

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

ANÁLISE BIOMECÂNICA DE PELE E JEJUNO DE
CADÁVERES DE CÃES SUBMETIDOS A UMA NOVA
TÉCNICA ANATÔMICA DE PREPARO VISANDO O ENSINO
DA TÉCNICA CIRÚRGICA

Thiago André Salvitti de Sá Rocha

Médico Veterinário

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL
2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

ANÁLISE BIOMECÂNICA DE PELE E JEJUNO DE
CADÁVERES DE CÃES SUBMETIDOS A UMA NOVA
TÉCNICA ANATÔMICA DE PREPARO VISANDO O ENSINO
DA TÉCNICA CIRÚRGICA

Thiago André Salvitti de Sá Rocha
Orientador: Prof. Dr. Fabrício Singaretti de Oliveira
Coorientador: Prof. Dr. Luis Gustavo Gosuen Gonçalves Dias

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

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL
2016

R672a Rocha, Thiago André Salvitti de
Análise biomecânica de pele e jejuno de cadáveres de cães submetidos a uma nova técnica anatômica de preparo visando o ensino da técnica cirúrgica / Thiago André Salvitti de Sá Rocha. -- Jaboticabal, 2016
x, 52 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientador: Fabrício Singaretti de Oliveira
Banca examinadora: Leandro Luis Martins, Gustavo Garkalns de Souza Oliveira
Bibliografia

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

CDU 619:616-089.8:636.7

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



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ANÁLISE BIOMECÂNICA DE PELE E JEJUNO DE CADÁVERES DE CÃES SUBMETIDOS A UMA NOVA TÉCNICA ANATÔMICA DE PREPARO VISANDO O ENSINO DA TÉCNICA CIRÚRGICA

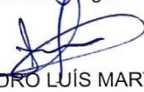
AUTOR: THIAGO ANDRÉ SALVITTI DE SÁ ROCHA

ORIENTADOR: FABRICIO SINGARETTI DE OLIVEIRA

CO-ORIENTADOR: LUIS GUSTAVO GOSUEN GONÇALVES DIAS

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


Prof. Dr. GUSTAVO GARKALNS DE SOUZA OLIVEIRA
Centro Universitário Barão de Mauá / Ribeirão Preto/SP

Jaboticabal, 15 de julho de 2016

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

THIAGO ANDRÉ SALVITTI DE SÁ ROCHA – nascido em São Paulo, São Paulo, aos 29 de outubro de 1979, filho de Reynaldo Sá Rocha e Miriam Teresinha Salvitti Sá Rocha. Em Julho de 2005, graduou-se em Medicina Veterinária na Universidade Estadual de Santa Catarina. Coursou o Programa de Aprimoramento (Residência) em Medicina Veterinária na área de Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais nos anos de 2006 e 2008, no Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da FCAV – UNESP Câmpus de Jaboticabal – SP. De 2008 a 2014, exerceu atividades de cirurgia autônomo de pequenos animais na região de Piracicaba, SP, e foi docente do Curso de Medicina Veterinária da UNIFIAN-Anhanguera, na cidade de Leme, SP, na área de cirurgia e anestesiologia de pequenos animais em 2012. Em 2015, iniciou o Programa de Mestrado em Cirurgia Veterinária na FCAV – UNESP – Câmpus de Jaboticabal.

À minha família, por todo apoio, carinho, amizade e amor.

Sou eternamente grato!

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a **DEUS!**

À minha família, meu pai **Reynaldo Sá Rocha**, minha mãe **Miriam Teresinha Salvitti de Sá Rocha** e minhas irmãs **Renata Andréa Salvitti de Sá Rocha** e **Camila Andréa Salvitti de Sá Rocha** por todo amor, carinho, ensinamentos, paciência e apoio. Ao meu tio **Oswaldo Luis Salvitti** pelo carinho e companheirismo.

Ao meu orientador e amigo, **Prof. Dr. Fabrício Singaretti de Oliveira**, por todos os ensinamentos profissionais e de vida, pela amizade, dedicação, paciência e principalmente pela confiança depositada.

Ao meu coorientador e amigo, **Prof. Dr. Luis Gustavo Gosuen Gonçalves Dias**, por todos esses anos de amizade, balizamento, ensinamentos e confiança.

Aos Docentes da Anatomia Veterinária, **Profa. Dra. Márcia Rita Fernandes Machado**, **Profa. Dra. Lizandra Amoroso** e **Profa. Dra. Silvana Martinez Baraldi Artoni**, por todo o carinho, amizade e receptividade.

Aos Docentes do Departamento de Cirurgia Veterinária, **Prof. Dr. Andriago Barboza De Nardi**, **Prof. Dr. Bruno Watanabe Minto** e **Profa. Dra. Paola Castro Moraes**, por toda a amizade, confiança e ensinamentos.

Ao **Prof. Dr. Antônio Carlos Shimano** e à **Gabriela Rezende Yanagihara** pela amizade e pelos ensinamentos, orientações e auxílio, que possibilitaram a condução deste trabalho no Laboratório de Anatomia Cirúrgica da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) - UNESP Câmpus de Jaboticabal.

Ao **Prof. Dr. Glauco Rolim** por todo o auxílio na estatística deste trabalho, à atenção concedida e pela amizade.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ)** por conceder a bolsa de estudos.

Aos Funcionários do Laboratório de Anatomia Veterinária, **Dona Marilda e Antônio**.

Aos funcionários do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel”

Aos alunos de Mestrado e Iniciação Científica do Laboratório de Anatomia Cirúrgica da FCAV, **Mariana, Rafael, Caio, Alisson, Maurício, Nathália, Isabella, Henrique, Eduardo, Marina Pelógia e Raphael Zero**, agradeço pela amizade, horas de risadas, toda a parceria e apoio.

A todos os companheiros de **Pós Graduação**.

A todos os meus irmãos da República “Antro do HV”. **Diego Yamada, Felipe Barros, Cleber Ido, Tatá, Gilmar Sousa, Murilo Kirnew, Carlos Eduardo Penner Belo, Fernando Rosa, Augusto Ryonosuke Taira, Vinicius Duarte, Kayo Neto**, vocês são minha segunda família.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIACÕES.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xii
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 Fixadores e Conservantes em Anatomia.....	17
2.2 Análise Biomecânica de Tecidos de Animais.....	19
2.3 A Utilização de Animais em Pesquisas e Atividades de Ensino.....	20
3 OBJETIVOS.....	21
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1 Primeira Fase.....	22
4.1.1 Os Animais.....	22
4.1.2 A Técnica Anatômica Utilizada.....	24
4.1.3 Método de Coleta de Material.....	26
4.1.4 Análise Quanto à Resistência dos Tecidos.....	29
4.1.5 Análise Estatística.....	30
4.2 Segunda Fase.....	31
4.2.1 Formulário/Questionário.....	31
5 RESULTADOS.....	32
6 DISCUSSÃO.....	41
7 CONCLUSÃO.....	45
8 REFERÊNCIAS.....	46

LISTA DE ABREVIATÖES

AE.....	Álcool Etílico
CEUA.....	Comissões de Ética no Uso de Animais
FCAV.....	Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
kg.....	Quilogramas
kgf.....	Quilogramas força
Km.....	Quilômetros
MAPE.....	Erro Percentual Médio Absoluto
min.....	Minutos
mL.....	Mililitro
mm.....	Milímetros
N.....	Newtons
NaCl.....	Cloreto de Sódio
R ²	Coeficiente de determinação
SACS 30%.....	Solução Aquosa de Cloreto de Sódio a 30%

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1	Cadáveres de cães agrupados quanto ao gênero, peso e idade, utilizados para fixação alcoólica e posterior conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%.....
	23
Tabela 2	Divisão dos grupos de cadáveres de cães em relação ao tempo de fixação em álcool etílico (AE) e conservação em solução de cloreto de sódio a 30 % (SACS 30%). Grupo controle constituído por cadáveres de cães não submetidos à fixação ou conservação (frescos).....
	24
Tabela 3	Valores dos coeficientes R2 em cada momento (0 a 5), em cadáveres de cães submetidos à fixação em diferentes tempos por álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%, em relação ao peso dos cadáveres x força máxima de ruptura da pele.....
	33
Tabela 4	Valores dos coeficientes R2 em cada momento (0 a 5), em cadáveres de cães submetidos à fixação em diferentes tempos por álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio (SACS) a 30%, em relação à idade dos cadáveres x força máxima de ruptura da pele.....
	34
Tabela 5	Valores dos coeficientes R2 em cada momento (0 a 5), em cadáveres de cães submetidos à fixação em diferentes tempos por álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio (SACS) a 30%, em relação ao peso dos cadáveres x

	força máxima de ruptura do jejuno.....	34
Tabela 6	Valores dos coeficientes R ² em cada momento (0 a 5), em cadáveres de cães submetidos à fixação em diferentes tempos por álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio (SACS) a 30%, em relação à idade dos cadáveres x força máxima de ruptura do jejuno.....	34
Tabela 7	Média absoluta e desvio padrão da força máxima de ruptura em N, referente às amostras de pele dos grupos 1, 2, 3 e 4, submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio. Momentos: 0 (análise prévia à fixação); 1 (30, 60, 90 e 120 dias de fixação em álcool etílico, para os grupos 1, 2, 3 e 4, respectivamente); 2 (30 dias SACS 30%); 3 (60 dias SACS 30%); 4 (90 dias SACS 30%) e 5 (120 dias SACS 30%).....	35
Tabela 8	Média absoluta e desvio padrão da força máxima de ruptura em N, referente às amostras de jejuno dos grupos 1, 2, 3 e 4 submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30% (SACS 30%). Momentos: 0 (análise prévia à fixação); 1 (30, 60, 90 e 120 dias de fixação em álcool etílico, para os grupos 1, 2, 3 e 4, respectivamente); 2 (30 dias SACS 30%); 3 (60 dias SACS 30%); 4 (90 dias SACS 30%) e 5 (120 dias SACS 30%).....	36
Tabela 9	Análise de variância (ANOVA) entre tratamentos e momentos para amostras de pele de cadáveres de cães fixados em	

