

**FÁBIO FERREIRA DE QUEIROZ**

**Ensaio biomecânico da túnica albugínea bovina conservada em glicerina 98%,  
preparada antissépticamente, e sua viabilidade como membrana biológica**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal na área de concentração de Sanidade Animal.

ORIENTADOR: Professor Leonardo Serafim da Silveira

COORIENTADORA: Professora Ana Bárbara Freitas Rodrigues

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

2011

## **FÁBIO FERREIRA DE QUEIROZ**

### **Ensaio biomecânico da túnica albugínea bovina conservada em glicerina 98%, preparada antissépticamente, e sua viabilidade como membrana biológica**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal na área de concentração de Sanidade Animal.

#### **BANCA EXAMINADORA:**

---

Prof<sup>ª</sup>. Ana Bárbara Freitas Rodrigues (Doutora – Produção Animal) - UENF

---

Prof. Moacir Santos de Lacerda (Doutor – Cirurgia Veterinária) – UNIUBE

---

Prof. Guilherme Chagas Cordeiro (Doutor – Engenharia Civil) – UENF

---

Prof. Leonardo Serafim da Silveira (Doutor – Produção Animal) - UENF

(Orientador)

Aos meus pais,  
Wagner e Tânia Mara,  
com toda a gratidão.

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, por todo o conhecimento que me ofereceu até o momento.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por ter subsidiado todo o projeto de pesquisa.

Ao Laboratório de Morfologia e Anatomia Patológica e todos seus funcionários, pela grande ajuda no preparo do material do meu experimento.

À COPPE – UFRJ, por ter-me permitido desenvolver parte do meu experimento em suas dependências.

Ao meu orientador Leonardo Serafim da Silveira, por me apoiar nesta caminhada.

Às professoras Ana Barbara Freitas Rodrigues e Fernanda Antunes, por terem dado todo o seu apoio e me passado experiências que levarei comigo por toda minha vida.

Ao Professor Guilherme Chagas Cordeiro, da engenharia civil do CCT, pelo auxílio e paciência durante este trabalho.

Aos meus pais, Wagner e Tânia Mara, e, minha irmã, Adriana, por terem dado todo o suporte para meu desenvolvimento até hoje e por tudo que farão ainda por mim.

À minha namorada Hayla, pelo companheirismo e apoio sempre que necessário.

Aos meus amigos, Anna Paula, Carlito, Carlos Henrique, Luiz Antônio, Melissa, Renato, Willian, que me ajudaram no desenvolvimento desse experimento e que, com certeza, sem eles, eu não teria conseguido concluir este projeto.

A todos aqueles amigos que me ajudaram, direta e indiretamente, na elaboração desta dissertação e que foram fundamentais para a conquista de mais um objetivo de minha vida.

À banca examinadora, pelas críticas sempre construtivas, que tornaram este trabalho melhor.

Por fim, a DEUS por ter-me dado força nas horas de fraqueza, sabedoria quando havia dúvidas, além da fé e segurança para que ultrapassasse os obstáculos e crescesse com os mesmos.

## RESUMO

As membranas biológicas são biomateriais formados por estruturas de origem orgânicas, geralmente constituídas por colágeno. São utilizadas em diversos fins dependendo da característica desse material. A túnica albugínea bovina está sendo utilizada recentemente como membrana biológica, cujas características ainda precisam ser estudadas e discutidas. Os objetivos deste trabalho foram desenvolver uma técnica de preparo de membrana biológica compatível com o organismo Receptor, além de avaliar as características estruturais, relacionadas à biomecânica e à histomorfologia. Foram utilizados 41 ratos Wistar em grupos que diferenciavam em tela (A), túnica albugínea tratada em formol, conservada em glicerina e com um banho na reidratação (B), túnica albugínea tratada em formol, conservada em glicerina e com dois banhos na reidratação (C), além de um grupo só com glicerina (D). Para o teste de tração, foi feita a análise da diferença de resistência, de acordo com o sentido de tração e a idade do bovino doador da membrana. Pôde-se concluir que o grupo C e A apresentaram-se estatisticamente iguais na análise de reação do organismo. Os resultados de resistência à tração não evidenciaram diferenças significativas entre os grupos, em nenhuma das comparações.

**Palavras-chave:** Biomaterial, implante natural, resistência

## ABSTRACT

The biological membranes are biomaterials made of organic structures, usually collagen. They are used for many purposes depending on the material characteristics. The tunica albuginea tissue is being used as a biological membrane and its characteristics need to be studied and discussed. The aim of this study was to develop a biological membrane compatible with an organism like a polypropylene mesh and not transmit any disease to the host. Another evaluation is the structural characteristics related to biomechanics and histoarchitecture. There were used 41 rats in groups that differed on the screen (A), tunica albuginea treated in formaldehyde, preserved in glycerin and rehydration with one wash (B), tunica albuginea treated in formaldehyde, preserved in glycerin and two washes on rehydration (C), and one group with glycerin (D). The tensile test was performed to analyze the difference in resistance according to the sense of drift and age of the animal donor membrane. It was concluded that group C and A were similar in the analysis of reaction of the body. The results of tensile strength test did not show differences between groups in any of the comparisons.

