

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

**ANÁLISE BIOMECÂNICA ÓSSEA E TENDÍNEA DE**  
**CADÁVERES DE CÃES PREPARADOS QUIMICAMENTE**  
**VISANDO AO ENSINO E PESQUISA DA ORTOPEDIA**  
**VETERINÁRIA**

**Thiago André Salvitti de Sá Rocha**

Médico Veterinário

2020

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

**ANÁLISE BIOMECÂNICA ÓSSEA E TENDÍNEA DE**  
**CADÁVERES DE CÃES PREPARADOS QUIMICAMENTE**  
**VISANDO AO ENSINO E PESQUISA DA ORTOPEDIA**  
**VETERINÁRIA**

**Orientado Thiago André Salvitti de Sá Rocha**

**Orientador: Prof. Dr. Fabrício Singaretti de Oliveira**

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

**2020**

R672a

Rocha, Thiago André Salvitti de Sá

Análise biomecânica óssea e tendínea de cadáveres de cães preparados quimicamente visando ao ensino e pesquisa da ortopedia veterinária / Thiago André Salvitti de Sá Rocha. -- Jaboticabal, 2020  
63 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal  
Orientador: Fabrício Singaretti de Oliveira

1. Medicina veterinária. 2. Cirurgia veterinária. 3. Ortopedia. 4.  
Anatomia veterinária. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

# CERTIFICADO DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ANÁLISE BIOMECÂNICA ÓSSEA E TENDÍNEA DE CADÁVERES DE CÃES PREPARADOS QUIMICAMENTE VISANDO O ENSINO E PESQUISA DA ORTOPEDIA VETERINÁRIA

AUTOR: THIAGO ANDRÉ SALVITI DE SÁ ROCHA  
ORIENTADOR: FABRÍCIO SINGARETTI DE OLIVEIRA

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

Prof. Dr. FABRÍCIO SINGARETTI DE OLIVEIRA  
Depto. de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV - UNESP

Profa. Dra. PAOLY CASTRO MORAES  
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / UNESP / FCAV - Jaboticabal

Prof. Dr. LEANDRO LUÍS MARTINS  
Departamento de Anatomia / Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. MARCO AUSTO MACHADO SILVA  
Departamento de Medicina Veterinária / Universidade Federal de Goiás - Goiânia

Prof. Dr. BRUNO CESAR SCHIMMING  
Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / Instituto de Biociências - UNESP - Botucatu/SP

Jaboticabal, 09 de junho de 2020

## **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. Cursou o Programa de Aprimoramento Profissional (Residência) em Medicina Veterinária na área de Clínica Cirúrgica e Anestesiologia de Pequenos Animais nos anos de 2006 a 2008, no Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da FCAV – UNESP Câmpus de Jaboticabal – SP. De 2008 a 2014, exerceu atividades de cirurgião autônomo com ênfase em Neurocirurgia e Ortopedia 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, concluindo-o em 2016 e sequencialmente ingressou no Programa de Doutorado em Cirurgia Veterinária. Em 2017 fundou a microempresa VetCraft 3D – Soluções e Inovações em Cirurgia Veterinária. Em 2018, iniciou docência nas disciplinas de Técnica Cirúrgica, Patologia Cirúrgica e Anestesiologia Veterinária na Universidade Brasil, Câmpus de Descalvado, SP, até o presente momento.

**À minha família e amigos, 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 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 amigo, **Prof. Dr. Luis Gustavo Gosuen Gonçalves Dias**, por todos esses anos de amizade, balizamento, ensinamentos e confiança.

Aos Docentes do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, **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 **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ)** por conceder a bolsa de estudos.

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

Aos funcionários do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” dos setores de enfermagem, limpeza, farmácia, esterilização, laboratório, radiologia e recepção.

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". Vocês são minha segunda família.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>RESUMO</b> .....	xi
<b>ABSTRACT</b> .....	xii
<b>LISTA DE ABREVIACÕES</b> .....	xiii
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	xv
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xvii
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	18
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	18
2.1 Fixadores e Conservantes em Anatomia.....	18
2.2 Conservantes na Indústria Alimentícia.....	22
2.3 Análise Biomecânica de Tecidos de Animais.....	24
2.4 A Utilização de Cadáveres em Pesquisas e Atividades de Ensino.....	25
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	28
3.1 Objetivo Geral.....	28
3.2 Objetivos Específicos.....	28
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	29
4.1 Os Animais.....	29
4.2 A Técnica Anatômica Empregada.....	30
4.3 Análise Quanto ao Aspecto da Coloração da Medula Óssea.....	33
4.4 Análise Quanto à Resistência dos Tecidos.....	34
4.5 Análise Estatística.....	37
<b>5. RESULTADOS</b> .....	38
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	49
<b>7. CONCLUSÃO</b> .....	54
<b>8. REFERÊNCIAS</b> .....	55

## CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"**  
 Câmpus de Jaboticabal



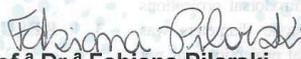
### CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

### CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **“Cadáveres de cães e gatos quimicamente preparados mediante emprego de diferentes soluções fixadoras/conservadoras”**, protocolo nº 004593/19, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Fabricio Singaretti de Oliveira, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 11 de abril de 2019.

Vigência do Projeto	20/04/2019 a 10/04/2021
Espécie / Linhagem	Canino/ SRD; Gatos/ SRD (cadáveres)
Nº de animais	40
Peso / Idade	3 a 15 kg
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	Centro de controle de Zoonoses de Ribeirão Preto, SP (processo 02.2014/000027-1, já aprovado pelo Departamento Jurídico Municipal).

Jaboticabal, 11 de abril de 2019.

  
**Prof.ª Dr.ª Fabiana Pilarski**  
**Coordenadora – CEUA**

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias  
 Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal/ SP - Brasil  
 tel 16 3209 7100 www.fcav.unesp.br

## **ANÁLISE BIOMECÂNICA ÓSSEA E TENDÍNEA DE CADÁVERES DE CÃES PREPARADOS QUIMICAMENTE VISANDO AO ENSINO E PESQUISA DA ORTOPEDIA VETERINÁRIA**

**RESUMO** - Para que não ocorra deterioração dos tecidos, as peças anatômicas devem ser fixadas, mantendo os tecidos firmes e protegidos. O formaldeído é o fixador e conservante mais utilizado, porém extremamente tóxico. Estudos atuais visam utilizar soluções alternativas ao formaldeído, e empregam a glicerina, solução de Larssen, de Larssen modificada, de Laskowski, entre outras, visando ao ensino. Objetivou-se, com este trabalho, avaliar por meio de ensaio biomecânico, a fixação de cadáveres de cães com solução de álcool glicerinado e de sal de cura para utilização no ensino e pesquisa da ortopedia veterinária. Foram estabelecidos 5 grupos (10 animais cada): G0 (controle/fresco) G30 (30 dias de conservação), G60 (60 dias conservação), G90 (90 dias conservação) e G120 (120 dias conservação). Exceto o G0, todos os demais grupos foram conservados sob refrigeração após a fixação. Foram avaliados ambos antímeros do úmero, rádio, ulna, fêmur e tibia por meio de ensaio biomecânico de cisalhamento em três pontos e teste de tração do tendão calcâneo comum, além de avaliação qualitativa da coloração da medula óssea, visando identificar qual grupo apresentava qualidade tecidual mais próxima ao G0. A análise estatística das médias da força máxima de ruptura dos ossos longos e tendão calcâneo comum não apresentou diferença significativa, evidenciando ausência de alteração na qualidade tecidual durante quatro meses de conservação. A análise estatística dos dados qualitativos demonstrou tempo de conservação ideal da medula óssea de 30 a 60 dias. A técnica anatômica empregada, para o preparo de cadáveres de cães, satisfaz a necessidade de conservação, sem alteração significativa das propriedades biomecânicas de ossos longos e tendão calcâneo comum por considerável período de tempo (até quatro meses), e aspecto satisfatório da coloração da medula óssea por até 60 dias.

**Palavras-chave:** anatomia, biomecânica, conservação de cadáveres, ortopedia, osso, tendão.

**BONE AND TENDON BIOMECHANICAL ANALYSIS OF CHEMICALLY  
PREPARED DOGS FOR TEACHING AND RESEARCH IN VETERINARY  
ORTHOPEDY**

**ABSTRACT** -In order to avoid tissue deterioration, anatomical specimens must be fixed, because this keeps tissues firm and protected. Formaldehyde is the most commonly fixative and preservative solution used, but it is harmful to health. Current studies apply alternative solutions to formaldehyde and use glycerin, the Larssen solution, the modified Larssen solution, the Laskowski's, among others for the teaching. The aim of this research was to analyze the fixation of dogs' corpses with glycerinated alcohol and curing salt for the veterinary orthopedic teaching. Five groups were established (10 animals each): G0 (control/fresh), G30 (30 days of conservation) G60 (60 days), G90 (90 days), G120 (120 days). Both antimeres of humerus, radius, ulna, femur, tibia and the common calcaneal tendon were analyzed by 3-point shear biomechanical assay, traction test, besides qualitative evaluation of bone marrow staining, aiming identification of the group with best tissue quality and close to G0. The maximum rupture force in long bones and the common calcaneus tendon did not present significant difference, demonstrating there was no tissue alteration during conservation (four months). The qualitative data demonstrated a 30 to 60 day-time as the ideal for conservation of bone marrow. The anatomical technique applied did satisfy the conservation, with no significant changes in long bones' and common calcaneus tendon's biomechanical properties for a considerable time (up to four months), besides a satisfactory bone marrow aspect even after 60 days of conservation.

**Keywords:** anatomy, biomechanics, bone, cadaver conservation, orthopedy, tendon.

**LISTA DE ABREVIações**

°C.....	Grau Celsius
AE.....	Antímero Esquerdo
AEG.....	Álcool etílico glicerinado
AIQ.....	Amplitude interquartil
AD.....	Antímero direito
CEUA.....	Comissão de Ética no Uso de Animais
CCd.....	Crânio-caudal
Comp.....	Comprimento
CV%.....	Coefficiente de variância
DP.....	Desvio padrão
FCAV.....	Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
FMR.....	Força máxima de ruptura
kg.....	Quilogramas
L.....	Litro
LL.....	Látero-lateral
m.....	Média
mL.....	Mililitro
mm.....	Milímetros
MO.....	Medula óssea

MPa.....Milipascal

N.....Newtons

n.....Número de amostras

p.....Significância

SC.....Sal de cura

## LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1	Grupos de cadáveres de cães submetidos ao processo de fixação com álcool etílico glicerinado e conservação com sal de cura nos diferentes tempos em refrigerador horizontal a 4-6 °C. O Grupo G0 (controle) foi utilizado ainda fresco, não sendo submetido à técnica anatômica de fixação e conservação.....	31
Tabela 2	Avaliação estatística da significância entre antímeros direito (AD) e esquerdo (AE) referente às mensurações da linha média óssea de cadáveres de cães submetidos a processo de fixação com álcool etílico glicerinado e conservação com sal de cura.....	39
Tabela 3	Avaliação da média geral das mensurações dos ossos longos de cadáveres de cães referente aos diferentes grupos (tempos de conservação), submetidos a processo de fixação com álcool etílico e conservação com sal de cura.....	41
Tabela 4	Análise da significância ( $p \leq 0,05$ ) em relação à força de ruptura máxima dos ossos e tendões calcâneos comuns referente aos antímeros direito e esquerdo dos membros de cadáveres de cães submetidos à processo de fixação com álcool etílico glicerinado e conservação com sal de cura.....	42
Tabela 5	Valores de significância ( $p \leq 0,05$ ) de todas as variáveis dos ossos longos e tendões calcâneo comum, em relação aos gêneros dos cadáveres dos cães submetidos à processo de fixação com álcool etílico glicerinado e conservação com sal de cura.....	43