	diferentes tempos no álcool etílico e conservados em solução aquosa de cloreto de sódio a 30% por 120 dias. Não houve diferença entre os tratamentos ($p>0,05$).....	36
Tabela 10	Análise de variância (ANOVA) entre tratamentos e momentos para amostras de jejuno de cadáveres de cães fixados em diferentes tempos no álcool etílico e conservados em solução aquosa de cloreto de sódio a 30% por 120 dias. Houve ao menos um momento diferente nos tratamentos ($p<0,01$).....	37
Tabela 11	Valores ajustados dos parâmetros do modelo de decaimento exponencial não linear. O modelo geral indica o ajuste para todos os tratamentos conjuntamente. As letras em sobrescrito indicam o teste de ANOVA para verificar pelo menos uma diferença dos parâmetros entre tratamentos de diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação durante 120 dias em solução aquosa de cloreto de sódio a 30 %. G1 (30 dias em álcool), G2 (60 dias em álcool), G3 (90 dias em álcool) e G4 (120 dias em álcool).....	39
Tabela 12	Média e desvio padrão referente ao formulário apresentado aos 50 alunos da disciplina de técnica cirúrgica de pequenos animais da FCAV-UNESP Câmpus de Jaboticabal, referente ao uso de cadáveres de cães fixados por 30 dias em álcool etílico e conservados por 30 dias em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%.....	40

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1	Fixação de cadáver de cão com álcool etílico glicerinado via artéria carótida comum externa..... 25
Figura 2	A: caixa plástica com tampa rosqueável com capacidade total de 310 litros, utilizada para a manutenção dos cadáveres de cães durante fixação em álcool etílico. B: aspecto geral dos cadáveres na solução alcoólica durante fixação em caixa plástica..... 26
Figura 3	Representação das linhas de tensão da pele do cão, segundo Kirpenstijn & Haar (2013). A coleta dos fragmentos de pele obedeceu à sequência numérica (quadrantes 1, 2, 3, e 4, cada um em triplicata) para cada momento no fixador ou conservante. Realizou-se a coleta nos dois antímero dos cadáveres com auxílio de molde confeccionado em aço inoxidável..... 27
Figura 4	Coleta de amostras de pele de cadáveres de cães submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%. Molde de aço inoxidável (seta vermelha) utilizado como guia para as coletas de pele em triplicata..... 28
Figura 5	Posicionamento do molde de aço inoxidável para a coleta de amostra do jejuno de cães submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%..... 28

- Figura 6 A: Máquina universal de ensaios biomecânicos (EMIC® DL 2000) utilizada para o teste de tração das amostras de pele e jejuno de cães submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%; B: detalhe da garra de acionamento por compressão manual, com a amostra de jejuno. Equipamento pertencente do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV – UNESP – Jaboticabal..... 29
- Figura 7 Média da força máxima (N) para rompimento de amostras de pele (A) e de jejuno (B), de cadáveres de cães fixados em diferentes tempos em álcool etílico e conservados durante 120 dias em SACS 30%. O momento 0 representa a análise em cadáveres frescos, sem fixação/conservação (grupo controle); O momento 1 é o momento final do período de fixação alcoólica; no momento 2 iniciou-se a conservação na solução salina a 30%, finalizada no momento 5 (intervalo de 30 dias entre os momentos). Cada valor amostrado é uma média de 8 repetições. ◆ G1 (30 dias em álcool), ■ G2 (60 dias em álcool), ▲ G3 (90 dias em álcool) e ✕ G4 (120 dias em álcool)..... 36
- Figura 8 Modelos não lineares de decaimento exponencial relacionando força máxima em função de diferentes momentos nos tratamentos em diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação por 120 dias solução de cloreto de sódio a 30 %. ◆ G1 (30 dias em álcool), ■ G2 (60 dias em álcool), ▲ G3 (90 dias em álcool) e ✕ G4 (120 dias em álcool)..... 38

ANÁLISE BIOMECÂNICA DE PELE E JEJUNO DE CADÁVERES DE CÃES SUBMETIDOS A UMA NOVA TÉCNICA ANATÔMICA DE PREPARO VISANDO O 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. Para que não haja deterioração dos tecidos, as peças anatômicas são fixadas. O formaldeído é o fixador e conservante mais utilizado, é prejudicial à saúde e traz sério risco ambiental. Outros agentes, como o álcool etílico, também já foram utilizados na boa fixação de músculos de aves, assim como o cloreto de sódio testado com sucesso na conservação de peças anatômicas por mais de cinco anos. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a viabilidade de uma nova técnica anatômica visando o ensino da técnica cirúrgica em cadáveres de cães mediante a fixação em álcool etílico (AE) e conservação em solução de cloreto de sódio a 30% (SACS 30%), e determinar qual o momento ideal de interrupção da fixação para que os tecidos apresentem características biomecânicas mais próximas do grupo controle, de animais frescos. Foram utilizados 5 grupos: grupo controle (animais frescos sem fixação ou conservação) e os outros 4 grupos diferenciaram somente quanto ao tempo de fixação em AE (30, 60, 90 e 120 dias) sendo a conservação em SACS 30% a mesma para todos os demais grupos (120 dias). Foram coletadas amostras de pele e jejuno e realizado teste biomecânico de tração em máquina universal de ensaios. A análise estatística de variância (ANOVA) revelou não haver diferença entre os tratamentos e momentos ($P > 0,05$) relativos em relação à pele, e evidenciou ao menos um momento significativamente diferente dos demais ($p < 0,01$) em relação ao jejuno. O teste de modelagem não linear evidenciou diferenças no grupo fixado em AE por 30 dias, concluindo-se que este foi o melhor período para fixação de cadáveres de cães em AE, visando-se sua utilização em treinamentos cirúrgicos.

Palavras-chave: conservação, anatomia, cirurgia, biomecânica, tração.

BIOMECHANICAL ANALYSIS OF THE SKIN AND JEJUNUM OF DOGS CORPSES SUBMITTED TO A NEW ANATOMICAL TECHNIQUE AIMING THE 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. In order to avoid tissues deterioration, anatomical pieces are fixed. Formaldehyde is the most used fixing and preservative substance, and it is harmful to health and cause serious environmental risks. Other agents, as ethanol, have been used as good fixing agents for bird muscles, as has the Sodium chloride been tested as conservative for anatomical pieces. The aim of this study was to evaluate the feasibility of a new anatomical technique that aims the surgical teaching in dog corpses by fixing them in ethylic alcohol (EA) and by conservation on sodium chloride aqueous solution (SCAS) 30%, looking for the ideal moment to interrupt fixation. Five groups were used: control group (fresh animals without fixation or conservation) and the other 4 groups differed only in fixation time in EA (30, 60, 90 and 120 days) and in the conservation on SCAS 30% was the same for all the groups (120 days). Samples of skin and jejunum were collected in triplicate and were submitted monthly to biomechanical traction testing in a universal testing machine. Statistical analysis (ANOVA) presented no difference between treatments and moments ($P > 0.05$) in the skin and presented at least one different moment ($p < 0.01$) in the jejunum. The nonlinear modeling test marked differences on the group that was fixed for 30 days in EA, and it was concluded that this was the best moment for fixation of corpses in EA, aiming their use in surgical teaching.

Keywords: conservation, anatomy, surgery, biomechanics, traction.

1 INTRODUÇÃO

O uso de substâncias tóxicas em laboratórios de anatomia está cada vez mais controlado em todo o Brasil, assim como em diversos locais do mundo. Trata-se de uma questão de saúde ocupacional e, também, ambiental, pois muitos destes agentes utilizados na fixação e conservação de cadáveres geram resíduos extremamente nocivos ao meio ambiente, contaminando o solo e reservas de água.

Além disso, é imperioso ter muito critério quanto ao uso de animais em pesquisa e atividades de ensino e, conseqüentemente, a busca por métodos alternativos a este uso e que não tragam prejuízo acadêmico ou científico é essencial.

Para regulamentar o uso de animais em pesquisas e atividades de ensino, foi implementada em 2008 a Lei n. 11.794, denominada Lei Arouca. Esta lei estabelece que as Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUA) controlem as atividades de ensino e pesquisa nas Universidades, auxiliando os profissionais da área biomédica, e cadastrando a Instituição junto ao Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (BRASIL, 2008). A Lei Arouca foi oficializada pelo Decreto 6.899 de 2009 (BRASIL, 2009) e pode auxiliar na formação dos novos profissionais agregando valores éticos de responsabilidade e respeito para com a vida (OLIVEIRA et al., 2013).

Cria-se, assim, a demanda pela criação de novas técnicas voltadas ao ensino envolvendo animais. Objetivou-se, com este trabalho, avaliar a viabilidade de uma nova técnica anatômica de preparo de cadáveres de cães para o ensino de técnica operatória utilizando álcool etílico (AE) e solução de cloreto de sódio a 30% (SACS 30%) em diferentes tempos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fixadores e Conservantes em Laboratórios de Anatomia

Em laboratórios de anatomia, a contaminação por fungos nas peças anatômicas pode desencadear, em alunos e profissionais, quadros de alergia em decorrência da grande exposição de esporos suspensos no ar (CORRÊA, 2003). Essa exposição prolongada e intensa a aerossóis de determinados fungos está associada a desordens dos sistemas nervoso central, respiratório e imune (JOHANNING et al., 1996).

