbios totais (UFC/mL)	Anaeróbios totais (UFC/mL)	Agentes isolados
0	AE	0	0	-
60	AE	<1,0 x 10	<1,0 x 10	<i>Clostridium sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i>
30	SACS	<1,0 x 10	4,0 x 10	<i>Clostridium sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i>
60	SACS	3,0 x 10	2,0 x 10	<i>Clostridium sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i>
90	SACS	< 1,0 x 10	9,0 x 10	<i>Staphylococcus sp.</i> , <i>Clostridium sp.</i> , <i>Fungo</i>
120	SACS	2,0 x 10	2,0 x 10	<i>Clostridium sp.</i>
Total	-	8,0 x 10	18 x 10	-

No Grupo 3, foram isolados *Staphylococcus sp.* e *Clostridium sp.* durante a fixação alcoólica, como valor máximo de UFC/mL de 2,3 x 10. Durante todos os momentos de conservação em SACS 30%, bactérias do gênero *Clostridium sp.*, foram isoladas. Os valores mantiveram-se entre 1,0x10 e 3,0x10 UFC/mL.

Tabela 8. Identificação e quantificação microbiológica do grupo 3, de animais fixados por 90 dias em AE e conservados por 120 dias em SACS 30%

GRUPO 3				
Dias	Solução	Aeróbios totais (UFC/mL)	Anaeróbios totais (UFC/mL)	Agentes isolados
0	AE	0	0	-
30	AE	< 1,0 x 10	1,2 x 10	<i>Staphylococcus sp.</i> , <i>Clostridium sp.</i>
60	AE	1,7 x 10	2,3 x 10	<i>Staphylococcus sp.</i> , <i>Clostridium sp.</i>
90	AE	<1,0 x 10	<1,0 x 10	<i>Staphylococcus sp.</i> , <i>Clostridium sp.</i>
30	SACS	3,0 x 10	3,0 x 10	<i>Clostridium sp.</i>
60	SACS	< 1,0 x 10	<1,0 x 10	<i>Clostridium sp.</i>
90	SACS	< 1,0 x 10	<1,0 x 10	<i>Clostridium sp.</i>
120	SACS	<1,0 x 10	<1,0 x 10	<i>Clostridium sp.</i>
Total	-	9,7 x 10	10,5 x 10	-

Apesar de haver contaminação em todos os momentos de fixação e conservação nos três grupos avaliados, a contagem de UFC/mL sempre se manteve

baixa, a inspeção visual não revelou sinais de contaminação no conteúdo das caixas plásticas utilizadas, não houve presença de odor desagradável e nem putrefação.

4.2 Segunda Fase

As médias das notas e dos desvios padrão dos itens avaliados após a utilização de cadáveres de felinos submetidos à nova técnica anatômica de preparo, após a identificação do melhor momento de interrupção da fixação alcoólica, mediante a aplicação do formulário fornecido aos 50 alunos da disciplina de Técnica Cirúrgica do curso de Graduação em Medicina Veterinária da FCAV – UNESP, Jaboticabal, na segunda fase do trabalho, estão expressas na tabela 9.

Com base na análise dos dados, observou-se que a nota média geral da resistência e maleabilidade dos tecidos foi de $7,68 \pm 1,74$, ou seja, classificada como boa pelos alunos.

Tabela 9. Valores médios das notas e desvios padrão da avaliação realizada por 50 alunos da disciplina de técnica cirúrgica de pequenos animais da FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, mediante a aplicação de questionário, após o uso de cadáveres de gatos fixados em AE e conservados em SACS 30 %, em aula prática. Os valores propostos variam de 1 (péssimo) a 10 (excelente).