**Keywords:** Biomaterial, natural implant, tensile strength

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Testículo bovino, após castração, individualizado em sacola plástica e armazenado em recipiente térmico com gelo.....	37
Figura 2: Preparo da membrana: Individualização do testículo de bovino, separando-o do epidídimo no ponto de inserção entre os dois.....	38
Figura 3: Preparo da membrana: Abertura do testículo com bisturi no seu eixo longitudinal no local onde estava inserido o epidídimo.....	38
Figura 4: Preparo da membrana: Descolamento da túnica albugínea do parênquima testicular com o auxílio do dedo polegar. Observa-se a retirada da túnica albugínea e a vascular.....	39
Figura 5: Preparo da membrana: Túnica albugínea bovina separada do parênquima testicular.....	39
Figura 6: Tela de polipropileno cortada, em embalagem estéril (A) e, após a abertura da embalagem, procedeu-se à implantação (B).....	41
Figura 7: Rato Wistar com tricotomia abdominal e antisepsia com PVPI® posicionado em decúbito dorsal para a operação. Sala de Técnicas cirúrgicas - UENF.....	42
Figura 8: Rato Wistar posicionado em decúbito dorsal, com campo cirúrgico delimitando a área operatória. Sala de Técnicas Cirúrgicas – UENF.....	42
Figura 9: Incisão na linha média abdominal expondo toda a camada músculo-aponeurótica. Sala de Técnicas Cirúrgicas – UENF.....	43
Figura 10: Criação do defeito de 3 cm x 2 cm na parede abdominal de rato Wistar para posterior implantação do material. Sala de Técnicas Cirúrgicas – UENF.....	44
Figura 11: Fixação da membrana biológica, com pontos simples separados de nylon 3-0, na parede abdominal de rato Wistar. Sala de Técnicas Cirúrgicas – UENF.....	44
Figura 12: Síntese da pele, com pontos simples interrompidos após a implantação da membrana na parede abdominal de ratos Wistar. Sala de Técnicas cirúrgicas – UENF...	45
Figura 13: Material coletado da parede abdominal de ratos Wistar com o implante após a necropsia, sendo clivado para posterior preparação da lâmina de microscopia. Laboratório de Patologia Veterinária – UENF, 2010.....	47
Figura 14: Membrana biológica sendo testada quanto a sua capacidade tênsil. (Laboratório de Estruturas e Materiais do Programa de Engenharia Civil da COPPE/UFRJ).....	51
Figura 15: Necropsia de rato Wistar 15 dias, após a implantação da tela de polipropileno, mostrando a aderência do omento no local de implantação.....	59

Figura 16: Necropsia de rato Wistar 15 dias, após a implantação da túnica albugínea, mostrando a aderência do omento no local de implantação.....	59
Figura 17: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo A1. Setas: reação inflamatória aguda leve com deposição de colágeno. Aumento 10x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.....	61
Figura 18: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo A1. Reação inflamatória aguda leve com deposição de colágeno. Aumento 40x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.....	62
Figura 19: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo A2. Reação inflamatória crônica leve (seta verde). Presença de uma diminuição da reação ao redor do material de implante (setas pretas), quando comparada com a da Figura 17. Aumento 4x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.....	62
Figura 20: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo B1. Reação inflamatória aguda leve. Pode-se observar a membrana biológica (seta). Aumento 4x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.....	63
Figura 21: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo B1. Reação inflamatória aguda moderada com presença de microabscessos (setas). Aumento 4x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.....	63
Figura 22: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo B2. Reação inflamatória aguda moderada com presença de reação piogênica (setas). Aumento 4x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.....	64
Figura 23: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo B2. Reação inflamatória crônica. Observam-se infiltrados inflamatórios (setas) com predominância de mononucleares. Aumento 4x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.....	64
Figura 24: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo B2. Reação inflamatória crônica leve. Observa-se a incorporação da membrana ao organismo (setas). Aumento 4x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.....	65
Figura 25: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo C1. Reação inflamatória crônica moderada (infiltrado inflamatório – seta amarela). Observa-se a incorporação da membrana ao organismo (seta preta). Observam-se células gigantes (setas vermelhas). Aumento 10x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.....	66
Figura 26: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo C1. Reação inflamatória crônica leve. Observa-se a incorporação da membrana ao organismo (setas). Aumento 4x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.....	66
Figura 27: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo D1. Reação inflamatória aguda moderada com presença de microabscesso (seta preta). Observa-se o infiltrado inflamatório (seta amarela) com predominância de polimorfonucleares e expulsão parcial da membrana (seta vermelha). Aumento 4x, Coloração HE.	