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 (RODRIGUES, 2010). Assim, a boa conservação das peças, além de não permitir a deterioração do material, também evita a proliferação de patógenos que poderão causar doenças nas pessoas que frequentam o laboratório (CORRÊA, 2003).

A desidratação pode ser utilizada com sucesso para preservação de peças anatômicas, dispensando o uso de agentes conservantes (FREITAS; SOUZA; SANTOS, 2009), porém apresenta a desvantagem da retração tecidual, trazendo limitação considerável no estudo da anatomia, sendo um fator de desestímulo aos estudantes, professores e até mesmo aos funcionários de laboratório. A retração dos tecidos é uma característica inevitável devido a total perda de água da peça utilizada (FREITAS; SOUZA; SANTOS, 2009).

Entretanto, para a conservação em meios líquidos são utilizadas substâncias que impedem a proliferação de microrganismos. As mais comuns são o formaldeído, a glicerina, o álcool etílico e o fenol (RODRIGUES, 2010).

O formaldeído é o fixador e conservante mais utilizado, comumente em solução aquosa a 10%. Por ser barato e penetrar rapidamente nos tecidos (seis milímetros em doze horas) é amplamente utilizado nos laboratórios de anatomia (RODRIGUES, 2010). Além de prejudicial à saúde ele traz sério risco ambiental, pois o manuseio e descarte

inadequado de carcaças e efluentes podem contaminar o meio ambiente (WHO, 1991). Em 1995, a Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) o classificou como cancerígeno e teratogênico.

A glicerina é um conservante até dez vezes mais caro que o formaldeído (KRUG et al., 2011), com ação desidratante e antisséptica, atuando contra fungos e bactérias (ALVARENGA, 1992), e que evita odores prejudiciais à saúde como aqueles liberados pelo formaldeído (CURY; CENSONI; AMBRÓSIO, 2013).

Há vários outros exemplos de soluções fixadoras que são capazes de conservar cadáveres para uso cirúrgico, dentre os quais, a solução de Thiel (composta de ácido bórico, etilenoglicol, nitrato de potássio, clorometilfenol, sulfato de sódio e formalina) (GROSCURTH et al., 2001), a solução de Klotz (cloreto de sódio, bicarbonato de sódio, hidrato de cloral, formalina e água) a solução de Jores (água destilada, formalina, sulfato de sódio, sulfato de potássio, cloreto de sódio, bicarbonato de sódio, glicerina e acetato de sódio ou potássio (RODRIGUES, 1998), ou seja, todas possuem formalina.

A solução modificada de Larssen contém 100 ml de formalina a 10%, 400ml de glicerina, 200g de hidrato de cloral, 200g de sulfato de sódio, 200g de bicarbonato de sodio, 180g de cloreto de sódio e 2 litros de água destilada (SILVA et al., 2004).

A solução de Laskowski contém 800ml de glicerina, 200ml de etanol, 50g de ácido fênico e 50g de ácido bórico e demanda conservação dos cadáveres em temperatura de 0°C até o uso em aulas de cirurgias. Entre duas aulas consecutivas, eles permaneciam no freezer e o descongelamento ocorria em água por 24h antes de cada aula. Com esta solução, os tecidos tornam-se excessivamente escuros (SILVA et al., 2007).

A solução de Larssen é descrita como a solução conservadora que mantém a consistência, cor e características originais do material biológico e é capaz de remover coágulos sanguíneos (SAMPAIO, 1989). Na solução original de Larssen não há a glicerina líquida (MENEZES, 2012).

Também já se avaliou que, quando músculos peitorais de galinhas são submetidos à fixação e conservação em AE 96°GL, ocorre diminuição da maciez, tornando-os quase cinco vezes mais rígidos ao corte durante os primeiros seis meses, e

três vezes mais rígidos após um ano de imersão no agente conservante (NUNES et al., 2011).

Foi avaliada, com sucesso, durante 5 anos, a utilização da SACS a 30% na conservação de peças anatômicas previamente fixadas por formaldeído, não havendo sido reportados contaminação visual, presença de odores de putrefação e alteração de cor e maciez (OLIVEIRA, 2014). Já foi descrita, também, e com sucesso, a utilização da solução hipersaturada de cloreto de sódio em pericárdio (BRUN et al., 2002) e centro frênico de cães (BRUN et al., 2004a), ambos para fins cirúrgicos.

2.1 Análise Biomecânica de Tecidos de Animais

É crescente o interesse pelas propriedades biomecânicas dos tecidos biológicos de animais. Enfoque maior é dado aos estudos comparativos entre os tecidos submetidos à conservação e frescos, gerando dados que contribuem ao aprimoramento de técnicas cirúrgicas e que, segundo Camargo et al. (2014), tais estudos auxiliam na busca de material biológico alternativo para a realização de implantes e de novas opções de modelos de experimentação animal. Guimarães et al. (2008) descreveram as propriedades tensiométricas de fragmentos do diafragma, pericárdio e peritônio de bovinos não conservados e conservados em glicerina a 98%, submetidos a ensaios mecânicos de tração concluindo que a glicerina diminuiu a rigidez dos tecidos testados.

Em estudos realizados com peritônio de paca (*Cuniculus paca*) conservado em solução supersaturada de açúcar a 300%, concluiu-se que a solução permitiu melhor maleabilidade do biomaterial no ato cirúrgico (LEAL et al., 2014).

Camargo et al. (2014) verificaram melhora da propriedade tênsil do peritônio de paca conservado em glicerina 98% quando comparado ao fresco, sugerindo sua utilização como mais uma opção de material biológico para o uso em cirurgias reconstrutivas.

2.2 A Utilização de Animais em Pesquisas e Atividades de Ensino

Devido à criação da lei Arouca (nº 11.794) e o estabelecimento das CEUA, as quais controlam as atividades de ensino e pesquisas universitárias envolvendo animais, há a necessidade da busca por métodos alternativos e éticos para o ensino e pesquisa que envolva animais.

Técnicas de ensino humanizado em medicina veterinária tem-se oposto ao ensino nocivo, ao que se refere à utilização de animais vivos na prática da técnica cirúrgica. Knight (2007) relata em seu estudo que alternativas humanas, como a utilização de cadáveres, em determinadas situações promovem maior aprendizado, aumento da eficiência, diminui custos, além do potencial de customização e repetitividade do exercício. O aumento da confiança e satisfação do aluno devido à diminuição do estresse durante o procedimento cirúrgico com cadáveres beneficia o processo como um todo, desde que a fonte de cadáveres seja ética, onde estes animais sejam submetidos à eutanásia por razões médicas, morte natural ou acidentes.

Também, em levantamento realizado em 27 Universidades dos Estados Unidos, revelou que, em aulas práticas no período de 1983 a 1984 foram eutanasiados 16.655 animais, fator este que contribuiu para que atualmente, quase todas as universidades do Canadá e Estados Unidos possuam métodos alternativos para minimizar o uso de animais vivos para o treinamento dos alunos (BALCOMBE, 2000).

Em avaliação realizada na disciplina de técnica cirúrgica veterinária, Silva, Matera e Ribeiro (2003) relataram a grande aceitação dos estudantes em realizar o treinamento cirúrgico em duas fases: Primeiramente a prática em cadáveres quimicamente preservados e na segunda fase o treinamento da técnica de castração em animais vivos através do programa de controle populacional de cães e gatos. Houve 93,29% de aceitação a favor do método de ensino, demonstrando assim a necessidade da criação e aprimoramento de métodos alternativos de ensino na disciplina de técnica operatória.

Balta et al. (2015) fizeram referência à necessidade de encontrar uma técnica anatômica que preserve o corpo humano por longo período, de forma realista que sirva não somente para o propósito do estudo anatômico como também do cirúrgico e clínico, beneficiando também os testes de novos equipamentos radiográficos, de cirurgia minimamente invasiva e encorajando mais a ciência experimental a desenvolver protocolos que auxiliarão os anatomistas na preparação de cadáveres quimicamente preservados, suprimindo com qualidade esta nova demanda.

3 OBJETIVOS

Objetivou-se, com este estudo:

- determinar a viabilidade de uma nova técnica anatômica utilizando AE na fixação e SACS a 30% na conservação dos animais;
- Avaliar a qualidade do ajuste do modelo pelo coeficiente de determinação (R^2), verificando se há correlação entre o peso (kg) e a força máxima de ruptura (N) e a idade e a força máxima de ruptura, através da análise dos dados obtidos pelo teste biomecânico das amostras de pele e jejuno fixadas em diferentes momentos em AE e conservadas em SACS 30%;
- determinar qual o melhor momento para se interromper a fixação em AE devido à maior semelhança à resistência tecidual em relação a cadáveres frescos, sem fixadores/conservantes;
- avaliar 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.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Primeira Fase

4.1.1 Os Animais

Foram utilizados 40 (quarenta) cadáveres de cães, 14 machos e 26 fêmeas, adultos, que vieram a óbito por causas que não envolviam alterações morfológicas evidentes, como grandes massas tumorais, traumas lacerantes extensos ou fraturas ósseas. Todos provenientes do Centro de Controle de Zoonoses de Ribeirão Preto, SP, após aprovação pelo Departamento Jurídico Municipal (processo 02.2014/000027-1). Os animais eram congelados (freezer a -18°C) logo após o óbito e transportados ao Laboratório de Anatomia Animal da UNESP Jaboticabal, SP, localizado a 50 Km de distância. As idades dos animais foram determinadas via prontuário de óbito.