Tabela 6	Média (m) da força máxima de ruptura (FMR) em newtons (N), desvio padrão (DP), coeficiente de variância (CV%) e significância ( $p \leq 0,05$ ), referentes aos tempos de conservação de ossos longos e tendões calcâneo comum de cadáveres de cães fixados com álcool etílico glicerinado e conservados com sal de cura, submetidos a ensaio biomecânico.....	44
Tabela 7	Análise da significância ( $p \leq 0,05$ ), relativa ao gênero e aspecto da medula óssea (MO) de ossos longos de cadáveres de cães fixados com álcool etílico glicerinado e conservados com sal de cura, submetidos a ensaio biomecânico.....	46
Tabela 8	Análise da significância ( $p \leq 0,05$ ), relativa ao aspecto da medula óssea (MO) de ossos longos e lados direito e esquerdo, de cadáveres de cães fixados com álcool etílico glicerinado e conservados com sal de cura, submetidos à ensaio biomecânico...	47
Tabela 9	Análise das variáveis qualitativas do aspecto da coloração da medula óssea, geradas pela análise de dois observadores submetidas ao teste de Dunn para determinar qual o momento referente ao aspecto em relação ao tempo de conservação de cadáveres de cães fixados com álcool etílico glicerinado e conservados com sal de cura, submetidos a ensaio biomecânico...	48

**LISTA DE FIGURAS**

	Página
Figura 1	Imagem fotográfica demonstrando o acesso cervical ventral (seta amarela) para canulação da artéria carótida comum e infusão das soluções de fixação e conservação por meio de seringa de 60 mL..... 30
Figura 2	Figura ilustrativa das estruturas anatômicas que compõe o tendão calcâneo comum. A figura geométrica em vermelho delimita o segmento da amostra coletada do tendão calcâneo comum, juntamente com o osso calcâneo (Modificado de Evans e De Lahunta, 2013)..... 32
Figura 3	Imagem fotográfica do fêmur de cadáver de cão fixado com álcool etílico glicerinado e conservado com sal de cura por 30 dias, submetido a ensaio biomecânico de cisalhamento em 3 pontos, na linha média diafisária. Notar a coloração vívida da medula óssea conservada (seta azul) ..... 33
Figura 4	Imagem fotográfica demonstrando a mensuração do vão livre padrão de 25 mm (tracejado em vermelho) da cisalha da máquina de ensaio universal para teste de compressão óssea em três pontos..... 35
Figura 5	Imagem fotográfica demonstrando a mensuração do padrão de 60 mm de vão livre entre as colunas da máquina de ensaio universal para teste de flexão em três pontos..... 35

- Figura 6 Imagem fotográfica do posicionamento horizontal da amostra de osso longo de cadáver de cão, sobre as colunas do aparato de ensaio de cisalhamento em três pontos (asterisco branco) com o ponto médio do seu comprimento (seta amarela) centralizado no vão entre as colunas para evolução da cisalha (seta vermelha).... 36
- Figura 7 Imagem fotográfica demonstrando o posicionamento do tendão calcâneo comum (seta amarela) de cadáver de cão em pinça (A e B) de aço inoxidável acoplada à máquina de ensaio universal, com vão livre de 10 mm (chave amarela). O tendão era coletado de forma a preservar o osso calcâneo (seta branca) e sua origem muscular (seta vermelha) visando boa fixação na máquina..... 45
- Figura 8 Ilustração gráfica da força média de ruptura máxima em newtons (N) dos ossos longos e tendões calcâneos comuns de cadáveres de cães fixados em álcool etílico glicerinado e conservados com sal de cura em diferentes tempos de refrigeração..... 46
- Figura 9: Imagem fotográfica das colorações da medula óssea de cadáveres de cães submetidos a processo de fixação com álcool etílico glicerinado e conservados com sal de cura. A: excelente (coloração mais vívida que de cadáver fresco), B: bom (coloração semelhante a cadáver fresco), C: ruim (coloração escurecida em referência a cadáver fresco), D: péssimo (coloração marrom, pútrido)..... 46
- Figura 10: Imagem ilustrativa dos aspectos qualitativos da medula óssea de cães fixados com álcool etílico glicerinado e sal de cura. Notar que as medianas do grupo de 30 dias de conservação (G30) é menor que as do grupo controle (G0) e que as medianas do grupo de 60 dias de conservação são semelhantes ao G0. As demais medianas (G90 e G120) maiores que G0..... 49



## 1. INTRODUÇÃO

A ortopedia veterinária é um ramo complexo da cirurgia que demanda dedicação, sendo necessário a realização de treinamento para aprendizado, aperfeiçoamento das habilidades e pesquisa, visando a redução de erro cirúrgico. Pelo fato das normativas e leis atuais de bem estar não permitirem a realização de procedimentos em animais vivos, como era realizado antigamente, a maioria destes procedimentos são realizados em cadáveres frescos, que deterioram em curto período de tempo. Este processo de degradação impossibilita a repetitividade de técnicas, quando utilizados no ensino e treinamento da cirurgia ortopédica e inviabiliza a fidedignidade dos dados obtidos na pesquisa. Isto demonstra a necessidade da criação de novas técnicas de fixação e conservação anatômica de cadáveres que preservem a integridade tecidual, mais próxima possível do cadáver fresco, simulando a realidade cirúrgica para discentes, docentes e pesquisadores.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### ***2.1 Fixadores e Conservantes em 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 (Rodrigues, 2010). A boa conservação das peças, além de não permitir a deterioração do material, também evita a proliferação de patógenos que podem causar doenças ocupacionais (Corrêa, 2003).

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, 1995) o classificou como cancerígeno e teratogênico.

Há uma variedade de tipos de soluções fixadoras que são capazes de conservar cadáveres, dentre as 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), sendo que, todas possuem formalina.

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

A solução de Laskowski contém 800 mL de glicerina, 200 mL de etanol, 50 g de ácido fênico e 50 g 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 24 h, antes de cada aula. Com esta solução, os tecidos tornavam-se excessivamente escuros (Silva et al., 2007).

Em pesquisa realizada na Alemanha, Universidade de Berlim, utilizando o sal de cura como alternativa ao uso do formaldeído no ensino da anatomia veterinária, os autores afirmaram que a solução testada preservou com sucesso os cadáveres de cães, sem riscos ambientais e à saúde com baixo custo efetivo. A solução continha 23% de sais de cura, 30% de etanol, 20% de Pluriol® E400 (mistura de polietilenoglicóis) e adicionado 0,1% de óleo de orégano na solução final (Janczyk et al., 2011).

Hayashi et al. (2014) relataram a utilização da solução saturada de sais na preservação de cadáveres humanos voltados ao ensino cirúrgico, no Japão, Universidade de Tóquio. A solução era composta de 20 kg de cloreto de sódio, 1 L de formaldeído a 20%, 0,2 L de fenol, 0,5 L de glicerina, 4 L de álcool isopropílico e 19,3L de água totalizando 25 L de solução. Foram realizados 21 procedimentos ortopédicos, ultrassonografia, cateterização venosa central, cultura bacteriana e fúngica e mensuração da amplitude de movimento das articulações, concluindo-se que o método de preservação apresentou efeito antimicrobiano, preservando a flexibilidade das articulações dos cadáveres e alta qualidade tecidual no quesito maciez e coloração, favorecendo todos os procedimentos realizados.

Werdelmann e Geric (2016) relataram a utilização da solução de sais de cura a 16% como alternativa ao formaldeído para a preservação em longo prazo de peças anatômicas de cães submetidos à dissecação, na Universidade de Ciências *SzentIstván*, da Hungria. Citaram, também, a alta qualidade da maciez e coloração dos tecidos imersos na solução de sais, contrastando com a rigidez e coloração cinzenta promovida pelo formaldeído, concluindo que os sais de cura são um método de baixo custo e seguro para o uso no ensino anatômico.

O modelo atual que mais se aproxima a realidade é o cadáver fresco, porém apresenta miríade de problemas, incluindo a necessidade de congelamento, tempo limitado de trabalho devido à rápida putrefação e risco de infecção. As soluções saturadas de sais constituem métodos simples, com baixo risco de infecções e de baixo custo, contribuindo para ampla utilização de cadáveres preservados para o treinamento cirúrgico. Entretanto, são necessários mais estudos (Hayashi et al., 2016).

Obeve-se sucesso, durante cinco anos, na utilização da solução aquosa de cloreto de sódio 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 em centro frênico de cães (Brun et al., 2004), ambos para fins cirúrgicos.

Estudos recentes demonstraram sucesso no uso de soluções contendo álcool e cloreto de sódio em cadáveres de cães e gatos, por meio de análises biomecânicas de tecidos (Cerqueira et al., 2017, Pelogia et al., 2018, Rocha et al., 2018, Fração et al., 2019). Análises microbiológicas das soluções fixadoras/conservadoras demonstraram ausência de contaminações (Pereira et al., 2019). Também foi avaliado o uso destes cadáveres por meio de questionários destinados a alunos de graduação em aulas práticas de cirurgia veterinária e, os resultados demonstraram alto índice de aprovação por parte dos acadêmicos (Rocha et al., 2019).

No Brasil, 75,67% dos estudantes de medicina veterinária da UNESP – FCAV - Câmpus de Jaboticabal aprovaram o uso de cadáveres quimicamente preservados (com álcool etílico na fixação e solução de cloreto de sódio em tanques para

conservação) no ensino de cirurgia e 81,08% eram a favor do treinamento cirúrgico inicial em cadáveres, seguido de prática em animais submetidos à cirurgia eletiva no Hospital Veterinário da mesma instituição (Rocha et al., 2019).

Em outro estudo, houve 93,29% de aceitação dos alunos a favor do método de ensino prático em cirurgia veterinária com cadáveres de cães quimicamente preparados (Silva et al., 2003).

Em gatos preparados quimicamente (com sal de cura e álcool etílico), a análise estatística dos dados obtidos por meio de formulários respondidos por alunos de graduação, após prática cirúrgica, não apontou diferença quando comparados aos cadáveres frescos durante teste de incisão cirúrgica da pele com bisturi ( $p = 0,8055$ ) ou mesmo na sutura ( $p = 0,5022$ ) (Fração et al., 2019).

Em estudo com cadáveres de cães quimicamente preparados (com álcool etílico na fixação), foi realizado a sutura com auxílio de microscópio cirúrgico da veia jugular externa e artéria carótida comum, de um antímero, antes da fixação (cadáveres frescos) gerando escores de 5.0 (0 a 5 referente à resistência) para ambos os vasos. Após a fixação, os escores foram 4.0 e 4.5 respectivamente. Posteriormente, os cães foram conservados em tanques com solução de cloreto de sódio e os escores na sutura foram 3,5 para ambos os vasos demonstrando aumento da maleabilidade tecidual após o uso da solução de cloreto de sódio (Cerqueira et al., 2017; Pelogia et al., 2018).

## **2.2 Conservantes na Indústria Alimentícia**

O processo de cura de produtos cárneos constitui prática tradicional na indústria de alimentos. Basicamente, o processo consiste na aplicação, por meio de

diversas técnicas, de nitrito, nitrato, cloreto de sódio e açúcar às carnes. Estes componentes, por ação combinada, exercem efeito pronunciado nas características e estabilidade dos produtos cárneos. Destes compostos, os nitritos merecem destaque especial, sendo a eles atribuídas três funções principais: estabilização da cor vermelha típica, melhoria das características organolépticas e principalmente a inibição do desenvolvimento de *Clostridium botulinum* (Leitão, 1978).

Tanto nitritos quanto nitratos são sais de cura largamente utilizados como aditivos pela indústria alimentícia, principalmente pelas indústrias de carne. São classificados como substâncias conservadoras, ou seja, são adicionadas aos alimentos para impedir ou retardar ações microbianas ou enzimáticas e, deste modo, protegem o alimento da deterioração. Além disso, são fixadores de cor (Iamarino et al., 2015). Em determinados casos, a conservação de alimentos, pode ser realizada por processos físicos envolvendo o frio, o calor, a desidratação, entre outros (Iamarino et al., 2015).