	Média	Desvio Padrão
Resistência da pele quanto à incisão/sutura	7,94	1,60
Resistência da musculatura quanto à incisão/sutura	7,98	1,39
Resistência do estômago quanto à incisão/sutura	8,12	1,33
Resistência do intestino quanto à incisão/sutura	7,54	1,72
Resistência da bexiga urinária quanto à incisão/sutura	7,58	1,79
Maleabilidade dos Intestinos	7,78	1,58
Maleabilidade do Baço	7,34	2,24
Maleabilidade do Fígado	7,14	2,28
Média Geral	7,68	1,74

Em relação às questões presentes no questionário, 92% dos alunos mostraram-se a favor da utilização de cadáveres no ensino da técnica cirúrgica. A mesma porcentagem manteve a opinião após o uso de cadáveres de felinos preparados com a nova técnica anatômica em questão, em aula prática de técnica cirúrgica. A opção pelo treinamento em cadáveres quimicamente conservados, seguido por prática cirúrgica em animais de rotina no Hospital Veterinário, foi de 90%.

5 DISCUSSÃO

A utilização de AE como agente fixador mostrou-se eficiente para os cadáveres de gatos, similarmente ao observado em cadáveres de cães para treinamento cirúrgico (ROCHA, 2016).

O emprego de alcoóis na fixação de cadáveres humanos por período de 6 meses a 1 ano (GOYRI-O'NEILL et al., 2013), e o uso de AE na fixação de cães, por até 120 dias (ROCHA, 2016) manteve a qualidade tecidual semelhante à do tecido fresco. Tais resultados assemelham-se aos observados no presente estudo, mediante análise biomecânica das amostras de pele e jejuno de gatos.

O uso de solução aquosa de cloreto de sódio a 30% já foi avaliada e mostrou-se eficiente na conservação de peças anatômicas previamente fixadas com solução de formaldeído, por um período de até cinco anos, não havendo contaminação visual aparente, odores indesejados, perda na maciez e coloração (OLIVEIRA, 2014). A utilização desta mesma solução, também se mostrou eficaz na conservação de cães previamente fixados com álcool etílico por até 120 dias (ROCHA, 2016) e isto também foi observado no presente estudo com cadáveres de gatos, semelhantemente ainda aos resultados obtidos na conservação de pericárdio canino em solução hipersaturada de cloreto de sódio por até 30 dias, para fins cirúrgicos (BRUN et al., 2002).

Alterações teciduais em animais já foram observadas quando o agente fixador foi o formaldeído, o qual causou grande enrijecimento em peitos de frango fixados por 45 dias (7 vezes maior) (GUASTALLI et al., 2007) ou até por um ano (4,4 a 5 vezes maior) (GUASTALLI et al., 2012), em testes biomecânicos de cisalhamento. Na utilização de AE como fixador foi observado o aumento da rigidez tecidual, tornando-os quase cinco vezes mais rígidos ao corte durante os primeiros seis meses, e três vezes mais rígidos após um ano de imersão neste agente (NUNES et al., 2011). Diferentemente, neste presente estudo, a força máxima de ruptura no teste de tração de pele e jejuno, por até 90 dias de fixação em AE, não apresentaram grande variação em relação à força máxima de ruptura da pele e jejuno do grupo controle (cadáveres não fixados).

A pele dos cadáveres de gatos frescos, com peso médio de $4,43 \pm 1,13$ kg, apresentou força máxima de ruptura de 209,26N, diferentemente do valor de 131,3N, para cadáveres de cães frescos, com peso médio de $7,58 \pm 1,55$ kg e submetidos ao mesmo protocolo e em teste de tração com a mesma velocidade de alongamento. No jejuno dos cadáveres de gatos, a força máxima de ruptura foi de 26,97N, e muito semelhante aos 27,6N nos cadáveres de cães (ROCHA, 2016).