Os animais selecionados tinham peso corporal entre 4,3 a 12,5 kg (Tabela 1) e com escore corporal de 4 (costelas facilmente palpáveis, com mínima cobertura de gordura; cintura abdominal facilmente notada, quando vista dorsalmente; prega abdominal evidente) a 5 (costelas palpáveis e sem excesso de cobertura de gordura; cintura abdominal observada caudalmente às costelas quando vista dorsalmente; prega abdominal evidente quando vista por lado), considerando 4 a 5 como escore corporal ideal por Laflamme (1997), numa escala de 1 a 9.

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

Grupo	Gênero	Peso (kg)	Idade (anos)
controle	M	9,7	6,0
controle	F	9,0	9,0
controle	M	7,5	4,0
controle	F	12,5	1,5
controle	M	7,0	2,0
controle	M	9,5	1,0
controle	M	5,1	9,0
controle	M	7,3	9,0
Média do grupo controle	25%F, 75%M	8,45	5,2
1	M	9,8	4,0
1	F	9,2	1,5
1	F	5,2	15,0
1	M	6,8	14,0
1	F	7,2	4,0
1	F	10,1	8,0
1	F	11,3	1,5
1	F	12,5	6,0
Média do grupo 1	75% F, 25% M	9	6,8
2	F	5,8	7,0
2	F	11,0	12,0
2	F	7,2	1,0
2	M	5,3	10,0
2	F	7,5	11,0
2	M	4,3	1,5
2	M	11,0	1,0
2	F	5,2	13,0
Média do grupo 2	62,5 % F, 37,5% M	7,16	7,0
3	M	8,6	1,0
3	F	5,3	2,5
3	F	10,8	8,0
3	F	5,0	2,0
3	F	8,0	3,0
3	F	9,6	4,0
3	F	10,5	2,5
3	F	5,5	8,0
Média do grupo 3	87,5 % F 12,5% M	7,9	4,8
4	M	2,7	10,0
4	F	4,4	8,0
4	F	3,2	5,0
4	F	6,3	1,5
4	F	11,6	1,5
4	M	4,0	4,0
4	F	3,2	6,0
4	F	7,5	3,0
Média do grupo 4	75% F, 25% M	5,3	4,8

*Grupos 1, 2, 3 e 4: 30, 60, 90 e 120 dias sob fixação alcoólica, respectivamente. F: fêmea; M: macho.

A identificação foi individualizada, em película plástica demarcada com pirógrafo, referindo ao grupo e número do animal e posteriormente fixada no membro torácico com barbante, na altura da articulação rádio-carpo-ulnar direita.

4.1.2 A Técnica Anatômica Utilizada

Os animais foram descongelados em refrigerador horizontal a 8°C, pesados e então distribuídos aleatoriamente nos seguintes grupos (Tabela 2):

Tabela 2: Divisão dos grupos de cadáveres de cães em relação ao tempo de fixação em álcool etílico (AE) e conservação em solução de cloreto de sódio a 30 % (SACS 30%). Grupo controle constituído por cadáveres de cães não submetidos à fixação ou conservação (frescos).

Grupo	Fixador (AE)	Conservante (SACS 30%)
Controle (cadáveres frescos)	-	-
1	30 dias	120 dias
2	60 dias	120 dias
3	90 dias	120 dias
4	120 dias	120 dias

Para a fixação foi infundido AE 96°GL¹ e 5% de glicerina. Foram aplicados 120 mL desta solução por kg, via artéria carótida comum externa, a qual era canulada, após a sua dissecação, com agulha 40 x 12 mm (18G) e acoplada à seringa descartável de 60 ml (Figura 1) realizando-se a infusão da solução.

¹Usina São Martinho® – Pradópolis, SP.



Figura 1 – Fixação de cadáver de cão com álcool etílico glicerinado via artéria carótida comum externa.

Cada grupo foi constituído de oito animais que permaneciam em diferentes tempos sob fixação alcoólica (exceto o grupo controle):

Após a injeção do fixador, realizavam-se duas incisões, uma no tórax (entre quarto e quinto espaço intercostal direito) e outra no abdome, medianamente, para se remover o líquido sanguinolento acumulado nas cavidades mediante utilização de água corrente. A seguir, os cadáveres foram acondicionados em caixas plásticas (1 caixa por grupo de 8 animais) com tampa rosqueável (com capacidade total de 310 litros), contendo 180 litros de AE. As lavagens cavitárias foram realizadas diariamente e com água corrente, durante 5 dias consecutivos. Cada grupo (exceto o grupo controle) foi acondicionado em uma caixa (Figura 2).

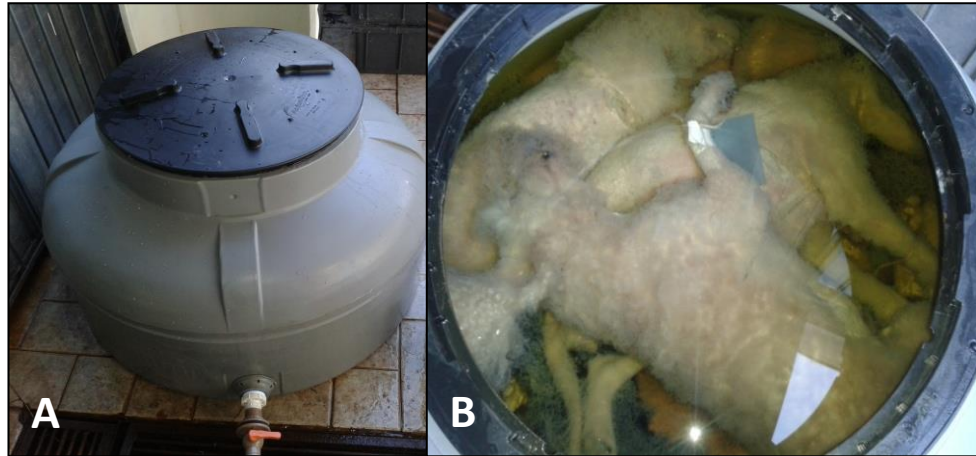


Figura 2 – A: caixa plástica com tampa rosqueável com capacidade total de 310 litros, utilizada para a manutenção dos cadáveres de cães durante fixação em álcool etílico. B: aspecto geral dos cadáveres na solução alcoólica durante fixação em caixa plástica.

As caixas plásticas foram mantidas em ambiente coberto, mas aberto nas laterais e com ventilação abundante, sem fontes ígneas próximas, evitando-se qualquer tipo de acidente local.

Após o período de fixação dos cadáveres, variando de 30 a 120 dias de acordo com o grupo estudado, seguiu-se para a fase de conservação em SACS² a 30% por 120 dias. O cloreto de sódio foi colocado em caixas plásticas iguais (com capacidade total de 310 litros), sendo preparado para cada grupo o mesmo volume (180 litros) empregado na fase de fixação.

4.1.3 Método de Coleta de Material

Um molde de aço inoxidável, de 1 x 7cm (largura x comprimento) foi confeccionado para a coleta mensal das amostras, em triplicata, de pele e jejuno (eleitas devido a maior disponibilidade amostral tecidual e por grande utilização no

² Agromix® Nutrição Animal – Jaboticabal, SP.

ensino da técnica cirúrgica), durante os períodos de fixação em AE e conservação em SACS 30% dos grupos, totalizando 1.296 amostras.

Para a coleta das 3 amostras de pele, posicionava-se o cadáver, inicialmente, em decúbito lateral direito (antímero esquerdo voltado para cima). Com o auxílio de um bisturi (lâmina número 23), contornava-se o molde excisando os fragmentos cutâneos, coletando-se três amostras sequenciais no sentido transverso à linha de tensão da pele do cão, na lateral do tórax, paralelamente e a 5 cm do plano mediano (Figura 3 e 4). Foi realizada a tricotomia prévia em todo o tórax, tomando-se cuidado para não lesar a pele em nenhum momento. As amostras do grupo controle também foram coletadas no antímero esquerdo (submetidos imediatamente ao teste biomecânico). Nos 4 grupos, as coletas deram-se, durante a fase de fixação em AE no antímero esquerdo e na fase de conservação em SACS a 30%, no antímero direito.



Figura 3 – Representação das linhas de tensão da pele do cão, segundo Kirpenstijn & Haar (2013). A coleta dos fragmentos de pele obedeceu à sequência numérica (quadrantes 1, 2, 3, e 4, cada um em triplicata) para cada momento no fixador ou conservante. Realizou-se a coleta nos dois antímeros dos cadáveres com auxílio de molde confeccionado em aço inoxidável.



Figura 4: Coleta de amostras de pele de cadáveres de cães submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%. Molde de aço inoxidável (seta vermelha) utilizado como guia para as coletas de pele em triplicata.

Para a coleta das 3 amostras de jejuno, os animais eram 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. 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 (Figura 4).



Figura 5 – Posicionamento do molde de aço inoxidável para a coleta de amostra do jejuno de cães submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%.

Todas as amostras de pele ou jejuno foram acondicionadas em frascos e identificadas individualmente, contendo a solução utilizada na caixa plásticas no ato da coleta e imediatamente transportadas ao Laboratório de Anatomia Cirúrgica, do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, para as análises biomecânicas.

4.1.4 Análise Quanto à Resistência dos Tecidos

Para avaliação da resistência tecidual, utilizou-se uma Máquina Universal de Ensaio³, com célula de carga de 500 N e suporte de acionamento eletromecânico, com velocidade de 100 mm/min. Também foram utilizadas garras de tração por acionamento de compressão manual. O equipamento é pertencente ao Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV – UNESP – Jaboticabal (Figura 5).