LMPA/CCTA/UENF, 2010..... 67

Figura 28: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo D1. Reação inflamatória crônica moderada (seta verde). Observa-se o infiltrado inflamatório (seta amarela) com predominância de mononucleares e expulsão parcial da membrana (seta vermelha). Aumento 10x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010..... 68

## LISTA DE QUADROS

Quadro 01: Resultados da resistência x idade.....	54
Quadro 02: Resultados da resistência x sentido da tração.....	56
Quadro 03: Resultados da observação clínica pós-operatória.....	57
Quadro 04: Resultado da reação inflamatória observada nas amostras, mostrando a quantidade de animais em cada grau dentro de cada grupo/subgrupo estudado.....	60
Quadro 05: Resultado da cicatrização observada nas amostras, mostrando a quantidade de animais em cada grau dentro de cada grupo/subgrupo estudado.....	69
Quadro 06: Média dos níveis de reação do organismo ao material implantado entre os diferentes grupos do experimento.....	69

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01: Desempenho de uma amostra de túnica albugínea durante o teste de resistência à tração, exemplificando o comportamento geral das amostras durante o ensaio.....	53
Gráfico 02: Médias da resistência à tração x idade do bovino.....	54
Gráfico 03: Médias da resistência à tração x sentido da tração.....	56
Gráfico 04: Média do grau de reação do organismo ao implante nos grupos de estudo.....	70

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	16
2.1 – HISTÓRIA .....	16
2.2 – ENXERTOS E IMPLANTES .....	17
<b>2.2.1 – Classificação dos enxertos</b> .....	17
<b>2.2.2 – Classificação dos implantes</b> .....	18
2.3 – UTILIZAÇÃO DE BIOMATERIAIS COMO IMPLANTE .....	19
<b>2.3.1 – Tela de polipropileno</b> .....	21
<b>2.3.2 – Membranas biológicas</b> .....	22
2.3.2.1 – Túnica albugínea .....	23
2.4 – MEIOS DE CONSERVAÇÃO .....	24
<b>2.4.1 – Glicerina</b> .....	25
2.5 – DESINFECÇÃO ANTISSEPSIA E ESTERILIZAÇÃO .....	26
<b>2.5.1 – A desinfecção</b> .....	27
<b>2.5.2 – A antissepsia</b> .....	28
<b>2.5.2 – A esterilização</b> .....	29
2.5.2.1 – O formaldeído como quimioesterilizante.....	29
2.6 – INFLAMAÇÃO.....	32
2.7 – REPARAÇÃO TECIDUAL (CICATRIZAÇÃO).....	34
2.8 – RESISTÊNCIA À TRAÇÃO.....	35

<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>37</b>
3.1 – COLETA DA TÚNICA ALBUGÍNEA.....	37
3.2 – TESTE DE REAÇÃO DO ORGANISMO AO IMPLANTE.....	40
3.2.1 – Grupos de estudo.....	40
3.2.2 – Tela de Polipropileno.....	41
3.2.3 – Técnica cirúrgica.....	42
3.2.4 – Coleta do material pós-operatório e análise de reação tecidual.....	45
3.3 – ESTUDO DE RESISTÊNCIA À TRAÇÃO.....	49
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>52</b>
4.1 – ESTUDO DE RESISTÊNCIA A TRAÇÃO.....	52
4.1.1 – Resistência X Idade.....	53
4.1.2 – Resistência X Sentido da tração.....	55
4.2 – TESTE DE REAÇÃO DO ORGANISMO AO IMPLANTE.....	57
4.2.1 – Observação clínica.....	57
4.2.2 – Aderência.....	58
4.2.3 – Reação inflamatória.....	60
4.2.4 – Cicatrização.....	68
4.2.5 – Gravidade da reação do organismo ao implante.....	69
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>72</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>73</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Com o crescente aumento de conhecimentos que originou a chamada Ciência dos Materiais e o seu desdobramento posterior, na Engenharia de Materiais, os implantes de tecidos de natureza biológica, ou de produtos sintéticos, no nível cirúrgico, têm avançado ao longo dos recentes anos (FILADELPHO et al., 2009).

A utilização de produtos denominados de biomateriais, de origem natural ou sintética, como implante na correção de lesões teciduais, vem tornando-se alvo de debates que põe em questão sua viabilidade, tendo em vista que poucos materiais atendem a todas as exigências importantes para um ótimo biomaterial de implante, tais como, resistência mecânica, resistência à corrosão, biocompatibilidade e textura adequada (NUNES, 2007).