A condição de temperatura elevada favorece o desenvolvimento da putrefação profunda, que é produzida na massa muscular interna da carne. A ausência de refrigeração após a morte resulta no desenvolvimento acelerado de bactérias anaeróbias, procedentes do trato intestinal do animal, sobretudo *Clostridium sp* (Ingram, 1972). Considera-se que os primeiros sinais de putrefação aparecem quando o número de *Clostridium perfringens* alcança a contagem de  $10^7$  germes/grama de carne, considerando uma contaminação inicial de  $10^2$  germes/grama de carne. A refrigeração rápida evita estas duplicações fatídicas e a consequente putrefação profunda (Rosset, 1994).

A refrigeração é o método mais utilizado para a conservação da carne e torna-se necessária, por um lado, para minimizar alterações, principalmente a putrefação,

e, por outro, para eliminar os riscos produzidos pelo desenvolvimento de microrganismos patogênicos, responsáveis por toxiinfecções, além de controlar a velocidade com que aparecem as características organolépticas *post mortem* da carne (Rosset, 1994).

### **2.3 Análise Biomecânica de Tecidos de Animais**

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

É crescente o interesse pelas propriedades biomecânicas dos tecidos 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 de ensino (Camargo et al., 2014). 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 provocou aumento da maleabilidade do biomaterial no ato cirúrgico (Leal et al., 2014). Camargo et al. (2014) verificaram melhoria da propriedade tênsil do peritônio de paca conservado em glicerina 98% quando comparado ao fresco, sugerindo sua utilização como mais uma opção de preparo de material biológico para o uso em cirurgias reconstrutivas.

Fessel et al. (2011) investigaram o efeito da solução de Thiel quando utilizada em amostras de tendão flexor digital profundo de humanos, submetidos à ensaios biomecânicos de tração, revelando ruptura precoce das amostras fixadas em relação às amostras frescas congeladas. Os autores relacionaram a ruptura precoce à ação de desnaturação parcial do ácido bórico sobre as fibras de colágeno tendíneo, sugerindo o estudo de novas soluções que preservem as propriedades biomecânicas dos tendões para a utilização no ensino da cirurgia.

Topp et al. (2012), em estudo biomecânico de compressão axial utilizando fêmur fresco congelado em comparativo com amostras do antímero oposto, fixadas quimicamente (solução contendo 96% de etanol e 2% de formaldeído infundido via artéria femoral), concluíram que as amostras apresentaram características mecânicas similares, sugerindo que ossos de cadáveres humanos fixados quimicamente são opção segura para testes mecânicos de dispositivos ortopédicos.

#### ***2.4A Utilização de Cadáveres em Pesquisas e Atividades de Ensino***

Após a criação da lei Arouca (nº 11.794) e o estabelecimento das Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), as quais controlam as atividades de ensino e pesquisas universitárias envolvendo animais, houve necessidade ainda maior da busca por métodos alternativos e éticos para o ensino e pesquisa que envolvam animais.

Cazzarin et al. (2004) ressaltam a tendência mundial para reavaliar a utilização de animais em experimentos, concretizada a partir do programa denominado de 3Rs (Reduction, Refinement, Replacement), criada por Russel e Burch (1959), que objetiva

além de diminuir o número de animais, minimizar a dor, o sofrimento e buscar alternativas para a substituição do uso de animais vivos.

Knight (2007) relata que alternativas éticas, como a utilização de cadáveres, em determinadas situações, promovem maior aprendizado, aumento da eficiência, diminuição de custos, além do potencial de customização e repetitividade do exercício. O aumento da confiança e satisfação do aluno é devido à diminuição do estresse durante o procedimento cirúrgico com cadáveres, desde que a fonte de cadáveres seja ética, onde estes animais sejam eutanasiados por razões médicas, morte natural ou acidentes.

Um 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 por meio 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.

Asma e Eddine (2014) citaram a cirurgia ortopédica como delicada área da cirurgia e que requer do indivíduo, maestria em anatomia topográfica para realizar acessos rápidos às estruturas ósseas, com menor risco de causar danos às estruturas

nervosas e vasculares, sendo fundamental a criação de novos métodos de ensino da cirurgia ortopédica veterinária em cães para aprimoramento individual.

Modelos de ensino utilizando-se de cadáveres humanos é parte histórica da cirurgia. Seu emprego é secular e continua sendo o método de treinamento mais conceituado devido a exposição à real anatomia e suas variações nos indivíduos, além de permitir ao cirurgião em treinamento, apreciar os planos de dissecação e praticar o manuseio real dos tecidos (Stirling et al., 2014).

A utilização de cadáveres de animais no ensino da ortopedia humana é menos onerosa que a utilização de ossos e articulações sintéticos. Além de apresentarem maior fidelidade em determinados procedimentos, particularmente em traumas como aplicação de placas e parafusos em ossos fraturados, nos quais a presença dos tecidos moles aumenta o realismo (Akhtar et al., 2014).

Em estudo realizado com o treinamento de residentes na aplicação da técnica de estabilização de vértebras torácicas com parafusos pediculares em cadáveres humanos, concluiu-se, após avaliação do posicionamento dos implantes por meio de tomografia computadorizada, que houve melhora significativa da acurácia cirúrgica dos residentes devido ao treinamento. Estes resultados demonstraram que o treinamento com cadáveres pode ser utilizado objetivamente para mensurar a evolução das habilidades cirúrgicas dos residentes em ortopedia (Tortolani et al., 2013).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

- Analisar, biomecanicamente, ossos e tendões de cadáveres de cães preparados quimicamente, e o aspecto da medula óssea em diferentes períodos de conservação, visando ao ensino prático e pesquisa da ortopedia veterinária.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Determinar a viabilidade da técnica anatômica de preparo, utilizando álcool etílico 96°GL associado a 5% de glicerina (AEG) como fixador e solução aquosa de sais de cura, constituída de 20% de cloreto de sódio, 1% de nitrito e 1% de nitrato de sódio (SC) como conservantes dos animais voltados ao ensino e pesquisa da ortopedia veterinária;
- Avaliar o aspecto (coloração) da medula óssea (MO), promovida pelo AEG e SC em diferentes períodos de tempo de conservação em refrigeração.
- Mensurar a resistência mecânica de ossos longos e tendões calcâneos comuns de ambos antímeros durante a conservação dos cadáveres em diferentes períodos de tempo de refrigeração.
- Determinar qual o momento do processo de conservação que apresentará maior proximidade da resistência biomecânica dos tecidos avaliados em relação aos cadáveres frescos/sem fixação.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Os Animais

Foram utilizados 50 (cinquenta) cadáveres de cães adultos, machos ou fêmeas, que vieram a óbito por causas que não envolviam alterações morfológicas evidentes, como grandes massas tumorais, traumas lacerantes extensos ou fraturas ósseas. Todos eram provenientes do Centro de Controle de Zoonoses de Ribeirão Preto, SP (processo 02.2014/000027-1 aprovado pelo Departamento Jurídico Municipal) e aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP (processo 4593/19).

Os cadáveres foram congelados (freezer a  $-18^{\circ}\text{C}$ ) logo após o óbito e transportados ao Laboratório de Anatomia Animal da FCAV, UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, localizado a 50 km de distância.

Foram selecionados cães adultos com peso corporal entre 5 a 15 kg, com escore corporal 4 (costelas facilmente palpáveis, pouca cobertura de tecido adiposo; cintura abdominal facilmente notada, quando vista dorsalmente; prega abdominal evidente) ou 5 (costelas palpáveis e sem excesso de cobertura de tecido adiposo; cintura abdominal observada caudalmente às costelas quando vista dorsalmente; prega abdominal evidente quando vista por lado), considerados como escore corporal ideal por Laflamme (1997).

#### **4.2 A Técnica Anatômica Empregada**

Os animais foram descongelados em refrigerador horizontal a 4-6° C durante 24 horas, pesados e distribuídos por meio de sorteio, em grupos de 10 cadáveres cada. O grupo controle foi constituído de cadáveres frescos/sem fixadores. Todas as amostras foram testadas em máquina universal de ensaio, no Laboratório de Anatomia Cirúrgica do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV – UNESP –Jaboticabal SP.

Exceto no grupo controle, em todos os demais cadáveres, após o descongelamento, era realizada dissecação da artéria carótida comum e inserção de cânula para infusão das soluções por meio de seringa de 60 mL (Figura 1).



Figura 1: Imagem fotográfica demonstrando o acesso cervical ventral (seta amarela) para canulação da artéria carótida comum e infusão das soluções de fixação e conservação por meio de seringa de 60 mL.

A fixação foi realizada com utilização de AEG na dosagem de 120 mL por quilograma de peso e sequencialmente, aplicado o conservante de SC, na mesma

dosagem do AEG. Posteriormente, os animais foram separados em 4 grupos, embalados individualmente em sacos plásticos, permanecendo por diferentes tempos de conservação à frio em refrigerador horizontal a 4-6 °C, exceto o grupo controle, que foi utilizado imediatamente para coleta de amostras, ainda fresco sem fixação (Tabela 1).

Tabela 1: Grupos de cadáveres de cães submetidos ao processo de fixação com álcool etílico glicerinado e conservação com sal de cura nos diferentes tempos em refrigerador horizontal a 4-6 °C. O Grupo G0 (controle) foi utilizado ainda fresco, não sendo submetido à técnica anatômica de fixação e conservação.

<b>Grupos</b>	<b>Tempo (dias)</b>
G0 (controle)	0
G30	30
G60	60
G90	90
G120	120

Os ossos longos (úmero, rádio, ulna, fêmur e tíbia), de ambos antímeros, foram removidos da musculatura por meio de incisão cirúrgica (bisturi, tesouras de Mayo, Metzenbaum e pinça anatômica de dissecação com dente de rato), desarticulados e extirpados os tecidos moles remanescentes, de cada grupo, após período de conservação (30, 60, 90 e 120 dias). O tendão calcâneo comum foi seccionado em sua origem muscular e removido conjuntamente com o osso calcâneo por meio de desarticulação, de cada grupo, após período de conservação (30, 60, 90 e 120 dias). Segundo Evans e De Lahunta (2013), este tendão é o agregado das estruturas que são ligadas ao calcâneo. O tendão do músculo gastrocnêmio, o principal componente, é atravessado medialmente pelo tendão do músculo flexor digital superficial, que primeiro se encontra cranialmente ao tendão do m. gastrocnêmio mas atinge sua

superfície caudal no calcâneo. Juntando-se a esses dois tendões estão os tendões do m. bíceps femoral lateralmente e semitendinoso e, grácil medialmente (Figura 2)

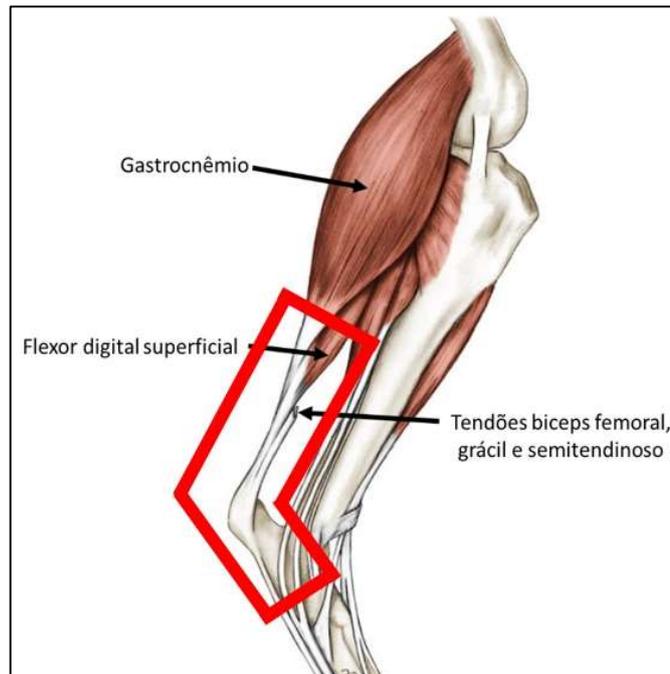


Figura 2: Figura ilustrativa das estruturas anatômicas que compõe o tendão calcâneo comum. A figura geométrica em vermelho delimita o segmento da amostra coletada do tendão calcâneo comum, juntamente com o osso calcâneo (Modificado de Evans e De Lahunta, 2013).