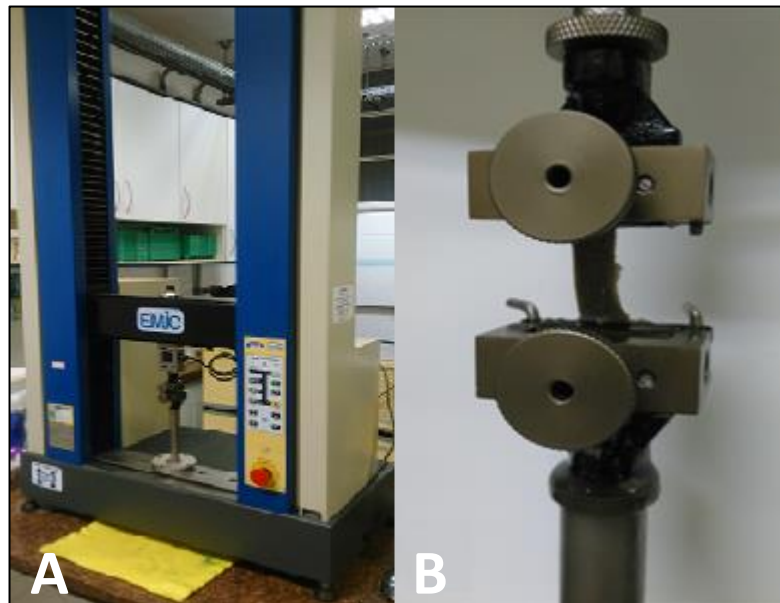


Figura 6 – A: Máquina universal de ensaios biomecânicos (EMIC® DL 2000) utilizada para o teste de tração das amostras de pele e jejuno de cães submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%; B: detalhe da garra de acionamento por compressão manual, com a amostra de jejuno. Equipamento pertencente do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV – UNESP – Jaboticabal.

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

O teste de tração foi conduzido até o rompimento das amostras de pele e jejuno, obtendo-se, assim, os valores referentes à força máxima aplicada em N.

4.1.5 Análise Estatística

Foi aplicada regressão linear polinomial de segunda ordem para estimar o coeficiente de determinação (R²) de modelos em que a variável dependente foi a força máxima de ruptura cutânea e jejunal (N) e as variáveis dependentes foram o peso e a idade. A seguir, os dados de força máxima para rompimento dos tecidos de pele e jejuno nos diferentes momentos e tratamentos foram analisados por análise de variância (ANOVA) a 0,05 de significância.

Buscando-se análise mais detalhada da força máxima de rompimento para jejuno em função dos momentos foram ajustados modelos não-lineares na forma exponencial pela metodologia dos mínimos quadrados ordinários, segundo a equação 1 a seguir:

$$Y = Y_o + A_1 \times e^{-(X-X_o)/t_1}$$

A, de acordo com a equação 2:

$$MAPE = \frac{\sum_{i=1}^N \left(\left| \frac{Y_{est_i} - Y_{obs_i}}{Y_{obs_i}} \right| \times 100 \right)}{N},$$

sendo Y a força máxima (N), Y_o é a média na estabilização da força máxima (N) nos momentos finais do tratamento, A₁ é a amplitude ponderada dos valores de Y, X_o é o momento de maior taxa de decaimento da força máxima (momento), t₁ é a taxa média de decaimento (N momento⁻¹) e X é o momento considerado. Y_{esti} é o valor estimado de força máxima no momento i, Y_{obsi} é o valor observado de força máxima no momento i e N o número de dados.

Foi realizado também teste de ANOVA para verificação de diferenças entre os parâmetros ajustados nos diferentes tratamentos.

4.2 Segunda Fase do Trabalho

Foram preparados quimicamente 10 cadáveres de cães, 5 machos e 5 fêmeas, seguindo o mesmo protocolo utilizado na primeira fase do trabalho, pós análise dos resultados, sendo escolhido o melhor momento de interrupção da fixação no álcool, propiciando assim o preparo de cadáveres com características morfológicas mais próximas do real.

Estes cadáveres foram fornecidos aos 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 as diversas práticas operatórias e submetidos ao formulário/questionário a seguir, preenchido por todos os graduandos 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 deste 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?
 - a) Aulas com animais vivos, eutanasiados após a aula
 - b) Treinamento inicial em cadáveres quimicamente conservados, seguido por aulas incluindo animais do Hospital Veterinário, que vieram para uma cirurgia eletiva, por exemplo, orquiectomia ou ovariosalpingohisterectomia

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.

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

5 RESULTADOS

A técnica anatômica empregada mostrou-se eficiente para a fixação e conservação dos animais durante todo o experimento. Durante o período de conservação em SACS 30%, houve liberação gradual de gordura dos cadáveres na solução das caixas plásticas e os grupos 3 e 4 (90 e 120 dias em AE, respectivamente), por permanecerem mais tempo em fixação alcoólica, foram os que apresentaram-se

mais engordurados e viscosos no final da conservação em SACS 30%, dificultando relativamente a manipulação durante a coleta das amostras.

Foi observado também, durante a fixação em AE, o 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 alcoólica, a densidade alcoólica variou de 80 a 83°GL (mensurada por etilômetro), demonstrando ótima quantidade de álcool na solução, o que favoreceu a correta fixação dos cadáveres a serem colocados na SACS 30% por 120 dias.

Em relação à análise estatística, as medianas dos coeficientes R2 encontradas entre:

- peso e força máxima de ruptura da pele foi de 0,56 (56% dos animais apresentaram correlação direta entre o peso corporal e a força máxima de ruptura da pele e 44% não apresentam a correlação);
- idade e força máxima de ruptura da pele foi de 0,49 (49% apresentaram correlação direta entre idade e ruptura da pele e 51% não apresentaram correlação);
- peso e força máxima de ruptura do jejuno foi de 0,17 (17% apresentaram correlação direta entre peso e ruptura do jejuno e 83% não apresentaram correlação);
- idade e força máxima de ruptura do jejuno foi de 0,15 (15% apresentaram correlação direta entre idade e força máxima de ruptura do jejuno e 85% não apresentaram); respectivamente (Tabelas 3 a 6).

Tabela 3 – Valores dos coeficientes R2 em cada momento (0 a 5), em cadáveres de cães submetidos à fixação em diferentes tempos por álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%, **em relação ao peso dos cadáveres x força máxima de ruptura da pele.**

Momento \ Grupos	0	1	2	3	4	5
1	0,17	0,58	0,62	0,55	0,49	0,65
2	0,17	0,58	0,55	0,58	0,46	0,54
3	0,17	0,23	0,23	0,19	0,82	0,80

4	0,17	0,65	0,77	0,72	0,57	0,69
---	------	------	------	------	------	------

Momento 0: análise prévia à fixação; Momento 1: final do período de fixação em álcool etílico (30, 60, 90 e 120 dias respectivamente); Momento 2: conservação em SACS a 30% por 30 dias; Momento 3: conservação em SACS a 30% por 60 dias; Momento 4: conservação em SACS a 30% por 90 dias; Momento 5: conservação em SACS a 30% por 120 dias.

Tabela 4 – Valores dos coeficientes R2 em cada momento (0 a 5), em cadáveres de cães submetidos à fixação em diferentes tempos por álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%, **em relação à idade dos cadáveres x força máxima de ruptura da pele.**

Momento \ Grupos	0	1	2	3	4	5
1	0,53	0,43	0,65	0,59	0,77	0,42
2	0,53	0,43	0,5	0,53	0,16	0,35
3	0,53	0,30	0,22	0,47	0,25	0,28
4	0,53	0,38	0,72	0,61	0,52	0,43

Momento 0: análise prévia à fixação; Momento 1: final do período de fixação em álcool etílico (30, 60, 90 e 120 dias respectivamente); Momento 2: conservação em SACS a 30% por 30 dias; Momento 3: conservação em SACS a 30% por 60 dias; Momento 4: conservação em SACS a 30% por 90 dias; Momento 5: conservação em SACS a 30% por 120 dias.

Tabela 5 – Valores dos coeficientes R2 em cada momento (0 a 5), em cadáveres de cães submetidos à fixação em diferentes tempos por álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%, **em relação ao peso dos cadáveres x força máxima de ruptura do jejuno.**

Momento \ Grupos	0	1	2	3	4	5
1	0,21	0,07	0,15	0,38	0,06	0,48
2	0,21	0,15	0,21	0,28	0,16	0,33
3	0,21	0,09	0,11	0,10	0,05	0,06
4	0,21	0,22	0,06	0,18	0,08	0,22

*Momento 0: análise prévia à fixação; Momento 1: final do período de fixação em álcool etílico (30, 60, 90 e 120 dias respectivamente); Momento 2: conservação em SACS a 30% por 30 dias; Momento 3: conservação em SACS a 30% por 60 dias; Momento 4: conservação em SACS a 30% por 90 dias; Momento 5: conservação em SACS a 30% por 120 dias.

Tabela 6 – Valores dos coeficientes R2 em cada momento (0 a 5), em cadáveres de cães submetidos à fixação em diferentes tempos por álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%, **em relação à idade dos cadáveres x força máxima de ruptura do jejuno.**

Momento	0	1	2	3	4	5
---------	---	---	---	---	---	---

Grupos						
1	0,13	0,04	0,17	0,22	0,01	0,27
2	0,13	0,42	0,08	0,11	0,11	0,28
3	0,13	0,28	0,41	0,28	0,23	0,27
4	0,13	0,05	0,06	0,10	0,17	0,36

*Momento 0: análise prévia à fixação; Momento 1: final do período de fixação em álcool etílico (30, 60, 90 e 120 dias respectivamente); Momento 2: conservação em SACS a 30% por 30 dias; Momento 3: conservação em SACS a 30% por 60 dias; Momento 4: conservação em SACS a 30% por 90 dias; Momento 5: conservação em SACS a 30% por 120 dias.