As membranas biológicas são biomateriais formados por estruturas de origem orgânica. Sua utilização é cada vez mais versátil, tornando-se um instrumento importante desde a reconstituição tecidual, passando por reconstrução de órgãos ocultos, como *vesica urinaria*, intestino e coração, até a utilização na ortopedia, como substituto de ligamentos rompidos em várias articulações do corpo.

As histórias dos enxertos, implantes e próteses misturam-se, com o passar dos tempos, com o intuito exclusivamente de dar uma qualidade de vida aos indivíduos receptores. Nesse sentido, o tecido retorna a sua função inicial que, de forma aguda ou crônica, foi perdida, ou pelo menos, suas funções aproximam-se daquelas dos tecidos originais, havendo possibilidade de o organismo reincorporar o material transplantado.

A perda tecidual é uma das complicações encontradas por cirurgiões veterinários em procedimentos emergenciais e em situações crônicas quando os tecidos já se encontram bastantes retraídos, o que impede a reconstrução da anatomia normal, sem que haja tensão na sutura. Não somente a parede abdominal, mas também a parede torácica, perineal, diafragmática e a cavidade oral podem sofrer perdas difíceis de serem reconstituídas. Diante dessas situações, torna-se necessária a utilização de materiais compatíveis com o organismo para se obter uma estrutura que o imite, substitua ou sirva de suporte para o tecido perdido, por um período específico, até que o organismo consiga reconstruir a parte lesada ou substituí-la por um tecido cicatricial do próprio animal.

Um dos motivos mais corriqueiros para as lesões com perda de tecidos da parede abdominal são as cirurgias oncológicas, nas quais a retirada do tumor com margem de segurança pode acarretar a retirada de tecido abdominal suficientemente grande para impedir o fechamento ideal, sem tensão, da cavidade abdominal.

Outro motivo importante é o ataque por outros cães, cujas lesões geralmente se apresentam de forma lacerada, com fragmentos soltos ou, muitas vezes, presos por partes pequenas de tecidos que devem ser retirados no ato do debridamento, o que acarreta, também, uma área grande de lesão.

Nas hérnias grandes e antigas, as membranas biológicas também se mostram utilizáveis. Nessas lesões, as bordas estão retraídas o bastante para impedir o fechamento correto sem tensão na sutura, havendo a necessidade da utilização de um material para aumentar a área abdominal. Nesse caso, a membrana biológica torna-se bastante útil.

Neste estudo, o objetivo foi de avaliar as características estruturais, relacionadas à biomecânica, com ensaios de resistência à tração, e à histoarquitetura, da túnica albugínea bovina utilizada como material de implante. Diante desta pesquisa, espera-se caracterizar, experimentalmente, as membranas como materiais de implante estéril em reparos de parede abdominal, desenvolver um preparo estéril para o acondicionamento das mesmas e fazer uma comparação quanto à reação tecidual com a tela de polipropileno, material utilizado frequentemente em humanos para correção de defeitos em parede abdominal.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 - HISTÓRIA

Desde o final da década de 60, na Medicina Veterinária, o estudo com membranas biológicas segue o trabalho pioneiro de Pigossi et al. (1971), com dura-máter homóloga em cães, conservada em glicerina (GUIMARÃES et al., 2007), que, posteriormente, estendeu-se a outros materiais e a meios de conservação diversos.

Porém, desde épocas remotas, o homem tem-se preocupado em restaurar ou substituir partes danificadas do tecido ósseo humano. Em meados do século XVII, Fallopius implantou uma placa de ouro para restaurar um defeito craniano e, a partir daí, os implantes têm sido usados em substituição de partes danificadas do sistema ósseo (DE PAULO et al., 2008).

Antes disso ainda, a literatura sobre enxerto ósseo cita que Van Meeken, em 1682, transplantou osso de crânio de cão para correção de um defeito cranial no homem, com sucesso. O cirurgião foi obrigado a retirar o material para evitar a excomunhão pela igreja (VASCONCELOS, 2000).

Em 1890, foi relatado o primeiro implante de dura-máter em um paciente com epilepsia pós-traumática refratária. Foi colocada uma folha de ouro e, segundo o cirurgião, o enfermo melhorou no ponto de vista da diminuição da frequência e intensidade das crises convulsivas (LIMA, 2008).

Na cardiologia humana, tecidos biológicos têm sido usados como substituto valvar desde 1962, a partir do momento que uma valva aórtica humana fresca foi transplantada. Posteriormente, foram introduzidas próteses como as de pericárdio bovino, fáschia lata autógena e dura-máter humana (SONCINI DA ROSA et al., 2006).