Todas as amostras eram acondicionadas em solução salina 0,9%, à temperatura ambiente durante a realização dos ensaios biomecânicos para evitar desidratação tecidual.

A coleta das amostras do G0 foi realizada imediatamente após o descongelamento dos cães e os demais grupos, ao cumprirem seus respectivos tempos de conservação sob refrigeração, foram expostos à temperatura ambiente e realizada coleta das amostras e ensaios biomecânicos respectivamente.

A mensuração do comprimento dos ossos foi realizada com auxílio de régua milimetrada de 300 mm e o diâmetro craniocaudal e látero-lateral da linha média do osso foi realizado com auxílio de paquímetro digital (MTX, 150 mm). O ponto médio do comprimento do osso foi o local de cisalhamento do ensaio biomecânico de flexão em três pontos.

A mensuração do comprimento e diâmetro do tendão calcâneo comum não foi realizada por tratar-se de tecido mole, o que não permite acurácia dos dados devido alongamento e compressão tecidual.

#### ***4.3 Análise Quanto ao Aspecto da Coloração da Medula Óssea***

A análise do aspecto da coloração da medula óssea (MO) dos ossos longos foi realizado por dois observadores, Médicos Veterinários, por meio macroscópico visual, após a fadiga das amostras durante o ensaio mecânico. Como o grupo controle foi o primeiro a ser avaliado (cadáveres frescos), a observação da medula de seus ossos longos serviu como parâmetro para a classificação utilizada. Assim, a coloração da MO do animal fresco foi considerada como referência e classificada como “boa”. As que apresentaram coloração com aspectos mais vívido que as dos cadáveres frescos foram classificadas como excelente, e aquelas com qualidade inferior, foram classificadas como ruim (coloração escurecida em referência a cadáver fresco) e péssimo (coloração marrom, pútrido) (Figura 3).

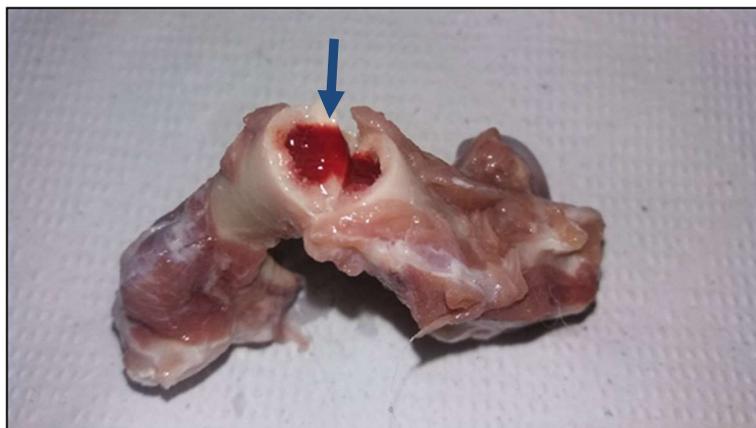


Figura 3: Imagem fotográfica do fêmur de cadáver de cão fixado com álcool etílico glicerinado e conservado com sal de cura por 30 dias, submetido a ensaio biomecânico de cisalhamento em 3 pontos, na linha média diafisária. Notar a coloração vívida da medula óssea conservada (seta azul).

As variáveis qualitativas do aspecto da coloração MO, geradas pela análise dos observadores serão transformadas em escores visando facilitar a interpretação estatística, onde 0 = excelente (coloração da MO mais vívida que de cadáver fresco), 1 = bom (semelhante a coloração de cadáver fresco), 2 = ruim (coloração escurecida em referência a cadáver fresco) e 3 = péssimo (aspecto de podre, coloração marrom), ou seja, quanto menor o valor melhor será o aspecto.

#### **4.4 Análise Quanto à Resistência dos Tecidos**

A avaliação da resistência tecidual foi realizada com a máquina universal de ensaios (EMIC DL 2000®), com célula de carga com capacidade de 20 kN e suporte de acionamento eletromecânico com velocidade configurável de 0,05 a 500 mm/min.

Para a realização do ensaio mecânico das amostras de ossos longos foi realizada a compressão por meio de flexão (cisalhamento) em três pontos com vão livre padronizado de 25 mm da cisalha (Figura 4) e 60 mm entre as colunas (Figura 5).

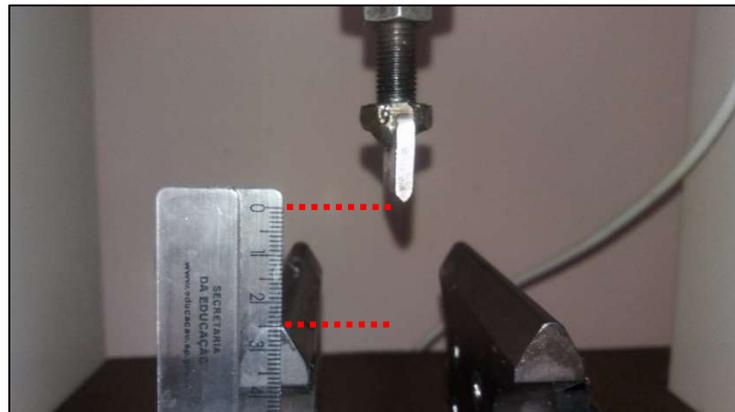


Figura 4: Imagem fotográfica demonstrando a mensuração do vão livre padrão de 25 mm (tracejado em vermelho) da cisalha da máquina de ensaio universal para teste de compressão óssea em três pontos.

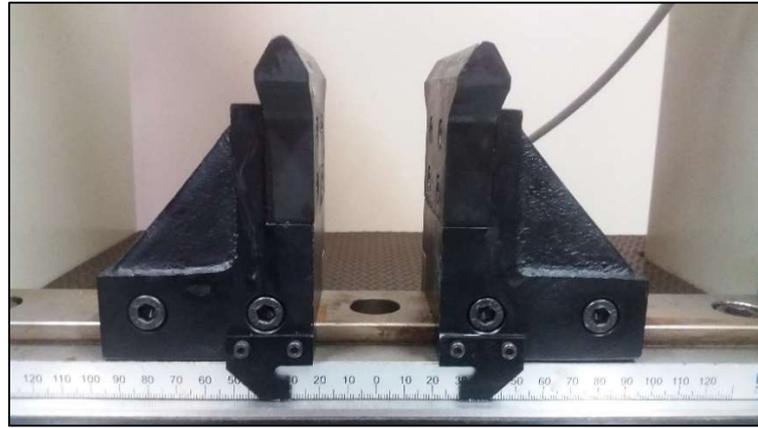


Figura 5: Imagem fotográfica demonstrando a mensuração do padrão de 60 mm de vão livre entre as colunas da máquina de ensaio universal para teste de flexão em três pontos.

Após realizar o posicionamento dos componentes do ensaio de flexão em três pontos, as amostras eram alocadas sobre as colunas horizontalmente, com a face medial repousando sobre colunas da máquina de ensaio universal, articulação proximal voltada à esquerda e posicionado o ponto médio do comprimento ósseo previamente mensurado, centralmente (Figura 6).

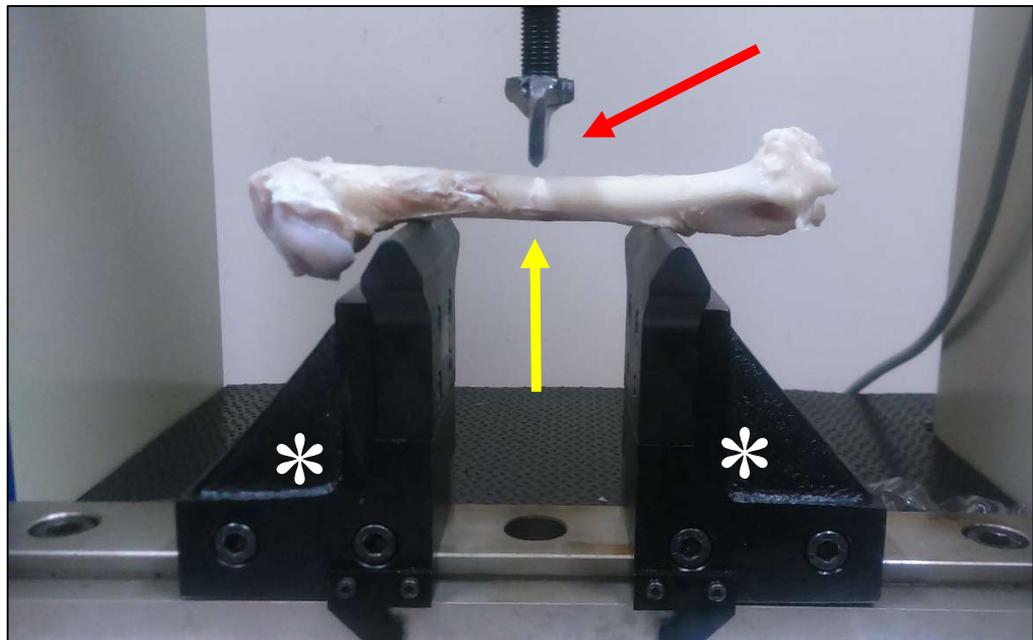


Figura 6: Imagem fotográfica do posicionamento horizontal da amostra de osso longo de cadáver de cão, sobre as colunas do aparato de ensaio de cisalhamento em três pontos (asterisco branco) com o ponto médio do seu comprimento (seta amarela) centralizado no vão entre as colunas para evolução da cisalha (seta vermelha).

Para o ensaio das amostras dos tendões calcâneos comuns, foram acopladas à máquina de ensaio universal, pinças confeccionadas em aço inoxidável para fixação das amostras. O vão livre entre as pinças foi padronizado em 10 mm. As amostras eram posicionadas com o osso calcâneo na pinça superior, com o intuito de melhor fixação, pois esta que realizava o movimento de tração. A pinça inferior era fixa, onde foi fixada a porção tendínea (Figura 7). A tração era realizada até a ruptura total.

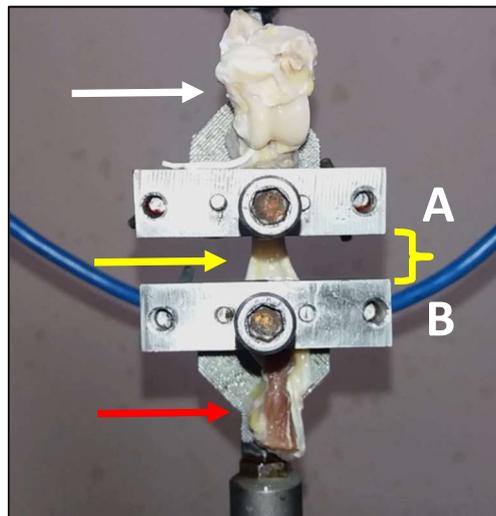


Figura 7: Imagem fotográfica demonstrando o posicionamento do tendão calcâneo comum (seta amarela) de cadáver de cão em pinça (A e B) de aço inoxidável acoplada à máquina de ensaio universal, com vão livre de 10 mm (chave amarela). O tendão era coletado de forma a preservar o osso calcâneo (seta branca) e sua origem muscular (seta vermelha) visando boa fixação na máquina.