Assim, não houve relação entre as variáveis, ou seja, o peso e a idade dos cadáveres não interferiram no teste de ruptura tecidual da pele e jejuno fixados em AE e

Momento	G1	G2	G3	G4
0	131,3 ± 75,6	131,3 ± 75,6	131,3 ± 75,6	131,3 ± 75,6
1	152,6 ± 71,9	131,1 ± 53,6	177,5 ± 86,6	110,8 ± 56,7
2	139,3 ± 55,0	119,1 ± 52,2	148,7 ± 83,3	118,4 ± 65,9
3	130,3 ± 54,1	106,6 ± 51,0	148,7 ± 71,9	121,5 ± 78,8
4	148,7 ± 63,1	145,6 ± 69,6	116,4 ± 60,9	110,3 ± 64,0
5	115,1 ± 53,5	112,3 ± 78,3	112,3 ± 60,3	132,4 ± 65,5

conservados em SACS 30%.

A partir dos dados gerais das forças máxima de ruptura das amostras de pele e jejuno submetidas ao teste biomecânico de tração obteve-se a média absoluta e respectivo desvio padrão dos grupos 1, 2, 3 e 4 em diferentes momentos de fixação em AE e conservação em SACS 30% (Tabelas 7 e 8).

Tabela 7 – Média absoluta e desvio padrão da força máxima de ruptura em N, referente às amostras de pele dos grupos 1, 2, 3 e 4, submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio.

Momentos: 0 (análise prévia à fixação); 1 (30, 60, 90 e 120 dias de fixação em álcool etílico, para os grupos 1, 2, 3 e 4, respectivamente); 2 (30 dias SACS 30%); 3 (60 dias SACS 30%); 4 (90 dias SACS 30%) e 5 (120 dias SACS 30%).

Tabela 8 – Média absoluta e desvio padrão da força máxima de ruptura em N, referente às amostras de jejuno dos grupos 1, 2, 3 e 4 submetidos a diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação em solução aquosa de cloreto de sódio a 30% (SACS 30%).

Momento: 0 (análise prévia à fixação); 1 (30, 60, 90 e 120 dias de fixação em álcool etílico, para os grupos 1, 2, 3 e 4, respectivamente); 2 (30 dias SACS 30%); 3 (60 dias SACS 30%); 4 (90 dias SACS 30%) e 5 (120 dias SACS 30%).

A força máxima necessária para romper amostras de pele e de jejuno (todos os momentos) variou respectivamente de 106,7 N a 177,5 N (média de 142,1 N) e de 12,9 N a 27,6 N (média de 20,2 N) (Figura 6).

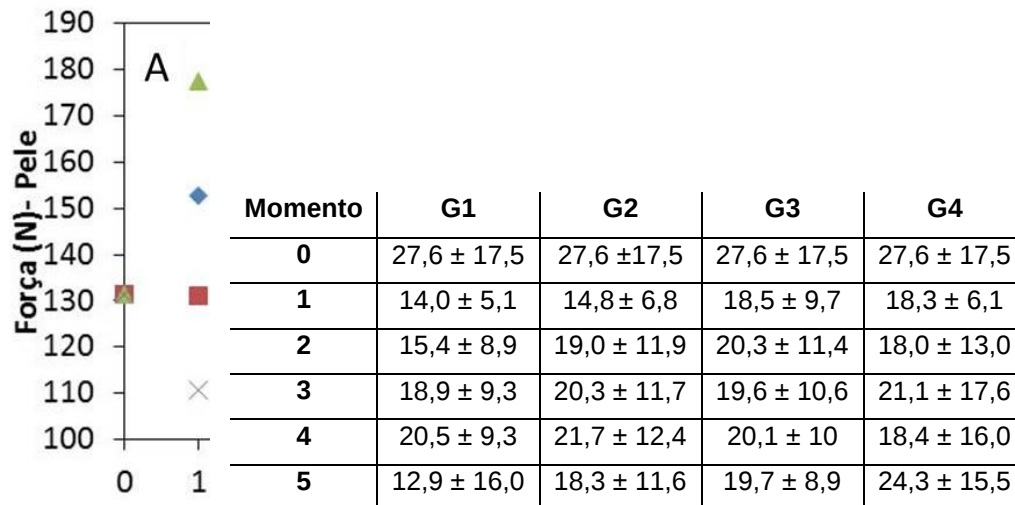


Figura 7 – Média da força máxima (N) para rompimento de amostras de pele (A) e de jejuno (B), de cadáveres de cães fixados em diferentes tempos em álcool etílico e conservados durante 120 dias em SACS 30%. O momento 0 representa a análise em cadáveres frescos, sem fixação/conservação (grupo controle); O momento 1 é o momento final do período de fixação alcoólica; no momento 2 iniciou-se a

conservação na solução salina a 30%, finalizada no momento 5 (intervalo de 30 dias entre os momentos). Cada valor amostrado é uma média de 8 repetições.

◆ G1 (30 dias em álcool), ■ G2 (60 dias em álcool), ▲ G3 (90 dias em álcool) e ✕ G4 (120 dias em álcool).

Quanto às amostras de pele, a ANOVA evidenciou que não houve diferenças entre tratamentos e momentos (Tabela 9), pois o valor P foi sempre maior que 0,05.

Tabela 9 – Análise de variância (ANOVA) entre tratamentos e momentos para amostras de pele de cadáveres de cães fixados em diferentes tempos no álcool etílico e conservados em solução aquosa de cloreto de sódio a 30% por 120 dias. Não houve diferença entre os tratamentos ($p>0,05$).

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>G.L.</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Momentos	5676,82	5	1135,36	0,24	0,94	2,27
Tratamentos	9460,00	3	3153,33	0,68	0,57	2,66
Interações	38855,60	15	2590,37	0,56	0,90	1,73
Total	836112,50	191				

*SQ: soma dos quadrados; G.L.: grau de liberdade; MQ: quadrado médio; F: razão entre o modelo e seu erro; valor-P: nível de significância; F crítico.

O teste ANOVA também indicou que não houve interações entre os tratamentos e momentos relativos à análise das amostras de pele.

Em relação às amostras de jejuno, a ANOVA demonstrou que pelo menos um momento foi significativamente diferente dos demais ($p<0,01$) e que não houve diferenças entre os tratamentos (G1 até G4) (Tabela 10).

Tabela 10 – Análise de variância (ANOVA) entre tratamentos e momentos para amostras de jejuno de cadáveres de cães fixados em diferentes tempos no álcool etílico e conservados em solução aquosa de cloreto de sódio a 30% por 120 dias. Houve ao menos um momento diferente nos tratamentos ($p<0,01$).

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>G.L.</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Momentos	2392,40	5	478,48	5,45	0,000112	2,27
Tratamentos	273,064	3	91,021	1,037	0,38	2,66
Interações	559,24	15	37,28	0,42	0,97	1,73
Total	17969,80	191				

*SQ: soma dos quadrados; G.L.: grau de liberdade; MQ: média quadrada; F: razão entre o modelo e seu erro; valor-P: nível de significância; F crítico.

Como foi identificado um momento diferente dos demais na análise estatística do jejuno, foi realizada modelagem não-linear, visando-se determinar qual foi esse momento. Na modelagem, o modelo de decaimento exponencial (equação 1) explicou a

variação da força máxima para rompimento de amostras de jejuno em função dos diferentes momentos nos tratamentos (Figura 7), pois o MAPE geral foi de 9,6 %.

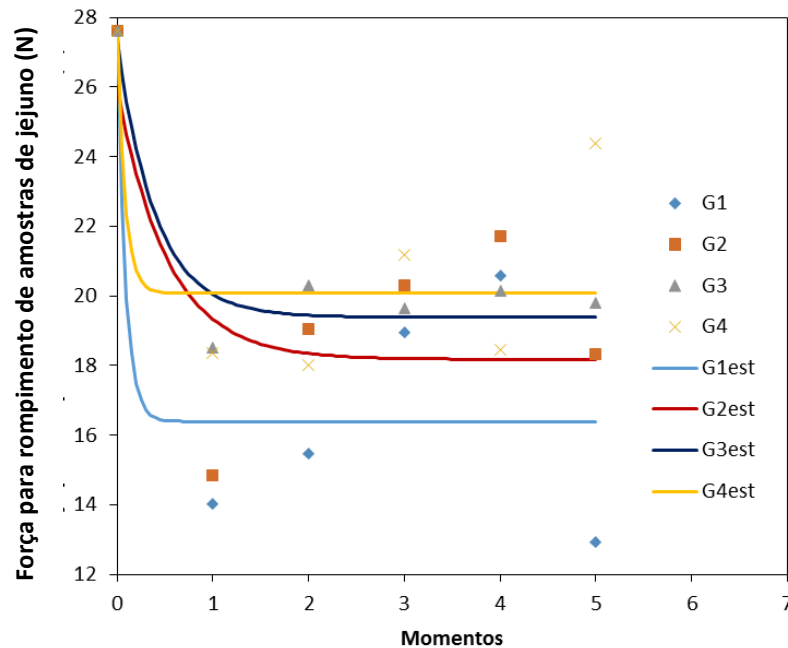


Figura 8 – Modelos não lineares de decaimento exponencial relacionando força máxima em função de diferentes momentos nos tratamentos em diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação por 120 dias solução de cloreto de sódio a 30%.

◆ G1 (30 dias em álcool), ■ G2 (60 dias em álcool), ▲ G3 (90 dias em álcool) e ✕ G4 (120 dias em álcool).

Todos os valores de Y_0 entre os modelos foram estatisticamente semelhantes indicando que a média de força máxima nos momentos finais dos tratamentos são iguais, comprovando assim, a eficiência da solução de cloreto de sódio a 30% como conservante. Todos os outros parâmetros ajustados apresentaram pelo menos uma diferença entre os tratamentos, indicando que a resposta dos tratamentos varia em relação à amplitude média (A_1), momento de maior taxa de decaimento (X_0) e taxa de decaimento (T_1), dos valores de força máxima.