Os valores médios de ruptura da pele de cadáveres de gatos fixados por AE por 30 a 90 dias variaram de $159,06 \pm 61,18$ N a $211,86 \pm 137,50$ N, semelhantemente à variação de valores de $131,1 \pm 53,6$ N a $177,5 \pm 86,6$ N para cadáveres de cães. Em relação aos valores médios de ruptura do jejuno nos cadáveres de gatos fixados pelo mesmo agente e período, estes variaram de $20,02 \pm 5,29$ N a $29,25 \pm 11,82$ N, diferentemente aos valores de $14,0 \pm 5,1$ N a $18,5 \pm 9,7$ N para os cadáveres de cães. Os valores médios de ruptura da pele nos gatos conservados por SACS 30% por 30 a 120 dias variaram de $153,70 \pm 67,83$ N a $227,73 \pm 129,10$ N, diferentemente dos valores de $106,6 \pm 51,0$ N a $148,7 \pm 83,3$ N nos cadáveres de cães. No jejuno dos cadáveres de gatos conservados pelo mesmo agente e período, os valores variaram de $20,11 \pm 8,95$ N a $30,57 \pm 13,77$ N, diferentemente dos valores de $12,9 \pm 5,1$ N a $18,5 \pm 9,7$ N para os cadáveres de cães (ROCHA, 2016).

A eficácia da SACS 30% na conservação dos tecidos pôde ser observada na manutenção dos cadáveres ao longo dos 120 dias para a prática cirúrgica. Além disso, houve estabilização da força máxima de ruptura das amostras de pele (média G2, $215,71 \pm 147,50$ a $227,73 \pm 129,10$ N) e jejuno (média G3, $23,89 \pm 6,81$ a $24,74 \pm 7,22$ N) após o período de fixação em AE por até 90 dias. Entretanto, devido ao efeito desidratante promovido pelo AE, observou-se nas amostras de jejuno, durante o período de conservação em SACS 30%, diminuição do alongamento necessário para a ruptura, indicando discreto aumento de rigidez. Tal fato discorda dos resultados obtidos em cadáveres de cães fixados e conservados pelo mesmo protocolo, ao observar que não houve diferença nos valores de ruptura total das amostras de pele e jejuno de cães, conservados por até 120 dias em SACS 30%, após fixação em AE (ROCHA, 2016).

Durante o período de fixação alcoólica e conservação salina dos cadáveres de gatos, a contaminação microbiológica das soluções permaneceu sempre baixa

semelhantemente ao observado nas soluções fixadoras e conservadoras de cadáveres de cães submetidos ao mesmo protocolo (PEREIRA et al., 2016).

Em relação aos agentes microbiológicos isolados na SACS 30% utilizada por até 120 dias, houve predomínio de bactérias do gênero *Clostridium sp.*, e *Staphylococcus sp.*, diferentemente do encontrado na mesma solução utilizada em cadáveres de cães, na qual houve predomínio dos gêneros *Pseudomonas sp.*, *E. coli* e *Bacillus* (PEREIRA et al., 2016).

O número de microrganismos observados no presente estudo foi de no máximo 10^1 UFC/mL. Apesar de não existir uma norma que estabeleça a contagem bacteriana mínima permitida para conservantes de cadáveres, pode-se fazer uma comparação com outros trabalhos para ilustrar que a quantidade de microrganismos detectada foi baixa, comprovando que o método de conservação foi eficiente. Em experimento realizado com inóculo de patógeno, a concentração utilizada para que a bactéria fosse capaz de causar doença no hospedeiro foi de 10^9 UFC/mL (RIGOBELLO et al., 2016). Já em experimentos que utilizaram probióticos, os autores afirmam que a concentração para as bactérias causarem os benefícios esperados deve ser $\geq 10^8$ UFC/g (KURU et al, 2017). Esses dados mostram que para causarem o efeito, sejam positivos através de probióticos ou negativos através de patógenos, a quantidade de UFC deve ser acima de 10^8 . Ainda, existem padrões microbiológicos sanitários para alimentos que estabelecem limites na contagem de microrganismos em frutas, hortaliças, carne, pescado, leite e derivados, entre outros (BRASIL, 2001). A tolerância varia de acordo com o microrganismo, mas atinge até 10^3 . Este dado evidencia que 10^3 é uma concentração considerada baixa, pois garante que não causará dano ao consumidor, e nosso trabalho encontrou concentrações menores que esta.