## 2.2 - ENXERTOS E IMPLANTES

Entende-se por enxerto o transplante feito com tecidos que, migrados para outra área, tem sua integração independente da área doadora. Quando existe certa dependência da área de origem, é considerado como pediculado (PIGOSSI et al., 1971). O enxerto é um transplante cujas células mantêm viabilidade vital no hospedeiro, diferentemente do implante, que é o transplante cujas células, sem viabilidade vital no hospedeiro, são substituídas ou incorporadas por tecidos do receptor (PIGOSSI et al., 1971). De Paulo et al. (2008) definem implante como uma matéria que é, de propósito, inserida ou implantada no hospedeiro, podendo ser orgânica ou inorgânica. Roush (2007) cita que todos os implantes médicos são materiais estranhos colocados no organismo para ajudar ou até mesmo assumir a função da região corporal.

Já a inclusão corresponde a materiais com textura não-celular, podendo ser de origem orgânica ou inorgânica e que, se incluída no organismo, permanece temporária ou permanente, sem se integrar ao receptor e, quando esse material é modelado, constitui-se genericamente uma prótese, de natureza orgânica ou inorgânica, de origem natural ou sintética (PIGOSSI et al., 1971).

A prótese é um dispositivo biológico ou sintético implantado no corpo para suprir a função comprometida ou a falta de um órgão ou tecido (MARQUES, 2005), sendo classificado, ainda, por Pigossi et al., em 1971, como uma inclusão modelada. É um substituto artificial de uma parte do corpo humano ou animal, que foi perdida acidentalmente ou retirada de modo intencional (DE PAULO et al., 2008).

### 2.2.1 - Classificação dos enxertos

Segundo Marques (2005), os enxertos podem ser classificados de acordo com a origem do doador. Sendo assim, podem ser chamados de autoenxerto, quando o doador e receptor são o mesmo indivíduo; isoenxerto, quando o doador e receptor são gêmeos homozigóticos, também conhecidos como gêmeos idênticos; homoenxerto ou aloenxerto, quando o doador e receptor são indivíduos diferentes,

porém da mesma espécie. E, por fim, heteroenxerto ou xenoenxerto, quando o doador e receptor são indivíduos de espécies diferentes.

Outra forma de classificar os enxertos é de acordo com a sua aplicação, podendo ser chamado de ortotópico, chamado de isotópico por Pigossi et al. (1971), quando é colocado no mesmo plano de origem, por exemplo, pele para substituir pele. Ou pode ser chamado de heterotópico, quando é colocado fora do seu plano de origem, por exemplo, pele para substituir mucosa (MARQUES, 2005).

Outras formas de classificação restringem-se a enxertos cutâneos, de forma que essa classificação possa ser relacionada com a espessura. Pele parcial é aquela que contém epiderme e parte da derme, podem ser subdivididos em finos, médios e espessos. Pele total é aquele que engloba a epiderme e a totalidade da derme (MARQUES, 2005).

Já de acordo com a forma, podem ser classificados como estampilha, quando são enxertos cutâneos de espessura parcial, em pequenos fragmentos; malha ou *mesh graft*, quando são enxertos de pele parcial que sofrem pequenos cortes em toda a sua superfície, podendo-se, para isso, usar o expansor de Tanner; ou tiras, quando são tiras de pele parcial, retiradas com aparelhos próprios, como dermatomos elétricos ou facas manuais (MARQUES, 2005).

### **2.2.2 - Classificação dos implantes:**

Como os enxertos, os implantes também são classificados de acordo com o local de origem do material: implantes heterólogos são os implantes oriundos de espécies diferentes daquele que receberá o material; homólogos são os implantes oriundos de um indivíduo da mesma espécie daquele que receberá o material; e autólogos são aqueles cujo doador e receptor são o mesmo indivíduo (MARQUES, 2005).

Diferente dos enxertos, os implantes ainda podem ser classificados como sintéticos. Implantes sintéticos são aqueles produzidos em laboratório ou a partir de materiais não-celulares como, por exemplo, os metais (MARQUES, 2005).

### 2.3 - UTILIZAÇÃO DE BIOMATERIAIS COMO IMPLANTE:

A criação da Engenharia Biomédica desenvolve, com sucesso, importantes materiais biocompatíveis, visando, inclusive, à utilização desses materiais ou de produtos histocompatíveis, em Medicina Humana e em Medicina Veterinária (FILADELPHO et al., 2009).

Biomaterial é definido como qualquer substância ou combinação de substâncias que não sejam drogas ou fármacos, de origem natural ou sintética, que podem ser usadas durante qualquer período de tempo, como parte ou como todo de sistemas que tratam, aumentam ou substituem quaisquer tecidos, órgãos ou funções do corpo (ROUSH, 2007; FILHO et al., 2007; FILADELPHO et al., 2009).