#### **4.5 Análise Estatística**

Foi realizada com ajuda do software R<sup>®</sup> v.3.5.1 (R Foundation for Statistical Computing; Vienna, Áustria). Foram comparadas as variáveis quantitativas com relação aos gêneros e antímeros estudados, por meio do teste t-Student (teste de hipótese que usa conceitos estatísticos para rejeitar ou não uma hipótese nula) e as variáveis qualitativas por meio do teste de Mann-Whitney (indicado para comparação de dois grupos não pareados para se verificar se pertencem ou não à mesma população). Subsequentemente, foram testadas a distribuição dos resíduos dos dados

quantitativos pelo teste de Shapiro-Wilk (teste de normalidade, usado para determinar se um conjunto de dados de uma dada variável aleatória, é bem modelada por uma distribuição normal ou não, ou para calcular a probabilidade da variável aleatória subjacente estar normalmente distribuída) e a homocedasticidade (variância constante dos erros experimentais para observações distintas) das variâncias pelo teste de Bartlett (preciso apenas para dados normalmente distribuídos). Os dados quantitativos resultantes, reais ou transformados foram então comparados entre os tempos de armazenamento pela Análise de Variância (ANOVA) considerando um delineamento inteiramente casualizado (DIC) e quando o resultado foi significativo, as médias de cada tempo de armazenamento foram comparadas com o grupo controle pelo pós-teste de Bonferroni (realização de um teste para cada par de médias a uma taxa de erro por comparação), e testados contrastes ortogonais (linear, quadrático e cúbico) para compreender os comportamentos das variáveis em função do tempo.

Os dados qualitativos foram comparados entre os tempos de armazenamento pelo teste de Kruskal-Wallis (quando significativo indica dominância de uma amostra sobre outra) e pós-teste de Dunn (é o mais poderoso e auxilia a analisar os pares específicos de amostras para dominância estocástica, cujo estado é indeterminado, com origem em eventos aleatórios). Também foram testadas as relações existentes entre as variáveis mensuradas, parâmetros clínicos e características dos animais pelo teste de correlação de Spearman (coeficiente de correlação não paramétrica de postos que avalia a intensidade da relação entre variáveis). Os resultados apresentam-se como a média  $\pm$  DP (desvio padrão) no caso de variáveis quantitativas e como a mediana  $\pm$  AIQ (amplitude interquartil) nas qualitativas. A significância foi fixada para todos os testes em 5% ( $p \leq 0,05$ ).

## **5. RESULTADOS**

Foram utilizados 50 cadáveres de cães adultos, sendo 21 machos e 29 fêmeas, com peso médio de 9,46 kg (DP  $\pm$  2,80). O total de amostras avaliadas foram 600, sendo 500 ossos longos e 100 tendões calcâneos.

A avaliação estatística da significância entre antímeros direito (AD) e esquerdo (AE) referente às mensurações ósseas quanto ao comprimento (Comp), diâmetro (Diam) crânio-caudal (CCd) e diâmetro látero-lateral (LL), ambos da linha média (Tabela 2), evidenciou, inicialmente, que não houve diferenças dos valores de p, ou seja, não houve diferenças significativas entre as mensurações.

Tabela 2: Avaliação estatística da significância entre antímeros direito (AD) e esquerdo (AE) referente às mensurações da linha média óssea de cadáveres de cães submetidos a processo de fixação com álcool etílico glicerinado e conservação com sal de cura.

<b>Comparação entre Antímeros</b>	
<b>Variáveis</b>	<b>Valor de p</b>
ÚMERO AD Comp	0,92
ÚMERO AE Comp	
ÚMERO AD Diam CCd	0,88
ÚMERO AE Diam CCd	
ÚMERO AD Diam LL	0,66
ÚMERO AE Diam LL	
RÁDIO AD Comp	0,89
RÁDIO AE Comp	
RÁDIO AD Diam CCd	0,42
RÁDIO AE Diam CCd	
RÁDIO AD Diam LL	0,76
RÁDIO AE Diam LL	
ULNA AD Comp	0,84
ULNA AE Comp	
ULNA AD Diam CCd	0,97
ULNA AE Diam CCd	
ULNA AD Diam LL	0,81
ULNA AE Diam LL	
FÊMUR AD Comp	0,67
FÊMUR AE Comp	
FÊMUR AD Diam CCd	0,90
FÊMUR AE Diam CCd	
FÊMUR AD Diam LL	0,94
FÊMUR AE Diam LL	
TÍBIA AD Comp	0,62
TÍBIA AE Comp	
TÍBIA AD Diam CCd	0,62
TÍBIA AE Diam CCd	
TÍBIA AD Diam LL	0,98
TÍBIA AE Diam LL	

\*Comp: comprimento em milímetros, Diam: diâmetro em milímetros, CCd: crânio-caudal, LL: látero-lateral.

Por não haver diferença estatística referente às mensurações ósseas dos AD e AE dos membros, os valores foram unificados visando aumentar o número de amostras (n) e conseqüentemente aumentar o poder estatístico.

A ausência de diferenças estatísticas referentes às mensurações ósseas bilaterais também reforça a uniformidade das amostras. Foi realizada a somatória dos dados obtidos por meio da mensuração dos ossos, referente aos AD e AE, em cada período, possibilitando gerar a média geral relativa a cada osso longo de todos os cadáveres utilizados (Tabela 3).

Tabela 3: Avaliação da média geral das mensurações dos ossos longos de cadáveres de cães referente aos diferentes grupos (tempos de conservação), submetidos a processo de fixação com álcool etílico e conservação com sal de cura.

	<b>G0 Controle</b>	<b>G30</b>	<b>G60</b>	<b>G90</b>	<b>G120</b>	<b>MÉDIA FINAL EM mm</b>
<b>ÚMERO Comp</b>	123,35	118	107,10	117,72	98,55	<b>113</b>
<b>ÚMERO Diam CCd</b>	13,76	12,49	11,21	11,5	11,87	<b>12,10</b>
<b>ÚMERO Diam LL</b>	10,18	9,28	9,21	9,33	9,96	<b>9,60</b>
<b>RÁDIO Comp</b>	118,95	113,05	99,15	114,83	92,20	<b>107,60</b>
<b>RÁDIO Diam CCd</b>	6,41	6,22	7,03	6,43	6,90	<b>6,60</b>
<b>RÁDIO Diam LL</b>	9,85	9,52	9,95	9,6	10,77	<b>9,90</b>
<b>ULNA Comp</b>	140,60	134,50	118	139,27	111,30	<b>108,70</b>
<b>ULNA Diam CCd</b>	8,20	6,72	7,31	7,41	7,89	<b>7,50</b>
<b>ULNA Diam LL</b>	7,27	7,68	7,86	6,03	8,68	<b>7,50</b>
<b>FÊMUR Comp</b>	133,15	126,95	114	125,83	107,20	<b>121,40</b>
<b>FÊMUR Diam CCd</b>	10,50	9,75	10,13	9,81	10,53	<b>10,10</b>
<b>FÊMUR Diam LL</b>	10,82	10,12	9,86	10,033	10,751	<b>10,30</b>
<b>TÍBIA Comp</b>	132,95	128,50	108,26	129,38	105,30	<b>121</b>
<b>TÍBIA Diam CCd</b>	10,66	9,94	9,32	9,61	10,01	<b>9,9</b>
<b>TÍBIA Diam LL</b>	10,71	10,08	10,24	10,04	10,78	<b>10,30</b>

\*Comp: comprimento em milímetros, Diam: diâmetro em milímetros, CCd: crânio-caudal, LL: látero-lateral.

Sequencialmente, foi realizada a análise da significância ( $p \leq 0,05$ ) em relação à força máxima de ruptura (FMR) de todos os ossos e tendões calcâneos referente aos AD E AE (Tabela 4).

Tabela 4: Análise da significância ( $p \leq 0,05$ ) em relação à força de ruptura máxima dos ossos e tendões calcâneos comuns referente aos antímeros direito e esquerdo dos membros de cadáveres de cães submetidos à processo de fixação com álcool etílico glicerinado e conservação com sal de cura.

<b>Comparação entre antímeros direito e esquerdo referente à força máxima de ruptura em newtons</b>	
<b>Variáveis</b>	<b>Valor de p</b>
ÚMERO AD	0,81
ÚMERO AE	
RÁDIO AD	0,97
RÁDIO AE	
ULNA AD	0,58
ULNA AE	
FÊMUR AD	0,84
FÊMUR AE	
TÍBIA AD	0,76
TÍBIA AE	
TENDÃO AD	0,86
TENDÃO AE	

\*AD: antímero direito, AE: antímero esquerdo, p: significância.

Não houve diferença significativa referente ao valor p quanto à força máxima de ruptura em newtons em relação aos antímeros dos ossos longos e tendões.

A análise de todas as variáveis com relação aos gêneros dos animais demonstrou não haver diferenças significativas (valor p) para todas as variáveis mensuradas (Tabela 5).

Tabela 5: Valores de significância ( $p \leq 0,05$ ) de todas as variáveis dos ossos longos e tendões calcâneo comum, em relação aos gêneros dos cadáveres dos cães submetidos à processo de fixação com álcool etílico glicerinado e conservação com sal de cura.

Comparação entre Gêneros	
Variáveis	Valor de p
ÚMERO FRM M	0,88
ÚMERO FRM F	
ÚMERO Comp M	0,74
ÚMERO Comp F	
ÚMERO Diam CCd M	0,89
ÚMERO Diam CCd F	
ÚMERO Diam LL M	0,48
ÚMERO Diam LL F	
RÁDIO FMR M	0,91
RÁDIO FMR F	
RÁDIO Comp M	0,47
RÁDIO Comp F	
RÁDIO Diam CCd M	0,51
RÁDIO Diam CCd F	
RÁDIO Diam LL M	0,80
RÁDIO Diam LL F	
ULNA FMR M	0,64
ULNA FMR F	
ULNA Comp M	0,36
ULNA Comp F	
ULNA Diam CCd M	0,93
ULNA Diam CCd F	
ULNA Diam LL M	0,19
ULNA Diam LL F	
FÊMUR FMR M	0,55
FÊMUR FMR F	
FÊMUR Comp M	0,77
FÊMUR Comp F	
FÊMUR Diam CCd M	0,80
FÊMUR Diam CCd F	
FÊMUR Diam LL M	0,63
FÊMUR Diam LL F	
TÍBIA FMR M	0,44
TÍBIA FMR F	
TÍBIA Comp M	0,65
TÍBIA Comp F	
TÍBIA Diam CCd M	0,81
TÍBIA Diam CCd F	
TÍBIA Diam LL M	0,89
TÍBIA Diam LL F	
TENDÃO FMR M	0,44
TENDÃO FMR F	

\*FRM: força máxima de ruptura em newtons, M: macho, F: fêmea, Comp: comprimento em milímetros, Diam: diâmetro em milímetros, CCd: crânio-caudal, LL: látero-lateral. p: significância

A ausência de diferenças significativas do valor de p quanto à análise de todas as variáveis referente ao gênero dos cadáveres de cães determinou não haver diferenças entre os ossos e tendões calcâneos comuns, o que permitiu realizar a soma dos valores dos antímeros, aumentando o número de amostras (n=20 para cada variável), conseqüentemente aumentando a relevância estatística. Foi realizado a média (m) da força máxima de ruptura (FMR) em newtons (N), desvio padrão (DP) de cada osso e tendão calcâneo comum referente aos tempos de conservação e coeficiente de variância (CV%) e significância (valor de p) (Tabela 6).

Tabela 6: Média (m) da força máxima de ruptura (FMR) em newtons (N), desvio padrão (DP), coeficiente de variância (CV%) e significância ( $p \leq 0,05$ ), referentes aos tempos de conservação de ossos longos e tendões calcâneo comum de cadáveres de cães fixados com álcool etílico glicerinado e conservados com sal de cura, submetidos a ensaio biomecânico.

	G0		G30		G60		G90		G120		CV%	Valor de p
	m	DP	m	DP	m	DP	m	DP	m	DP		
<b>FRM (N)</b>												
<b>ÚMERO</b>	1251	369	1315	572	1296	385	1091	376	1178	500	33	0,45
<b>RÁDIO</b>	560,5	121	602,5	183	615	166	591	219	682,5	319,5	35	0,7
<b>ULNA</b>	404,6	152,4	580	320,6	268	221,7	474	223	619	341	13	0,12
<b>FEMÚR</b>	1037,4	352,5	1073,4	400,5	1003	276,7	925	263,5	1064,4	433	34,5	0,78
<b>TÍBIA</b>	1102	347,5	1337,6	426,3	1184,5	343	1171	403,6	1088	540	20	0,3
<b>TENDÃO CALCÂNEO</b>	584	226	533	214,5	601,5	254,6	530	203	524,3	175	39	0,7

Para possibilitar a detecção da proximidade de cada variável em relação ao grupo controle, referente à média da FMR quanto aos tempos de conservação, foi formatado um gráfico bidimensional (Figura 8), visando a detectar o tempo ideal de conservação para cada variável.