A baixa contagem de UFC/mL presente na SACS 30% não prejudicou sua qualidade na conservação de cadáveres de gatos, não sendo observada contaminação visual aparente, presença de odor desagradável ou putrefação, durante todo o período avaliado, similarmente ao descrito na conservação de peças anatômicas por até cinco anos (OLIVEIRA, 2014), na conservação de cadáveres de cães fixados por AE e conservados em SACS 30% por até 120 dias (ROCHA, 2016),

e na conservação de pericárdio canino por um período mínimo de 90 dias em solução hipersaturada de cloreto de sódio, para fins cirúrgicos (BRUN et al., 2002).

O sucesso no uso da SACS a 30% pode ser sugerido pela dificuldade de sobrevivência de microrganismos em um meio que exija enorme capacidade de osmorregulação, similarmente ao que ocorre nos oceanos (MUNRO; GAUTHIER; BREITTMAYER, 1989) e no mar morto (NISSEMBAUM, 1975).

Em relação ao questionário fornecido aos 50 alunos da disciplina de Técnica Cirúrgica de Pequenos Animais da FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, houve aprovação de 92% quanto à utilização de cadáveres quimicamente preservados no ensino da cirurgia, e 90% foram a favor do treinamento cirúrgico inicial neste tipo de modelo, seguido por prática em animais submetidos à cirurgia eletiva em Hospital Veterinário. Isto é similar aos resultados obtidos por Silva, Matera e Ribeiro (2003), com 93,29%, e Rocha (2016), com 75,67% dos alunos a favor da utilização do treinamento cirúrgico nessas duas etapas, o que indica a necessidade do desenvolvimento de novos métodos de ensino da técnica cirúrgica.

A média geral da avaliação dos alunos em relação à resistência e maleabilidade dos tecidos dos cadáveres de gatos submetidos a presente técnica anatômica de preparo, foi de $7,68 \pm 1,74$, sendo considerada como boa, similarmente aos resultados obtidos, a partir da resistência e maleabilidade de cadáveres de cães submetidos à fixação em AE e conservados em SACS 30% por até 120 dias, com média geral de $7,39 \pm 1,45$ (ROCHA, 2016).

A boa receptividade dos graduandos mediante o treinamento cirúrgico em cadáveres quimicamente preparados condiz com o descrito na literatura (KNIGHT, 2007). Em países como Canadá e Estados Unidos, a maioria das universidades possuem métodos alternativos para o treinamento dos alunos, evitando o uso de animais vivos e reduzindo consideravelmente o número de animais submetidos à eutanásia (BALCOMBE, 2000).

6 CONCLUSÃO

Mediante a realização deste estudo, conclui-se que:

- a técnica anatômica utilizada mostrou-se eficiente tanto na fixação quanto na conservação de cadáveres de gatos por até 7 meses;
- o momento ideal para a interrupção da fixação de cadáveres de gatos em AE é de 60 dias, visando o ensino da técnica cirúrgica, devido à maior semelhança à resistência tecidual em relação aos cadáveres frescos;
- o uso de AE como agente fixador e SACS 30% como conservante, revelou baixa contagem microbiológica, não havendo sinais aparentes de contaminação, assim como odor desagradável ou putrefação nos tanques e animais, sendo microbiologicamente eficaz e viável, na fixação e conservação de cadáveres de gatos;
- houve grande aprovação (92%) dos alunos do curso de Medicina Veterinária da FCAV – UNESP – Jaboticabal quanto à utilização de cadáveres de gatos quimicamente preservados no ensino da disciplina de Técnica Cirúrgica.

7 REFERÊNCIAS

ALVARENGA, J. Possibilidades e limitações da utilização de membranas biológicas preservadas em cirurgia. In: DALECK, C. R. **Tópicos em cirurgia de cães e gatos**. Jaboticabal: Fundação de estudos e pesquisas em Agronomia-Universidade Estadual Paulista. 1992. p.33-39.