Existem biomateriais metálicos, cerâmicos, poliméricos, compósitos ou recobrimentos, além dos naturais. Hoje, os biomateriais são considerados uma classe especial de materiais, devido às suas especificidades. Os seus benefícios são inúmeros na reparação de partes do corpo humano. Como característica imprescindível, estes materiais devem ser biocompatíveis, ou seja, devem ser funcionais e atender às necessidades de projeto, com o mínimo de reações alérgicas ou inflamatórias, quando em contato com tecidos vivos ou fluidos orgânicos (PASSOS, 2006; CEFET-MG, 2007).

Os implantes sintéticos são de alto custo e, frequentemente, constituem cirurgias complexas e prolongadas que implica a criação de *sítes* fracos em torno de áreas do defeito, que podem precisar de reparos posteriores (FALCÃO et al., 2008). O tipo de biomaterial a ser utilizado depende da sua área de aplicação no corpo do receptor, se atuará em tecido mole ou tecido rígido. A resistência junto com a compatibilidade são fatores bastante importantes nessa questão da escolha, visto serem os diferenciais do sucesso e do insucesso do ato cirúrgico (NUNES, 2007). Materiais biocompatíveis seguros são considerados aqueles que, ao serem submetidos a testes biológicos, e também a testes mecânicos, não mostram resultados de reatividade histopatológica, e sim apenas uma reatividade inflamatória mínima, em termos de bioincorporação e de histocompatibilidade (FILADELPHO et al., 2009). A escolha de um biomaterial adequado impõe o conhecimento de suas propriedades físico-químicas e mecânicas, bem como o de suas características biológicas, antes que possam ser usados em humanos. Assim, testes de biocompatibilidade são realiza-

dos para determinar a interação hospedeiro-material implantado, sendo a implantação em subcutâneo de roedores, como camundongos ou ratos, um dos exames iniciais, por ser um procedimento de fácil realização e por fornecer dados preliminares da resposta tecidual gerada pelo biomaterial (GASQUE et al., 2008).

As características ideais de um material para servir como implante são a de não desnaturar as proteínas plasmáticas, não formar trombos e/ou lesão de elementos sanguíneos. Além disso, não pode ser instável, nem produzir respostas imunes adversas e muito menos estimular a manifestação neoplásica. Também não pode produzir efeitos tóxicos ou teratológicos, não ser resistente à função predisposta e nem pode ser alterado negativamente pela esterilização (NUNES, 2007).

Outra vantagem do material de origem biológica está justamente na menor propensão às complicações trombóticas, além das boas características hemodinâmicas. O aspecto inerente à compatibilidade sanguínea implica uma série de características intrínsecas ao material de implante, ou seja, não destruir ou sensibilizar os elementos celulares do sangue, não alterar as proteínas plasmáticas, não causar respostas imunes diversas, não induzir à carcinogenicidade ou mutagenicidade, não produzir reações tóxicas ou alérgicas, nem depleção de eletrólitos, não ser adversamente afetado pela esterilização, apresentar estabilidade no ambiente fisiológico e não provocar calcificação (PINTO et al., 1993).

O colágeno é o biomaterial de origem natural mais amplamente utilizado devido a algumas características bem conhecidas, como a biocompatibilidade, a quimiotaxia para fibroblastos, ativação e atração de neutrófilos, e ampla disponibilidade. O colágeno é utilizado de várias formas na clínica atual, como matriz carreadora na engenharia de tecidos, como material de preenchimento no reparo ósseo, como agente hemostático, na confecção de implantes para as mais diversas especialidades médicas como, por exemplo, no tratamento de queimaduras, e como barreira física na regeneração tecidual guiada (GASQUE et al., 2008).

### 2.3.1 - Tela de polipropileno

Introduzida no final da década de 50, a tela de polipropileno tornou-se uma evolução no tratamento das hérnias abdominais, diminuindo drasticamente o índice de recidivas. Essas telas apresentam como características o fato de serem inertes na presença de infecção, manterem a força tênsil na parede abdominal e possuírem uma excelente capacidade de integração (PUTTINI, 2006; VAZ, 2007), sendo mantidas por vários anos após seu uso em organismos vivos (DINSMORE et al., 2000), embora, dependendo do local implantado, possam ocorrer a formação de aderências e a rejeição do material (MAZZINI e MANTOVANI, 1999).