Observa-se que houve decaimento gradual dos valores referentes à força máxima de ruptura das amostras de jejuno até o momento final da fixação em álcool

etílico e posteriormente estabilização da força máxima por até 120 dias, comprovando assim o efeito conservante da SACS a 30% para este tipo de tecido.

Assim, em relação ao jejuno, o G1 apresentou A1 e Xo diferentes dos demais grupos, sendo este o momento de significância (Tabela 11).

Tabela 11 – Valores ajustados dos parâmetros do modelo de decaimento exponencial não linear. O modelo geral indica o ajuste para todos os tratamentos conjuntamente. As letras em sobrescrito indicam o teste de ANOVA para verificar pelo menos uma diferença dos parâmetros entre tratamentos de diferentes tempos de fixação em álcool etílico e conservação durante 120 dias em solução aquosa de cloreto de sódio a 30 %. G1 (30 dias em álcool), G2 (60 dias em álcool), G3 (90 dias em álcool) e G4 (120 dias em álcool).

Modelo	MAPE	Parâmetros			
		Yo	A1	Xo	T1
Geral	9,6 %	18,748 ^a	1,916 ^{a,b}	0,122 ^{a,b}	0,079 ^{a,b}
G1	16,7 %	16,393 ^a	1,984^a	0,129^a	0,074 ^b
G2	10,3 %	18,847 ^a	1,703 ^b	0,098 ^b	0,060 ^a
G3	2,5 %	19,681 ^a	1,824 ^b	0,111 ^b	0,075 ^b
G4	10,5 %	20,078 ^a	1,804 ^b	0,111 ^b	0,077 ^b

MAPE: erro percentual médio, Yo: média na estabilização da força máxima nos momentos finais do tratamento (N), A1: amplitude ponderada dos valores de Y, Xo: momento de maior taxa de decaimento da força máxima (N), T1: taxa média de decaimento (N momento⁻¹).

Em relação à análise dos dados referente à segunda fase do trabalho, na qual foi fornecido o formulário aos 50 alunos que participaram da disciplina de Técnica Cirúrgica, do Curso de Graduação em Medicina Veterinária da FCAV – UNESP – Jaboticabal, utilizando-se dos cadáveres submetidos à nova técnica anatômica de preparo, sendo a média geral obtida quanto à resistência e maleabilidade foi de 7,39 com desvio padrão geral de 1,45, sendo estes aspectos caracterizados como bom pelos alunos (Tabela 12).

Tabela 12 – Média e desvio padrão referente ao formulário apresentado aos 50 alunos da disciplina de técnica cirúrgica de pequenos animais da FCAV-UNESP Câmpus de Jaboticabal, referente ao uso de cadáveres de cães fixados por 30 dias em álcool etílico e conservados por 30 dias em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%. Os Valores sugeridos variaram de 1 (péssimo) a 10 (excelente).

	Média	Desvio padrão
Resistência da pele quanto à incisão/sutura	7,32	1,63
Resistência da musculatura quanto à incisão/sutura	7,43	1,65
Resistência do estômago quanto à incisão/sutura	7,41	1,55
Resistência do intestino quanto à incisão/sutura	7,47	1,25
Resistência da bexiga urinária quanto à incisão/sutura	7,42	1,35
Maleabilidade dos Intestinos	7,61	1,27
Maleabilidade do Baço	7,17	1,40
Maleabilidade do Fígado	7,25	1,46
Média geral	7,39	1,45

1. Antes deste procedimento cirúrgico começar, você era a favor ou contra o uso de cadáveres no ensino da técnica cirúrgica?
 - a) **75,67%** a favor
 - b) 24,33% contra
2. Você mudou sua opinião?
 - a) 13,52% sim
 - b) **84,48%** não
3. Que tipo de aula você prefere?
 - a) 18,92% a favor de aulas com animais vivos, eutanasiados após a aula
 - b) **81,08%** a favor do Treinamento inicial em cadáveres quimicamente conservados, seguido por aulas incluindo animais do Hospital Veterinário e que vieram para uma cirurgia eletiva, por exemplo, orquiectomia ou ovariossalpingohisterectomia

A maioria dos alunos foi a favor da utilização de cadáveres no ensino de técnica cirúrgica, não havendo mudança de opinião após o procedimento. A maioria também foi a favor do treinamento inicial em cadáveres quimicamente preservados, seguido por utilização de animais que vierem a ser submetidos a cirurgias eletivas no Hospital Veterinário da FCAV – UNESP Câmpus de Jaboticabal.

6 DISCUSSÃO

O AE mostrou-se eficiente como fixador de cadáveres de cães, permitindo boa conservação e evitando deterioração do material, corroborando com Rodrigues (2010). Ainda, álcoois utilizados na fixação de cadáveres humanos por período de 6 meses a 1 ano deixaram a qualidade tecidual similar àquela do tecido fresco (GOYRI-O'NEILL et al., 2013), semelhantemente ao observado em nossos resultados, a ANOVA evidenciou que não houve diferenças entre tratamentos e momentos, pois o valor P foi sempre maior que 0,05. Assim, não há um tempo específico e que seja melhor para fixação alcoólica entre os avaliados (30, 60, 90 ou 120 dias), e que demonstre maior similaridade biomecânica em relação aos cadáveres frescos, não alterando suas propriedades biomecânicas em período de até 120 dias de fixação, e nem, também, após conservação por até 120 dias em SACS a 30%. Sugere-se, então, o menor tempo avaliado (30 dias – G1) como mais indicado para preparo dos cadáveres visando práticas cirúrgicas cutâneas, devido à rapidez de preparo e ao menor risco ocupacional que confere (o álcool é inflamável).

A SACS a 30% mostrou-se extremamente eficiente na conservação dos tecidos fixados, como descrito por Oliveira (2014), não sendo observada contaminação aparente durante o período analisado, similarmente ao descrito em pericárdio canino por um período mínimo de 90 dias em solução hipersaturada de cloreto de sódio (BRUN et al., 2002) e, que conservaram centro frênico canino de cães em glicerina (BRUN et al., 2004a), ambos para fins cirúrgicos.

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). Diversas concentrações de fixadores e conservantes na preservação de espécimes anatômicos já foram avaliadas e a utilização de solução de cloreto de sódio em concentração abaixo de 20% apresentou-se falha na preservação de peças para a utilização na dissecação tecidual (FRIKER et al., 2007), diferentemente do observado em nosso estudo, no qual a SACS a 30% mostrou-se efetiva para conservação de cadáveres inteiros de cães por um semestre, além de proporcionar boa maleabilidade à manipulação tecidual. A análise estatística de modelagem evidenciou a estabilidade dos dados obtidos, promovida pela SACS 30% como conservante tecidual em até 120 dias de análises das amostras de pele e jejuno.

Com o uso da solução salina na conservação dos cadáveres após a fixação etílica, não houve geração de efluentes contaminados, comumente observados quando são utilizados conservantes tóxicos (WHO, 1991), nem a produção de odores prejudiciais à saúde como aqueles liberados pelo formaldeído (CURY et al., 2013). Além disso, a apropriada gestão de resíduos deste agente é de alto custo financeiro e ambiental, sendo necessária a busca por alternativas de baixo custo e que não apresentem riscos (JANCZYK et al., 2011).

Cadáveres preparados quimicamente para prática anatômica de dissecação foram descritos como de melhor qualidade quando era realizada incisão na linha alba (da cartilagem xifoide até a sínfise púbica, para que o conservante adentrasse a cavidade e perfundisse melhor os tecidos) ao invés de não se abrir a cavidade abdominal. Foi-se, sugerido, entretanto, que a abertura cavitária fosse conduzida pelo flanco direito, visando-se a preservação da linha alba (JANCZYK et al., 2011). Em nosso experimento, similarmente, foi realizada incisão paracostal direita (após a 13ª costela) para preservação da linha alba nos cadáveres utilizados nas aulas de técnica cirúrgica, o que foi fundamental para a realização da laparotomia mediana, deixando os tecidos com boa maleabilidade e resistência. Entretanto, realizou-se uma incisão na

linha alba desde a cartilagem xifóide até a sínfise púbica nos animais que foram submetidos à primeira fase do experimento (testes de tração), visando-se, justamente, a melhor perfusão tecidual.

Young et al. (2002) mensuraram os parâmetros biofísicos da pele em relação a raça, idade e gênero, de forma não invasiva, de 32 cães (16 Beagles, 8 Fox Terriers, 4 Labradores e 4 Manchester Terriers), com idade entre 2 a 14 anos. Após avaliação estatística dos resultados e concluíram não haver diferença significativa entre elasticidade e espessura da pele em relação à idade, gênero e peso, corroborando com nossos resultados que demonstraram não haver relação entre idade e peso quanto à força máxima de ruptura das amostras de pele.

Em cães, colopexias incisionais foram realizadas por cirurgia laparoscópica (peso médio corporal de $12,0 \pm 6,8$ kg) ou por celiotomia (peso médio corporal de $7,0 \pm 4,2$ kg) e coletadas amostras *ex-vivo* do cólon e submetidas ao teste biomecânico de tração visando-se detectar diferenças na cicatrização. Não houve diferenças entre as fibras de colágeno na avaliação histológica e a análise estatística das forças de ruptura do cólon revelou não haver diferença significativa entre os grupos (BRUN et al., 2004b), similarmente ao observado neste trabalho, o qual constatou não haver diferença estatística significativa e correlação entre a força máxima de ruptura das amostras de jejuno em relação ao peso dos animais.