BALCOMBE, J. The use of animals in higher education: problems, alternatives and recommendations. **The Humane Society Press**. Washington. 2000. 104 p.

BARROW, G. I.; FELTHAM, R. K .A. (ed.). **Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria**. 3.ed. Cambridge: Cambridge University, p.331, 1993.

BRASIL. Ministério da Saúde (MS). Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001**, que aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.

BRUN, M. V.; PIPPI, N. L.; DREIMEIER, D.; CONTESINI, E. A.; BECK, C. A. C.; CUNHA, O.; FILHO, S. T. L. P.; ROEHSIG, C.; STEDILE, R. Solução hipersaturada de sal como conservante de pericárdio canino utilizado na reparação do músculo reto abdominal de ratos Wistar. **Ciência Rural**, n.6, v.32, p. 1019-1025, 2002.

CAMARGO, D. C.; CAMARGO, P. C.; LEAL, L. M.; FILHO, S. P. G.; MARTINS, L. L.; SHIMANO, A. C.; MACHADO, M. R. F. Propriedades tensiométricas do peritônio da paca (*Cuniculus paca*) a fresco e conservado em glicerina 98%. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, n. 34, v. 2, p. 185-191, 2014.

CARVALHO, Y. K.; ZAVARIZE, K. C.; MEDEIROS, L. S.; BOMBONATO, P. P. Avaliação do uso da glicerina proveniente da produção de biodiesel na conservação de peças anatômicas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.1, p.115-118, 2013.

CORRÊA, W. R. **Isolamento e identificação de fungos filamentosos encontrados em peças anatômicas conservadas em solução de formol a 10%**. 2003. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2003.

CURY, F. S.; CENSONI, J. B.; AMBRÓSIO, C. E. Técnicas Anatômicas no ensino da prática de anatomia animal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.5, p. 688-696, 2013.

EPA. Environmental Protection Agency of the United States of America. **Formaldehyde**, 2000. Disponível em: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-09/documents/formaldehyde.pdf>. Acesso em: 23 mai. 2017.

FORMALDEHYDE: **Medical Management Guidelines for Formaldehyde**, 2017. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/mmq/mmq.asp?id=216&tid=39>. Acesso em: 23 mai 2017.

FREITAS, I. B.; SOUZA, A. M.; SANTOS, R. M. B. **Técnica anatômica aplicada na conservação de cortes segmentares em *Canis familiaris* e *Decapterus macarellus***. Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão, 9, UFRPE, Recife, 2009. p.1-3 (Resumo).

Disponível em: <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0721-2.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2017.

GOYRI-O'NEILL, J.; PAIS, D.; FREIRE DE ANDRADE, F.; RIBEIRO, P.; BELO, A.; O'NEILL, A.; RAMOS, S.; NEVES MARQUES, C. Improvement of the embalming perfusion method: The innovation and the results by light and scanning electron microscopy. **Acta Médica Portuguesa**. n. 26, p. 188-194, 2013.

GUASTALLI, B. H. L.; SADDI, L. G. C.; ZANI, F. L.; NUNES, T. C.; GAMON, T. H. M.; OLIVEIRA, F. S. **Mensuração da textura de tecido muscular fixado e conservado em solução aquosa de formaldeído por 45 dias**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIA, 34, (Santos, Brasil). 2007.

Disponível em: <http://www.spmv.org.br/conbravet2007/dados/web-trabalhos-anatomia.htm>. Acesso em: 12 mai. 2017.

GUASTALLI, B. H. L.; NUNES, T. C.; GAMÓN, T. H. M.; CARMO, L. G.; DEL QUIQUI, E. M.; OLIVEIRA, F. S. Análise da textura de músculos submetidos à fixação em formaldeído e conservação em benzoato de sódio 0,5% e ácido acético 0,5%. **Acta Scientiae Veterinariae** (Online), v. 40, p. 1041, 2012.

GUIMARÃES, G. C.; MACHADO, M. R. F.; SHIMANO, A. C.; TERÇARIOL, C. A. S.; VOLPON, J. B.; DALECK, C. R. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 45, suplemento, p. 127-135, 2008.