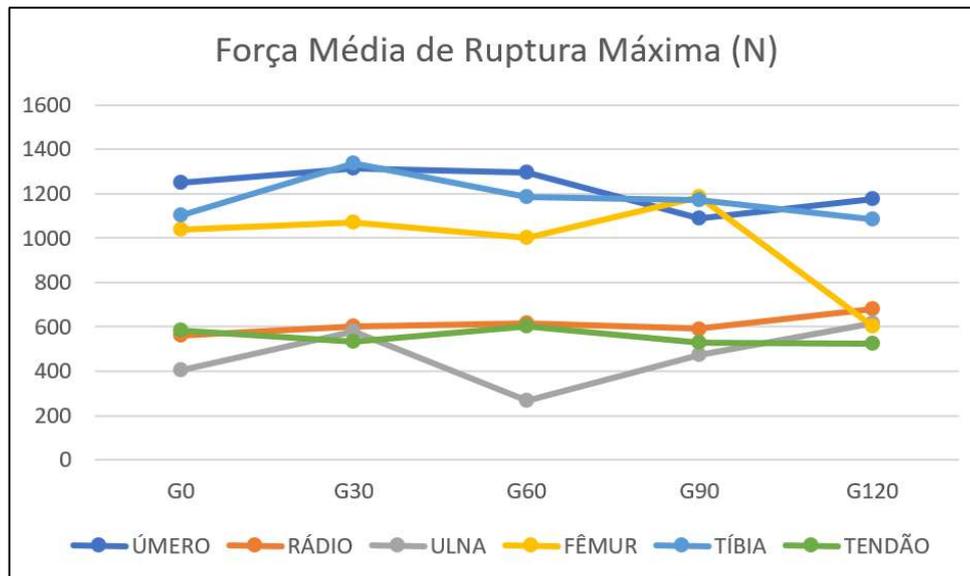


Figura 8: Ilustração gráfica da força média de ruptura máxima em newtons (N) dos ossos longos e tendões calcâneos comuns de cadáveres de cães fixados em álcool etílico glicerinado e conservados com sal de cura em diferentes tempos de refrigeração.

Não houve diferença estatística na média da FMR nos diferentes tempos de conservação e a variação dos valores sempre foi muito pequena durante esse período.

Quanto ao aspecto da coloração da MO (Figura 9) dos ossos longos (dados qualitativos), foi inicialmente analisada a significância referente aos gêneros (Tabela 7), em busca de diferenças.

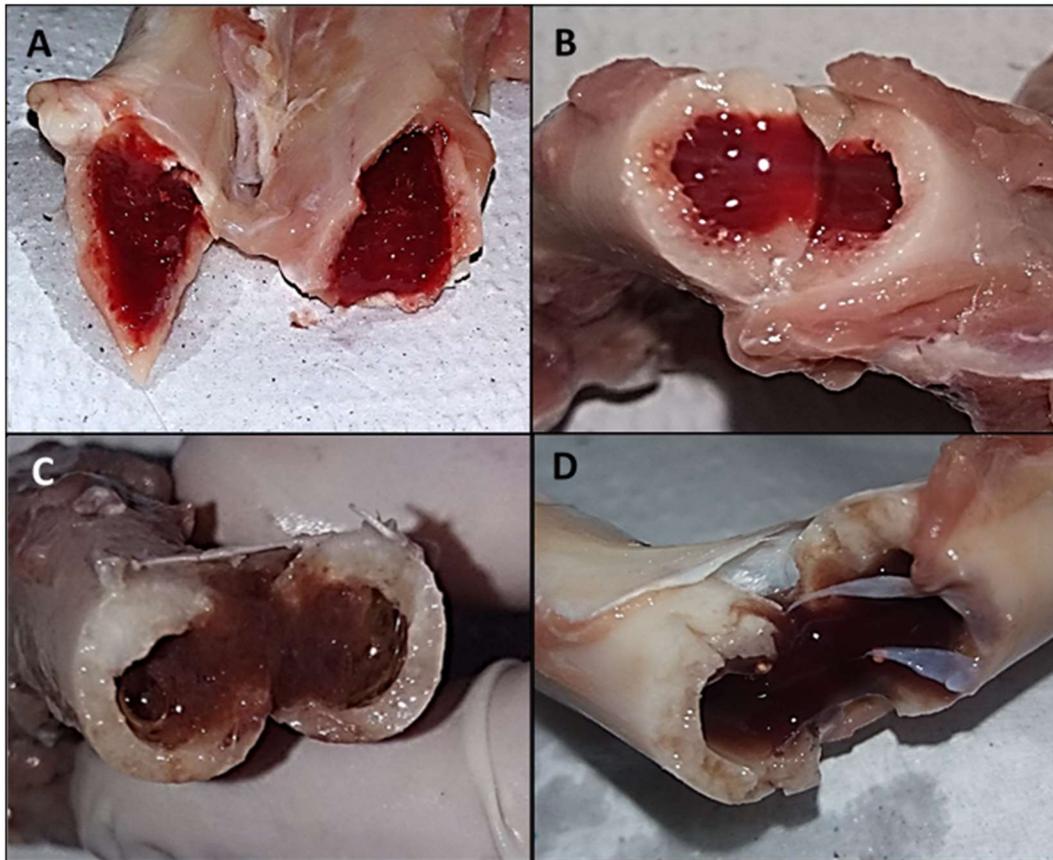


Figura 9: Imagem fotográfica das colorações da medula óssea de cadáveres de cães submetidos a processo de fixação com álcool etílico glicerinado e conservados com sal de cura. A: excelente (coloração mais vívida que de cadáver fresco), B: bom (coloração semelhante a cadáver fresco), C: ruim (coloração escurecida em referência a cadáver fresco), D: péssimo (coloração marrom, pútrido).

Tabela 7: Análise da significância ( $p \leq 0,05$ ), relativa ao gênero e aspecto da medula óssea (MO) de ossos longos de cadáveres de cães fixados com álcool etílico glicerinado e conservados com sal de cura, submetidos a ensaio biomecânico.

Aspecto da medula óssea (Teste não paramétrico)	Valor de p
ÚMERO M	0,27
ÚMERO F	
RÁDIO M	0,14
RÁDIO F	
ULNA M	0,38
ULNA F	
FÊMUR M	0,19
FÊMUR F	
TÍBIA M	0,63
TÍBIA F	

\*M: macho, F: fêmea.

Não houve diferenças significativas entre os gêneros dos cadáveres e aspecto da MO para todas as variáveis mensuradas. Esta informação permitiu aumentar o número de amostras por meio da soma dos valores das variáveis entre machos e fêmeas, aumentando conseqüentemente o poder estatístico.

A seguir, foi realizada a análise de significância (valor p) do aspecto da MO referente aos AD e AE, na busca de diferenças (Tabela 8).

Tabela 8: Análise da significância ( $p \leq 0,05$ ), relativa ao aspecto da medula óssea (MO) de ossos longos e lados direito e esquerdo, de cadáveres de cães fixados com álcool etílico glicerinado e conservados com sal de cura, submetidos à ensaio biomecânico.

Teste não paramétrico/ aspecto da MO	Valor de p
ÚMERO AD	0,95
ÚMERO AE	
RÁDIO AD	0,63
RÁDIO AE	
ULNA AD	0,64
ULNA AE	
FÊMUR AD	0,89
FÊMUR AE	
TÍBIA AD	0,83
TÍBIA AE	

\*AD: antímero direito, AE: antímero esquerdo.

A análise do valor p do aspecto da MO referente aos AD e AE não demonstrou diferenças significativas, permitindo prosseguir com o aumento do número de amostras (n) por meio da somatória dos valores referentes aos antímeros, visando aumentar o poder estatístico.

Foi realizado teste de Dunn para determinar qual o momento em relação ao tempo de conservação, a MO apresentou o melhor aspecto visual (Tabela 9).

Tabela 9: Análise das variáveis qualitativas do aspecto da coloração da medula óssea, geradas pela análise de dois observadores submetidas ao teste de Dunn para determinar qual o momento referente ao aspecto em relação ao tempo de conservação de cadáveres de cães fixados com álcool etílico glicerinado e conservados com sal de cura, submetidos a ensaio biomecânico.

	G0		G30		G60		G90		G120		
MO	Mediana	AIQ	Valor de p								
<b>ÚMERO AD</b>	1,00	0	0,00	0	1,00	1	1,00	2	2,00	0	0,0019
Dunn	b		a		ab		b		c		
<b>ÚMERO AE</b>	1,00	0,00	0,00	0,00	0,50	1,00	2,00	1,00	2,00	0,75	<0,0001
Dunn	bc		a		ab		c		d		
<b>RÁDIO AD</b>	1,00	0,00	0,50	1,00	1,00	0,75	2,00	1,00	2,00	0,00	<0,0001
Dunn	ab		a		b		c		c		
<b>RÁDIO AE</b>	1,00	0,00	0,50	1,00	1,00	0,75	1,00	1,00	2,00	0,00	<0,0001
Dunn	b		a		b		b		c		
<b>ULNA AD</b>	1,00	0,00	0,50	1,00	1,00	0,00	1,00	1,00	2,00	0,00	<0,0001
Dunn	b		a		b		b		c		
<b>ULNA AE</b>	1,00	0,00	0,00	0,75	1,00	0,00	1,00	0,00	2,00	0,00	<0,0001
Dunn	b		a		b		b		c		
<b>FÊMUR AD</b>	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	1,75	1,00	1,00	2,00	1,50	<0,0001
Dunn	b		a		b		b		c		
<b>FÊMUR AE</b>	1,00	0,75	0,00	0,00	0,50	1,75	1,00	2,00	1,50	1,00	0,0009
Dunn	bc		a		b		bc		c		
<b>TÍBIA AD</b>	1,00	0,00	0,00	0,75	1,00	0,75	1,00	1,00	2,00	0,75	0,0002
Dunn	b		a		b		bc		c		
<b>TÍBIA AE</b>	1,00	0,00	0,50	1,00	1,00	1,75	1,00	1,00	2,00	0,75	0,0011
Dunn	ab		a		ab		b		c		

\*O aspecto da medula óssea, variáveis qualitativas, foram transformadas em escores onde 0=excelente, 1=bom, 2=ruim e 3=péssimo; assim quanto menor o valor melhor a aparência. AIQ: amplitude interquartil. AD: antímero direito, AE: antímero esquerdo.

O teste evidenciou que o aspecto da MO do úmero foi melhor aos 30 dias de conservação em relação ao grupo controle ( $G0 > G30$ ), semelhante a 60 dias ( $G0 \cong G60$ ) e pior aos 90 e 120 dias do que o grupo controle ( $G0 < G120$ ). O rádio demonstrou melhor aspecto da MO aos 30 dias em relação ao grupo controle ( $G0 > G30$ ), semelhante a 60 dias ( $G0 \cong G60$ ) e pior aspecto aos 90 e 120 dias ( $G0 < 90$  e  $G120$ ). A ulna apresentou o melhor aspecto da MO aos 30 dias ( $G0 > G30$ ), semelhante a 60 dias ( $G0 \cong G60$ ) em relação ao grupo controle e pior aspecto aos 90 e 120 dias ( $G0 < 90$  e  $G120$ ). O fêmur apresentou melhor aspecto da MO aos 30 dias em relação ao grupo controle ( $G0 > 30$ ), semelhante a 60 dias ( $G0 \cong G60$ ) e pior aspecto aos 90 e 120 dias ( $G0 < 90$  e  $G120$ ). A tibia demonstrou melhor aspecto da MO aos 30 dias em relação

ao grupo controle (G0>30), semelhante a 60 dias (G0≅G60) e pior aspecto aos 90 e 120 dias (G0<90 e G120).