Alterações teciduais em animais já foram observadas quando o agente fixador foi o formaldeído, o qual causou um 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 a e b), em testes biomecânicos de cisalhamento. Quando se utilizou o AE como fixador também ocorreu 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, no observado neste experimento, as forças máximas de ruptura no teste de tração de pele (média de 142,1 N) e jejuno (média de 20,2 N) de cadáveres de cães fixados em AE não apresentaram grande variação em relação à força máxima de

ruptura da pele ($131,3 \pm 75,6$ N) e jejuno ($27,6 \pm 17,5$ N) do grupo controle, de cadáveres não-fixados.

Procedimentos convencionais de fixação de cadáveres utilizando principalmente o formaldeído para a conservação são de uso limitado para a prática de procedimentos cirúrgicos devido à profunda alteração na coloração, resistência e fragilidade de órgãos e tecidos. Modelos anatômicos artificiais podem ser utilizados por várias vezes, diferentemente de cadáveres (GROSCURTH et al., 2001). Entretanto, neste trabalho, cada cadáver preparado quimicamente, e sem o uso do formaldeído, pode ser utilizado ao longo de todo o semestre acadêmico dos graduandos em Medicina Veterinária, e para o treinamento de diversas técnicas cirúrgicas, além de proporcionar boa maciez e maleabilidade tecidual.

A utilização de cadáveres quimicamente preparados para o treinamento cirúrgico por graduandos do curso de Medicina Veterinária se enquadra perfeitamente no proposto pela lei Arouca (n.11.794), ou seja, envolve métodos alternativos e éticos para o ensino. O treinamento cirúrgico em cadáveres quimicamente preparados diminuiu custos e proporcionou repetitividade do exercício. Além disso, houve boa receptividade dos graduandos mediante o treinamento cirúrgico em cadáveres quimicamente preparados, com boa satisfação do aluno, como descrito na literatura (KNIGHT, 2007). Esta é uma tendência mundial, e atualmente, quase todas as universidades do Canadá e Estados Unidos possuem métodos alternativos para minimizar o uso de animais vivos para o treinamento dos alunos, evitando que milhares de cães sejam submetidos à eutanásia, como os 16.655 animais do período de 1983 a 1984 (BALCOMBE, 2000).

Em relação ao formulário apresentado aos 50 alunos da disciplina de Técnica Cirúrgica de Pequenos Animais da FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, houve aprovação de 75,67% dos discentes quanto à utilização de cadáveres quimicamente preservados no ensino da cirurgia, e 81,08% 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 ao reportado por Silva, Matera e Ribeiro (2003), que descreveram a preferência majoritária dos alunos (93,29%) em realizar o treinamento cirúrgico nestas duas fases, o que confirma a necessidade da criação e

aprimoramento de novos métodos alternativos de ensino na disciplina de técnica operatória.

Assim, a técnica utilizada satisfaz a necessidade de preservação dos cadáveres por longo período (até 8 meses), de forma realista e que serviu também para fins cirúrgicos, como desejado por Balta et al. (2015), que enfatizam o desenvolvimento de novos protocolos que auxiliarão os anatomistas na preparação de cadáveres quimicamente preservados, suprimindo com qualidade esta nova demanda, beneficiando também os testes de novos equipamentos radiográficos, de cirurgia minimamente invasiva e encorajando mais a ciência experimental.

7 CONCLUSÕES

Mediante a realização deste estudo, concluiu-se que:

- a técnica anatômica utilizada mostrou-se eficiente tanto na fixação quanto na conservação dos cadáveres de cães por até 8 meses;
- não houve correlação entre o peso e a força máxima de ruptura e a idade e a força máxima de ruptura de pele e jejuno, em diferentes momentos de fixação em AE e conservação em SACS 30%;
- o momento ideal para a interrupção da fixação de cadáveres de cães em AE é 30 dias, visando o ensino da técnica cirúrgica, devido à maior semelhança à resistência tecidual em relação a cadáveres frescos;
- houve grande aprovação (75,67%) dos alunos do Curso de Graduação em Medicina Veterinária da FCAV – UNESP – Jaboticabal quanto a utilização de cadáveres de cães submetidos à técnica anatômica de fixação em AE e SACS 30%, no ensino da disciplina de Técnica Cirúrgica, quanto à maleabilidade dos intestinos, baço e fígado e à resistência tecidual à incisão/sutura (pele, musculatura, estômago, intestino e bexiga urinária) .

8 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.

BALTA, J. Y.; CRONIN, M.; CRYAN, J. F.; O'MAHONY, S. M. Human Preservation Techniques in Anatomy: A 21st Century Medical Education Perspective. **Clinical Anatomy**, n. 28, p. 725-734, 2015.

BRASIL. Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009. Dispõe sobre a composição do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, e estabelece as normas para seu funcionamento e de sua Secretaria Executiva, cria o Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais - CIUCA, mediante a regulamentação da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, que dispõe sobre procedimentos para o uso científico de animais, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. 16 de julho 2009; (134): Seção 1; p. 2-5.

* Segundo Normas da ABNT, 2002.

BRASIL. Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais. **Diário Oficial da União**, 9 de outubro de 2008; (196): Seção 1; p. 1-4.

BRUN, M. V.; PIPPI, N. L.; DREIMEIER, D.; CONTESINI, E. A.; BECK, C. A. C.; CUNHA, O.; PINTO FILHO, S. L.; 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**, v. 32, p. 1019-1025, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782002000600016&lng=en&nrm=iso>.

BRUN, M. V.; PIPPI, N. L.; DRIEMEIER, D.; CONTESINI, E. A.; BECK, C. A. C.; CUNHA, O.; PINTO FILHO, S. L.; ROEHSIG, C.; STEDILE, R.; SILVA, T. F. Solução hipersaturada de sal ou de glicerina a 98% como conservantes de centros frênicos caninos utilizados na reparação de defeitos musculares em ratos Wistar. **Ciência Rural**, v. 34, p. 147-153, 2004a. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782004000100022&lng=en&nrm=iso>.

BRUN, M.V.; PIPPI, N.L.; BECK, C.A.C.; CONTESINI, E.A.; CHAVES, E.; PEREIRA, R.A.; STEDILE, R.; GOMES, K.; SCHENTTINI, B.R.; ROCHA, F.; BONFADA, A.T.; COLUMÉ, L.M.; JUNIOR, A.R.P.V. Resistência à tração de colopexias incisionais realizadas por cirurgia laparoscópica ou celiotomia em cães. **Ciência Rural**, v. 34, n. 3, 2004b.

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.

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

CURY, F. S.; CENSONI, J. B.; AMBRÓSIO, C. E. Técnicas anatômicas no ensino da prática de anatomia animal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 5, n. 33, p. 688-696, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2013000500022&lng=en&nrm=iso>.

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

FRIKER, J., ZEILER, E., McDANIEL, B.J., From formalin to salt. Development and introduction on a salt-based preserving solution for macroscopic anatomic specimens. **Tierärztl. Praxis**. v. 35, p. 243–248, 2007.

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, 2012a.

GUASTALLI, B. H. L.; NUNES, T. C.; GAMÓN, T. H. M.; DO CARMO, L. G.; OLIVEIRA, F. S.; DEL QUIQUI, E. M. Quantificação do enrijecimento muscular de peito de frango causado por formaldeído. **Biotemas**, v. 25, p. 195-197, 2012b.

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>>.

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.

GROSCURTH, P.; EGGLI, P.; KAPFHAMMER, J.; RAGER, G. J.; HORNING, P.; FASEL, J.D.H. Gross Anatomy in the Surgical Curriculum in Switzerland: Improved Cadaver Preservation, Anatomical Models, and Course Development. **The Anatomical Record (New Anat.)** Wiley-Liss, Inc. n. 265, p. 254–256, 2001.

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.

JANCZYK, P.; WEIGNER, P.; LUEBKE-BECKERB, A.; KAESSMEYER, S.; PLENDLA, J. Nitrite pickling salt as an alternative to formaldehyde for embalming in veterinary anatomy - A study based on histo- and microbiological analyses. **Annals of Anatomy**. n. 193, p. 71–75, 2011.

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.

KIRPENSTEIJN, J.; HAAR, G. Reconstructive Surgery and Wound Management of the Dog and Cat. **Manson Publishing Ltd.** London UK. 2013. p.12.

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, 2011. p. 1-6.

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.

MENEZES, C.L.M. Preservação de cadáver de coelho (*Oryctolagus cuniculus*) com a solução de Larssen modificada para treinamento em cirurgia videolaparoscópica. Dissertação (Mestre em Ciências Veterinárias na área de Morfologia, Cirurgia e Patologia Animal). **Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Faculdade de Veterinária - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias**. 82f. 2012.

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.

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.

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

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.

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.

SAMPAIO, F.J.B. **Estudo do crescimento do rim humano durante o período fetal**. 1989. p.102. Tese (Doutorado em Morfologia), Escola Paulista de Medicina, São Paulo. 1989.

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

SILVA, R. M. G.; MATERA, J. M.; RIBEIRO, A. A. C. M. Avaliação de Ensino da Técnica Cirúrgica Utilizando Cadáveres Quimicamente Preservados. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**, v. 6, n. 1/3, p. 95-102, 2003.

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.

RODRIGUES, H. **Técnicas Anatômicas**. 2ª ed. Arte Visual, Vitória, ES. 1998. p. 222.

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

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

YOUNG, L.A.; DODGE, J.C.; GUEST, K.J.; CLINE, J.L.; KERR, W.W. Age, Breed, Sex and Period Effects on Skin Biophysical Parameters for Dogs Fed Canned Dog Food. **American Society for Nutritional Sciences**. n. 132, p. 1695S–1697S. 2002.