JOHANNING, E.; BIAGINI, R.; HULL, D.; MOREY, P.; JARVIS, B.; LANDSBERGIS, P. Health and immunology study following exposure to toxigenic fungi (*Stachybotrys chartarum*) in a water-damaged office environment. **Internal Archives of Occupation and Environmental Health**, n.68, v.4, p. 207-218, 1996.

KARAM, R. G.; CURY, F. S.; AMBRÓSIO, C. E.; MAÇANARES, C. A. F. Uso da glicerina para a substituição do formaldeído na conservação de peças anatômicas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n.7, p.671-675, 2016.

KIMURA, A. K. E.; CARVALHO, W. L. **Estudo da relação custo x benefício no emprego da técnica de gliceração em comparação com a utilização da conservação por formol**. 2010. (Trabalho de Conclusão de Curso de Extensão em Higiene Ocupacional), Universidade Estadual Paulista, Araraquara, SP. 30p.

KNIGHT, A. The Effectiveness of Humane Teaching Methods in Veterinary Education. **ALTEX: Alternatives to Animal Experimentation**. Tokyo. v. 24, n. 2, p. 91-109. 2007.

KRUG, L.; PAPPEN, F.; ZIMMERMANN, F.; DEZEN, D.; RAUBER, L.; SEMMELMANN, C.; ROMAN, L. I.; BARRETA, M. H. **Conservação de Peças Anatômicas com Glicerina Loira**. Instituto Federal Catarinense, Concórdia, SC, p.1- 6, 2011(Resumo)

Disponível em http://mic.ifc-concordia.edu.br/wp-content/uploads/2011/09/MIC109_Conserva%C3%A7%C3%A3o_de_pe%C3%A7as_anat%C3%B4micas_com_glicerina_loira.pdf. Acesso em: 10 abr. 2017.

KURU, B. E.; LALEMAN, I.; YALNIZOGLU, T.; KURU, L.; TEUGHELIS, W. The influence of *Bifidobacterium Animalis* Probiotic on gingival health: a randomized controlled clinical trial. **Journal of Periodontology**, Copyright, 2017.

LAFLAMME, D. P. Development and validation of a body condition score system for dogs. **Canine Practice**, n. 22, p. 10-15, 1997.

LEAL, L. M.; FERREIRA, A. R. S.; REIS, A. C. G.; MARTINS, L. L.; FILHO, S. P. G.; MACHADO, R. F. O uso do peritônio de paca conservado em solução supersaturada de açúcar a 300% ou glicerina a 98% implantados na parede abdominal de ratos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 5, p. 1383-1391, 2014.

MATHEWS, K. G.; RILEY, K.; LASCELLES, B. D. X.; DERNELL, W. S. Preparation of Canine and Feline Cadavers for Surgical Laboratories. **Veterinary Surgery**, v.39, p.224–225, 2010.

MIRANDA, C.R. et al. Benzenismo no complexo petroquímico de Camaçari - Bahia. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, n. 89/90, v. 24, 1997.

MUNRO, P. M.; GAUTHIER, M. J.; BREITTMAYER, V. A. Influence of osmoregulation processes on starvation survival of *Escherichia coli* in seawater. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 55, p. 2017-2024. 1989.

NISSENBAUM, A. The microbiology and biogeochemistry of the Dead Sea. **Microbial Ecology**. 2: 139-161. 1975.

NTP 2010. Final Report on Carcinogens: Background Document for Formaldehyde. National Toxicology Program, Department of Health and Human Services, **Research Triangle Park**, NC, USA. 512p.

NUNES, T. C.; OLIVEIRA, F. S.; GAMON, T. H. M.; GUASTALLI, B. H. L.; CARMO, L. G.; DEL QUIQUI, E. M. Análise da textura de músculos peitorais submetidos à fixação e conservação em álcool. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, p. 464-467, 2011.