Foi criado um gráfico de colunas facilitando a visualização das medianas em relação aos grupos (Figura 10).

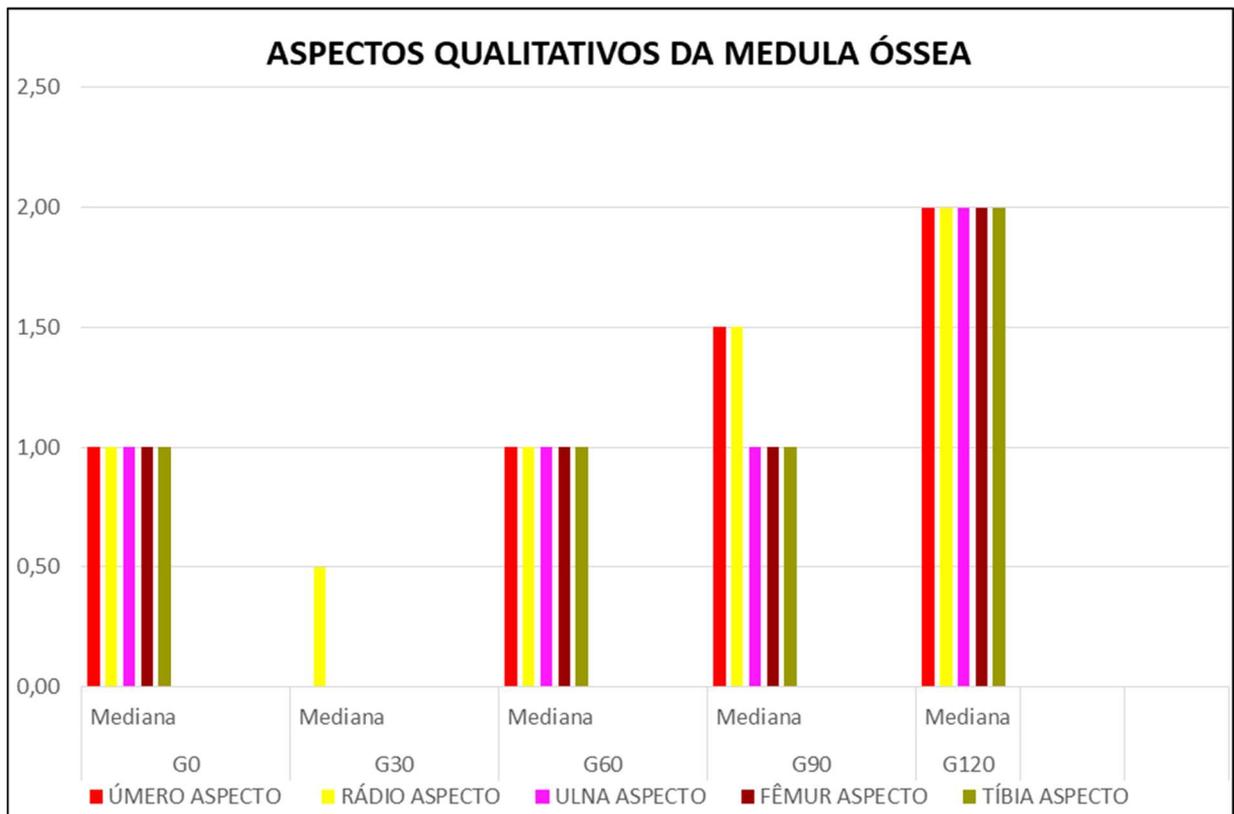


Figura 10: Imagem ilustrativa dos aspectos qualitativos da medula óssea de cães fixados com álcool etílico glicerinado e sal de cura. Notar que as medianas do grupo de 30 dias de conservação (G30) é menor que as do grupo controle (G0) e que as medianas do grupo de 60 dias de conservação são semelhantes ao G0. As demais medianas (G90 e G120) maiores que G0.

## 6. DISCUSSÃO

A fixação convencional de cadáveres utiliza principalmente formaldeído para preservação e é de uso limitado para a prática cirúrgica, pois interfere na resistência dos órgãos e tecidos moles, embora a utilização dessa substância em baixa concentração, por até quatro semanas, não altera as propriedades mecânicas de

compressão, nem a dureza do osso cortical humano, diferentemente da fixação por até 8 semanas (Öhman et al., 2008). O formaldeído também gerou valores maiores em ensaio biomecânico de torque na inserção de parafusos ósseos, quando comparado com ossos frescos de humanos (Cömert et al., 2009). Diferentemente, nossos resultados demonstraram que o AEG e SC não apresentaram alterações significativas das propriedades mecânicas dos ossos longos e tendão calcâneo comum durante todo o período de conservação em refrigeração, sendo esta metodologia promissora para o treinamento cirúrgico em cadáveres e experimentação ortopédica.

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., 2012a; Guastalli et al., 2012b), valores estes obtidos por meio de testes biomecânicos de cisalhamento. Quando se utilizou o AEG 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 do observado neste experimento, as forças máximas de ruptura no teste de compressão óssea ou de ruptura tendínea se mantiveram estáveis, indicando a eficiência do AEG associado ao SC ao longo do período de conservação em relação à biomecânica tecidual.

Modelos anatômicos artificiais e cadáveres frescos são considerados como alternativa ao uso de agentes tóxicos, permitindo também utilização de forma repetitiva. Cadáveres frescos não podem ser utilizados diversas vezes devido processo de degradação natural (Groscurth et al, 2001). Entretanto, neste trabalho, a

solução de AEG e SC demonstrou ser eficiente no preparo químico de cadáveres de cães, sem o uso de formaldeído, podendo ser utilizada durante o semestre acadêmico para treinamento em diversas técnicas ortopédicas, proporcionando repetitividade e boa qualidade tecidual óssea, visando mimetizar a realidade.

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 (Groscurth et al., 2001). Neste trabalho, diferentemente, a solução utilizada demonstrou conservação da coloração da MO dos ossos longos durante 60 dias com decaimento da qualidade somente para úmero e rádio a partir de 90 dias e manutenção da resistência dos ossos longos durante quatro meses.

A solução de Thiel mantém tecidos flexíveis e com cores realistas e, portanto, é considerado adequado o seu uso para treinamento anatômico e cirúrgico (Alberty et al., 2002; Feigl et al., 2007; Wolff et al., 2008; Benkhadra et al., 2009; Holzle et al., 2009), porém, quando utilizada em pesquisa, na conservação de tendões flexores digitais profundos de humanos em comparativo com tendões conservados por congelamento, o estudo demonstrou força biomecânica média de ruptura inferior (38 MPa) no grupo fixado com Thiel em relação aos congelados (60 MPa) (Fessel et al., 2011). Em nosso estudo não houve diferença significativa quanto à força máxima de ruptura em newtons dos tendões, em ambos antímeros, durante o período de quatro meses, demonstrando que a solução de AEG e SC pode ser utilizada em treinamentos cirúrgicos e pesquisa.

O AEG mostrou-se eficiente como fixador de cadáveres de cães, permitindo boa conservação e evitando deterioração do material (Rodrigues, 2010; Balta et al., 2015). A técnica anatômica empregada, utilizando esse fixador, atendeu aos requisitos desejados de preservação de cadáveres por até quatro meses, de maneira realista, para uso em treinamento cirúrgico, semelhante aos relatos sobre efeitos biomecânicos na pele e intestinos (Rocha et al., 2018), artéria carótida comum (Cerqueira et al., 2017) e veia jugular externa (Pelogia et al., 2018) de cadáveres de cães preparados quimicamente também com AEG pelo mesmo período. Esse protocolo também foi eficiente na manutenção das características biomecânicas de tecidos moles em cadáveres de gatos (Zero et al., 2020).

Ainda, álcoois utilizados na fixação de cadáveres humanos por período de 6 meses a 1 ano, propiciaram qualidade tecidual similar àquela do tecido fresco (Goyri-o'neill et al., 2013), semelhantemente ao observado em nossos resultados.

Junto com o AEG, o SC utilizado mostrou-se eficiente na conservação dos tecidos fixados, o que foi similar ao cloreto de sódio a 30% utilizado por Oliveira (2014) na conservação de cadáveres, 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 o centro frênico canino de cães em glicerina (Brun et al., 2004), ambos para fins cirúrgicos.

O sal de cura, por ter alta concentração de cloreto de sódio, dificulta a sobrevivência de microrganismos pois exige enorme capacidade de osmorregulação, similarmente ao que ocorre nos oceanos (Munro et al., 1989) e no Mar Morto (Nissenbaum, 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 o cloreto de sódio a 20%, associado ao nitrato e nitrato de sódio a 1%, mostrou-se efetivo para conservação dos cadáveres de cães por quatro meses, além de proporcionar boa maleabilidade à manipulação tecidual.

O uso de solução de formaldeído a 10% na conservação de úmeros e fêmures do antímero direito de gatos, durante 21 dias e submetidos à ensaio biomecânico demonstrou redução de 50% da força quando comparados aos frescos do antímero esquerdo, resultando em aumento da fragilidade (James et al., 1989). Divergentemente ao nosso trabalho, não houve diferença biomecânica significativa na análise dos ossos longos e tendão calcâneo comum de cães, de ambos antímeros, durante quatro meses.

Além de enrijecer cadáveres, o formaldeído possui diversas desvantagens para fins de fixação e conservação, como por exemplo: coagula o sangue, converte os tecidos em tom cinza quando mistura-se com sangue, desidrata os tecidos, contrai os capilares e apresenta odor desagradável (Hayashi et al., 2014). Díspar aos nossos resultados que demonstraram melhoria da coloração da MO em 30 dias, com aspecto mais vívido que de cadáver fresco, aspecto semelhante à coloração de cadáver fresco em 60 dias. Somente após 90 dias houve início de degradação da coloração da MO de úmeros e rádios, mantendo aspecto semelhante ao fresco a ulna, fêmur e tíbia. Isto demonstra que a solução de AEG e SC não promove alteração de cor acinzentada como o formaldeído.

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 diminui custos e proporciona repetitividade do exercício, além de gerar 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).

O uso de conservantes tóxicos gera efluentes contaminados (Who, 1991) e vapores perigosos, como os liberados pelo formaldeído (Cury et al., 2013). Esses subprodutos nocivos aumentam os custos financeiros e ambientais da instituição. Portanto, é necessário buscar alternativas de menor custo e menos arriscadas (Janczyk, 2011), como as soluções de AEG e SC utilizada em nosso trabalho.

## **7. CONCLUSÃO**

A técnica anatômica empregada, para o preparo de cadáveres de cães, satisfaz a necessidade de conservação, sem alteração significativa das propriedades biomecânicas de ossos longos e tendão calcâneo comum por considerável período de tempo (até quatro meses), e aspecto satisfatório da coloração da medula óssea por até 60 dias.

## 8. REFERÊNCIAS

Akhtar KSN, Chen A, Standfield N J, Gupte CM (2014) The role of simulation in developing surgical skills. **Current Reviews in Musculoskeletal Medicine**. 7:155–160. DOI 10.1007/s12178-014-9209-z.

Alberty J, Filler TJ, Schmä F, Peuker ET (2002) Thiel method fixed cadaver ears. A new procedure for graduate and continuing education in middle ear surgery. **HNO**. · 50:739–742.

Asma B, Eddine BS (2014) Novel Approach to Teach Veterinary Orthopedic Surgery in Dogs. **Veterinary Science & Technology**. 5:5. <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7579.1000204>.

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

Balta JY, Cronin M, Cryan JF, O’Mahony SM (2015) Human Preservation Techniques in Anatomy: A 21st Century Medical Education Perspective. **Clinical Anatomy**. Wiley-Liss. New York-USA. n. 28, p. 725-734.