Tecida em forma de malha, com fios monofilamentares entremeados por poros de 164  $\mu\text{m}$  x 96  $\mu\text{m}$ , a tela de polipropileno permite a infiltração de fibroblastos, facilita a deposição do colágeno e determina uma reação moderada de corpo estranho, preenchendo a maioria dos critérios de biocompatibilidade citados anteriormente. O seu uso tem aumentado significativamente em todo o mundo, principalmente no caso de correção dos grandes defeitos da parede abdominal causados por hérnias incisionais, traumáticas e de tumores, nas quais o tamanho do defeito, a falta de tecidos saudáveis nas margens e o excesso de tensão na linha de sutura impõem a utilização de telas. Estudos têm demonstrado que um exagerado grau de tensão ao longo da sutura é responsável por 30 a 50% das recidivas (RAMOS, 2002).

Também, com o desenvolvimento da videocirurgia e da cirurgia videoassistida para o tratamento das hérnias da parede abdominal, o uso das telas tornou-se indispensável. Na medicina humana, em razão de aproximadamente 30% dos pacientes submetidos à herniorrafia inguinal laparoscópica possuírem menos de 40 anos de idade, tais telas estão sendo implantadas em maior número de pacientes jovens, o que aumenta o contingente de pessoas sujeitas aos riscos de complicações futuras (RAMOS, 2002).

Após a implantação, esse biomaterial é envolto por tecido fibroso denso e essa fibrose é resultado da reação local da agressão tecidual, o que torna a região mais resistente à tração (VAZ, 2007).

Atualmente, em humano, por ser uma tela de fácil manuseio e relativamente barata, usa-se mais frequentemente a tela de polipropileno (SCALCO et al., 2008), apesar de, na medicina veterinária, isso ainda tenha um custo elevado para o poder aquisitivo da maioria dos proprietários. Entretanto, esta tela causa uma intensa rea-

ção inflamatória quando permanece em contato com a parede abdominal, sendo a aderência o maior resultado do processo de cicatrização (SCALCO et al., 2008). Várias são as complicações descritas com o uso de telas de polipropileno. Dentre as mais frequentes, destacam-se as fístulas intestinais; migração da prótese; erosão para o interior de vísceras; saída do implante pela cicatriz cirúrgica; sépsis e, tardiamente, hérnias incisionais (RAMOS, 2002). A contração da cicatriz pode causar dobras na tela, o que leva a uma erosão da pele por agressão mecânica, produzindo infecção, podendo levar à perda do implante e à formação de hérnia incisional (RAMOS, 2002).

### **2.3.2 - Membranas biológicas**

Membranas biológicas consistem em implantes de natureza orgânica, livres e inertes que têm como principal característica serem constituídas quase exclusivamente por colágeno e, por isso, apresentam baixa toxicidade (OLIVEIRA, 2008). Esses materiais de glicosaminoglicanos servem de moldes naturais, e sua composição química estimula a migração celular do hospedeiro com conseqüente incorporação tecidual. Essa estrutura leva a uma neovascularização e permite o remodelamento construtivo de diversos tecidos, além de diminuir a resposta inflamatória e a rejeição (SCALCO et al., 2008).

As membranas biológicas vêm sendo pesquisadas, no passar dos tempos, com o objetivo de reparar as alterações congênitas ou adquiridas no corpo e dentre estas, a falha em parede abdominal (RABELO et al., 2004).

O tecido biológico, sempre que possível, deve ser escolhido por possuir a vantagem, em relação aos materiais sintéticos, de ser incorporado ao organismo receptor e servir de suporte temporário para o processo cicatricial caracterizado pela formação de tecido conjuntivo fibroso (MAZZANTI et al., 2003).

Dentre os materiais mais estudados durante o percurso do tempo, destacam-se o centro tendíneo diafragmático, dura-máter, a fásia lata, o pericárdio e o peritônio que têm como característica comum a constituição quase exclusivamente de fibras colágenas (GUIMARÃES et al., 2007) dispostas em sentido aleatório, que é a característica do tecido conjuntivo denso não-modelado.

Falcão et al. (2008) testaram a resistência de uma membrana biológica de celulose microbiana, a partir da bactéria *Zoogloea sp.* e citam que uso de celulose microbiana tem sido sugerida em diferentes áreas da medicina como: substituição de vasos sanguíneos e linfáticos; substituto de órgãos ocos internos como traqueia, ureter e trato digestivo; substituto de dura-máter; substituto da parede abdominal, pele, tecido subcutâneo, articulação, cartilagem e reforço das áreas de menor resistência na parede abdominal, esôfago, reparação de hérnias. Porém a membrana não se mostrou tão resistente como a membrana sintética de politetrafluoretileno.

#### 2.3.2.1 - Túnica albugínea

Atualmente, a túnica albugínea começa a ser estudada como membrana biológica por possuir essa mesma constituição das outras membranas, presença exclusivamente de colágeno.