OLIVEIRA, L. N.; RODRIGUES, G. S.; GUALDI, C. B.; FEIJÓ, A. G. S. A Lei Arouca e o uso de animais em ensino e pesquisa na visão de um grupo de docentes. **Revista Bioethikos**. n.7, v. 2, p. 139-149, 2013.

OLIVEIRA, F. S. Assessing the effectiveness of 30% sodium chloride aqueous solution for the preservation of fixed anatomical specimens: a 5-year follow-up study. **Journal of Anatomy**, n. 225, p. 118-121, 2014.

PAIXÃO, R. L. Métodos substitutivos ao uso de animais vivos no ensino - Repensando o que aprendemos com os animais no ensino. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 11, p.88-91, 2008.

PEREIRA, N.; CARDOZO, M. V.; ROCHA, T. A. S. S.; ÁVILA, F. A.; MACHADO, M. R. F.; OLIVEIRA, F. S. Microbiological analysis of a new anatomical specimen preparation technique for use in veterinary surgery, **Anatomia, Histologia, Embriologia**, v.45, p.5-98, 2016.

PRZYBYSZ, C. H.; SCOLIN, E.; NATALI, M. R. M. Ação do formaldeído no esôfago de ratos: análise morfológica e morfométrica. **Revista F@pciência**, v.4, n. 3, p.16-29, 2009.

RIGOBELLO, E. C.; CARDOZO, M. V.; AVILA, F. A.; BLACKALL, P. J. An evalotion of the use of probiotics and manure composting as strategies to reduce levels of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in sheep. **African Journal of Microbiology Research**, v.10, n.26, p. 1011-1017, 2016.

ROCHA, T. A. S. S. **Análise biomecânica de pele e jejuno de cadáveres de cães submetidos a uma nova técnica anatômica de preparo visando o ensino da técnica cirúrgica**. 2016. 52 f. (Mestrado em Cirurgia Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP, 2016.

RODRIGUES, H. **Técnicas anatômicas**. GM GRÁFICA & EDITORA. Vitória-ES. 2010. 269p.

SCHALLER, O. **Nomenclatura Veterinária Ilustrada**. São Paulo: Manole. 1999. 614p.

SANTANA, N, L, R.; GUIMARÃES, N, N. Análise do potencial tóxico e genotóxico das substâncias fixadoras para cadáveres e peças anatômicas. **Estudos**, v.14, n.3, p.649-656, 2014.

SILVA, E. C. **Aspectos biomecânicos musculares relacionados à administração experimental de corticosteróide sistêmico**. 2002. 94 f. Dissertação (mestrado em Bioengenharia) – Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2002.

SILVA, E. M.; DIAS, G.; TAVARES, M.; MARQUES, T.; FURTADO, J. M. Estudo Analítico da Técnica de Glicerinação Empregada Para Conservação de Peças Anatômicas. **UniFOA**, p.66-69, 2008.

SILVA, R. M. G.; MATERA, J. M.; RIBEIRO, A. A. C. M. Preservation of cadavers for surgical technique training. **Veterinary Surgery**. v.33, p.606–608, 2004.

SILVA, R. M. G.; MATERA, J. M.; RIBEIRO, A. A. C. M. New Alternative Methods to Teach Surgical techniques for Veterinary Medicine Students despite the Absence of

Living Animals. Is that an Academic Paradox? **Anatomia, Histologia, Embryologia**. v. 36, p. 220–224, 2007.

SOLOMON, W. R. Assessing fungus prevalence in domestic interiors. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.56 n.3 p.235-242, 1975.

SOUZA, S. A. Ensaio de tração. In: **Ensaaios mecânicos de material metálico**. 3ª ed. São Paulo, Edgard Blücher Ltda, 1982, cap. 1, p. 3-58.

WHO – World Health Organization - IPCS International Programme on Chemical Safety – **Formaldehyde - Health and Safety Guide**. n.57, 1991. Disponível em: <<http://www.inchem.org>>. Acesso em: 17 mai. 2017.