Benkhadra M, Faust A, Ladoire S, Trost O, Trouilloud P, Girard C, Anderhuber F, Feigl G (2009) Comparison of fresh and Thiel’s embalmed cadavers according to the suitability for ultrasound-guided regional anesthesia of the cervical region. **Surgical and Radiologic Anatomy**. Aug; 31(7), p. 531-5.

BRASIL. Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009. **Composição do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA**, Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. Diário Oficial da União. 16 de julho 2009;(134): Seção 1; p. 2-5.

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 MV, Pippi NL, Dreimeier D, Contesini EA, Beck CAC, Cunha O, Pinto Filho SL, Roehsig C, Stedile R (2002) Solução hipersaturada de sal como conservante de pericárdio canino utilizado na reparação do músculo reto abdominal de ratos Wistar. **Ciência Rural**, n.32, p.1019-1025, Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782002000600016&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782002000600016&lng=en&nrm=iso)>.

Brun MV, Pippi NL, Dreimeier D, Contesini EA, Beck CAC, Cunha O, Pinto Filho SL, Roehsig C, Stedile R, Silva TF (2004) 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. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782004000100022&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782004000100022&lng=en&nrm=iso)>.

Camargo DC, Camargo PC, Leal LM, Filho SPG, Martins LL, Shimano AC, Machado MRF (2014) 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.

Cazarin KCC, Correa CL, Zambrone FAD (2004) Redução, refinamento e substituição do uso de animais em estudos toxicológicos: uma abordagem atual. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v.40, n.3, p.289-299. ISSN 1516-9332. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322004000300004>.

Cerqueira ESF, Pelogia MES, Silveira C P B, Fechis ADS, Rocha TASS, Laus JL, Oliveira FS (2017) Suture analysis and arterial traction test in dogs fixed on alcohol and preserved on saline solution aiming surgical practice. **Global Advanced Research Journal of Medicine and Medical Sciences**. v. 6, p. 292-295.

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

Cömert A, Kökat AM, Akkocaog̃lu M, Tekdemir I, Akça K, Cavit Çehreli MC (2009) Fresh-frozen vs. embalmed bone: is it possible to use formalin-fixed human bone for biomechanical experiments on implants? **Clinical Oral Implants Research**. v.20, p.521–525.

Cury FS, Censoni JB, Ambrósio CE (2013) Técnicas anatômicas no ensino da prática de anatomia animal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, n. 33, v. 5, p. 688-696, Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-736X2013000500022&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2013000500022&lng=en&nrm=iso)>.

Evans HE, de Lahunta A (2013) **Miller's Anatomy of the Dog**, 4th ed. Saunders/Elsevier, St. Louis, Missouri, USA. Chapter 6 - The Muscular System. p. 270.

Feigl G, Anderhuber F, Schwarz G, Dorn C, Fasel JHD, Likar R (2007) Training methods for regional anaesthesia—evaluation and comparison. **Anaesthesist**. v.56. p. 437–443.

Fessel G, Freya K, Schweizer A, Calcagni M, Ullrich O, Snedeker JG (2011) Suitability of Thiel embalmed tendons for biomechanical investigation. **Annals of Anatomy**. n.193, p.237–241.

Fração VC, Zero RC, Rodrigues A, Ferreira BN, Fechis ADS, Rocha TASS, Iozzi MT, Oliveira FS (2019) Analysis of the Skin of Cats' Corpses Chemically Prepared with Ethylic Alcohol and Curing Salt Aiming Veterinary Surgical Practice - Chronic Effect on Biomechanics and Students' Evaluation. **Cient Periodique Medicine**.v.6 (4), p 01-08.

Friker J, Zeiler E, McDaniel BJ (2007) From formalin to salt. Development and introduction on a salt-based preserving solution for macroscopic anatomic specimens. **Tierärztl Praxis**. v. 35, p. 243–248.

Guastalli BHL, Saddi LGC, Zani FL, Nunes TC, Gamon THM, Oliveira FS (2007) 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). **Anais** Disponível em: <<http://www.spmv.org.br/conbravet2007/dados/web-trabalhos-anatomia.htm>>.

Guastalli BHL, Nunes TC, Gamón THM, Do Carmo LG, Del Quiqui EM, Oliveira FS (2012) 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.

Guastalli BHL, Nunes TC, Gamón THM, Do Carmo LG, Oliveira FS, Del Quiqui EM (2012) Quantificação do enrijecimento muscular de peito de frango causado por formaldeído. **Biotemas**, v. 25, p. 195-197.

Guimarães GC, Machado MRF, Shimano AC, Terçariol CAS, Volpon JB, Daleck CR (2008) Propriedades tensiométricas comparadas entre fragmentos do centro tendíneo do diafragma, pericárdio fibroso e peritônio parietal de bovinos não conservados e conservados em glicerina. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 45, suplemento, p. 127-135.

Goyri-o'neill J, Pais D, De Andrade FF, Ribeiro P, Belo A, O'Neill A, Samuel Ramos S, Marques CN (2013) Improvement of the Embalming Perfusion Method: The Innovation and the Results by Light and Scanning Electron Microscopy. **Acta Médica Portuguesa**. May-Jun;26(3):188-194

Groscurth P, Eggli P, Kapfhammer J, Rager G J, Hornung P, Fasel JDH (2001) Gross Anatomy in the Surgical Curriculum in Switzerland: Improved Cadaver Preservation, Anatomical Models, and Course Development. **The Anatomical Record (New Anat.)**. n. 265, p. 254–256.

Hayashi S, Homma H, et al. (2014) Saturated Salt Solution Method: A Useful Cadaver Embalming for Surgical Skills Training. **Medicine Journal**. v. 93. n. 27. p.1-10.

Hayashi S, Naito M, Kawata S, Qu N, Hatayama N, Hirai S, Itoh M (2016) History and future of human cadaver preservation for surgical training: from formalin to saturated salt solution method. **Anatomical Science International Journal**. v.91, Issue 1, p.1–7.

Holzle F, Franz EP, Lehmbrock J, Weihe S, Teistra C, Deppe H, Wolff KD (2009) Thiel embalming technique: a valuable method for teaching oral surgery and implantology. **Clinical Implant Dentistry and Related Research**. Mar; 14(1):121-6.

Iamarino LZ, OLiveira MC, Antunes MM, Oliveira M, Rodrigues RO, Zanin CICB, Schimile M, Lima AA (2015) **NITRATOS EM PRODUTOS CÁRNEOS ENLATADOS E/OU EMBUTIDOS**. *Gestão em Foco*, Edição nº: 07.

IARC - International Agency for Research on Cancer (1995) World Health Organization. **Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Man**. International Agency for Research on Cancer. Geneva. Vol. 29, pp. 345-389. Supplement 7, p. 211-216.

Ingram M (1972) Meat chilling. **The first reason why. Meat chilling - why and how?**. Longford, v.1, n.1, p.1-13.

James CHG, Eng JA, Kamal B (1989) Effect of preservation medium on the mechanical properties of cat bones. **Acta Orthopaedica Scandinavica**; 60(4):465-467 465.

Janczyk P, Weigner J, Becker AL, Kaessmeyer S, Plendl J (2011) Nitrite pickling salt as an alternative to formaldehyde for embalming in veterinary anatomy—A study based on histo- and microbiological analyses. **Annals of Anatomy**. v. 193, p.71–75.

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

Laflamme DP (1997) Development and validation of a body condition score system for dogs. **Canine Practice**. n.22, p. 10-15.

Leal LM, Ferreira ARS, Reis ACG, Martins LL, Filho SPG, Machado RF (2014) 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.

Leitão MFF (1978) **Microrganismos patogênicos na carne e derivados**. Boletim ITAL, Campinas, n. 59, p.15-48.

Munro PM, Gauthier MJ, Breittmayer VA (1989) Influence of osmoregulation processes on starvation survival of *Escherichia coli* in seawater. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 55, p. 2017-2024.

Nissenbaum A (1975) The microbiology and biogeochemistry of the Dead Sea. **Microbial Ecology**. 2: p.139-161.

Nunes TC, Oliveira FS, Gamón THM, Guastalli BHL, Carmo LG, Del Quiqui EM (2011) Análise da textura de músculos peitorais submetidos á fixação e conservação em álcool. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, p. 464-467.

Oliveira FS (2014) 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.

Öhman C, Dall'Ara E, Baleani M, Van Sint Jan S, Viceconti M (2008) The effects of embalming using a 4% formalin solution on the compressive mechanical properties of human cortical bone. **Clinical Biomechanics**. v. 23, p.1294–1298.

Pelogia MES, Cerqueira ESF, Silveira CPB, Rolim GS, Fechis ADS, Rocha TASS, Laus JL, Oliveira FS (2018) Suture and venous traction test analysis in dogs fixed in

alcohol and preserved in saline solution. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 38(9), p. 1834-1837.

Pereira N, Cardozo MV, Rocha TASS, Ávila FA, Machado MRF, Oliveira FS (2019) Microbiological analysis of a new anatomical specimen preparation technique for use in veterinary surgery. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 40, n. 6, suplemento 2, p. 3099-3106.

Rocha TASS, Yanagihara GR, Shimano AC, Rolim GS, Santos CCC, Fechis ADS, Oliveira FS (2018) Biomechanical analysis of the skin and jejunum of dog cadavers subjected to a new anatomical preservation technique for surgical teaching. **The Journal of Plastination**. v.30, p.16-23.

Rocha TASS, Santos CCC, Iozzi MT, Dias RS, Zero RC, Cardozo MV, Oliveira FS (2019) Chemically prepared dog cadavers in teaching of surgical technique - evaluation by students of a veterinary medicine course. **Acta Scientiae Anatomica**, v.1, n.2. p.136-140.

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

Rodrigues H. (2010) **Técnicas anatômicas**. GM GRÁFICA & EDITORA. Vitória-ES. 269p.

Rosset R (1994) Otras carnes y productos cárnicos. In: BOURGEOIS, C.M.; MESCLE, J.F.; ZUCCA, J., org. **Microbiología Alimentaria: aspectos microbiológicos de la seguridad y calidad alimentaria**. Zaragoza: Acribia, p.247-261.

Russell WMS, Burch RL (1959) (as reprinted 1992). **The principles of humane experimental technique**. Wheathampstead (UK): Universities Federation for Animal Welfare.

Silva RMG, Matera JM, Ribeiro AACM (2003) 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.

Silva RMG, Matera JM, Ribeiro AACM (2004) Preservation of cadavers for surgical technique training. **Veterinary Surgery**. v.33, p. 606–608.

Silva RMG, Matera JM, Ribeiro AACM (2007) 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.

Stirling ERB, Lewis TL, Ferran NA (2014) Surgical skills simulation in trauma and orthopaedic training. **Journal of Orthopaedic Surgery and Research**. 9:126. DOI 10.1186/s13018-014-0126-z.

Topp T, Müller T, Huss S, Kann PH, Weihe E, Ruchholtz S, Zettl RP (2012) Embalmed and fresh frozen human bones in orthopedic cadaveric studies: which bone is authentic and feasible? **Acta Orthopaedica**. 83 (5): 543–547.

Tortolani PJ, Moatz BW, Parks BG, Cunningham BW, Seftor J, Kretzer RM (2013) Cadaver Training Module for Teaching Thoracic Pedicle Screw Placement to Residents. **Healio Orthopedics**. v. 36. n.9. p.1128-1133.

Werdelmann R, Gerics B (2016) **Preservation of specimens for students – formaldehyde vs. Salt based fixative**. Annals XXXIth Congress of the European Association of Veterinary Anatomists. University of Veterinary Medicine Vienna, Austria Vienna, Austria.

Wolff KD, Kesting M, Mucke T, Rau A, Holzle F (2008) Thiel embalming technique: a valuable method for microvascular exercise and teaching of flap raising. **Microsurgery** 28, 273–278.

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

Zero RC, Shimano AC, Cardozo MV, Santos CCC, Fehis ADS, Rocha TASS, Oliveira FS (2020) Cadáveres de gatos preparados químicamente para la enseñanza de técnicas quirúrgicas: análisis biomecánico de piel y yeyuno. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú**. (in press)