Os testículos de maneira geral têm uma cápsula de tecido conjuntivo fina, tendo o nome de túnica albugínea (ROSS e PAWLINA, 2008). Macroscopicamente, a túnica albugínea é uma cápsula branca e densa que envolve intimamente o testículo, sendo, realmente, a estrutura de sustentação de todo o testículo. Dele, projetam-se estruturas bastante delgadas que chegam ao mediastino testicular formando lobos testiculares, cujas projeções recebem o nome de septos testiculares (GETTY, 1986).

Esta membrana é composta por tecido conjuntivo denso, que é caracterizada por uma maior quantidade de fibras e um menor número de células quando comparado com o tecido conjuntivo frouxo. No caso da túnica albugínea, o tecido conjuntivo denso é classificado como não-modelado ou levemente modelado, já que possui feixes de fibras de colágeno grosseiros entrelaçados, dispostos ao acaso, formando uma rede que resiste a trações de todas as direções. Sendo assim, apresenta-se diferente do tecido conjuntivo denso modelado, em que os feixes de fibras grosseiros estão orientados em paralelos, fato que os deixa resistentes à tração em sentido longitudinal da disposição das fibras, embora sem resistência na tração no sentido transversal. (BANKS, 1992; GARTNER e HIATT, 2003).

A parte interna da túnica tem o nome de túnica vascular, uma camada de tecido conjuntivo frouxo que contém vasos sanguíneos (ROSS e PAWLINA, 2008).

Os feixes de colágenos são tão compactos que tornam limitados o espaço disponível para a substância fundamental e as células. Delicadas redes de fibras elásticas se dispersam em torno das fibras de colágeno. Além disso, os fibroblastos, as células mais abundantes do tecido, estão localizados no interstício entre os feixes de fibra (BANKS, 1992; GARTNER e HIATT, 2003).

Além de estar presente na túnica albugínea do testículo, este tipo de tecido conjuntivo denso não-modelado também pode ser encontrado na derme da pele, nas bainhas dos nervos, na cápsula do baço, nos ovários, rins e nodos linfáticos (GARTNER e HIATT, 2003).

A túnica albugínea não apresenta muita diferença em sua arquitetura histológica e anatômica dentre as espécies animais domésticas, variando apenas a espessura e a presença ou não de septos, os quais não ocorrem em algumas aves (GETTY, 1986).

Atualmente, a túnica albugínea bovina vem sendo estudada por Oliveira (2008) e Mariano (2010) como um implante heterólogo, e por Nunes (2007) como membrana biológica autóloga em cães. Tem sua utilização crescente no meio científico pelo fato de possuir uma constituição basicamente de colágenos e ser de fácil aquisição, o que diminui o custo, já que a orquiectomia em bovinos é uma prática preconizada para a criação de gado de corte no Brasil e esta, por sua vez, é uma das maiores do mundo.

## 2.4 - MEIOS DE CONSERVAÇÃO

As membranas biológicas requerem diferentes técnicas de conservação, no intuito de preservar sua viabilidade e diminuir a antigenicidade do material, sendo que esta conservação pode ser feita por congelamento ou por agentes químicos que mantêm o meio de conservação livre de micro-organismos indesejáveis, no ato de implantação do material, por possuírem ação germicida ou germiostática (MOTA et al., 2002; RABELO et al., 2004). Os meios de preservação devem possuir alto poder estabilizador, impedindo a total decomposição dos tecidos e o crescimento de micro-



organismos, além de preservarem ao máximo a integridade celular, aumentarem a resistência à tração dos tecidos e atuarem por um período de tempo prolongado (MOTA et al., 2002; GUIMARÃES et al., 2007)

A procura por um meio ideal de conservação de material biológico, tecidos e enxertos é uma questão que vem sendo estudada por muito tempo durante séculos e ainda é fonte de pesquisas até o momento (MOTA et al., 2002).

É notável que a maioria dos meios de conservação não torna viável a parte celular do material, porém já é esperado que a função das membranas não esteja relacionada com a atuação das células do implante, mas sim, com a relação biológica de reparação, uma vez que a membrana funciona como arcabouço ou suporte temporário à migração de fibroblastos (RABELO et al., 2004).

Os meios de conservação mais estudados até o momento são a glicerina 98%, solução alcoólica de tiomersal, congelamento, álcool absoluto, vaselina, glutaraldeído, solução supersaturada de açúcar, solução supersaturada de sal, polivinilpirrolidona a 5%, betapropiolactona, mel, ácido acético glacial (RABELO, et al., 2003; GUIMARÃES, 2007). O etanol a 80% vem sendo estudado também como meio de conservação em válvulas cardíacas implantadas em novilhas como substituto do glutaraldeído, já que este induz a calcificação do tecido a longo prazo (SONCINI DA ROSA et al., 2006).

#### **2.4.1 - Glicerina**

A glicerina 98% tem sido o meio amplamente divulgado como forma de preservação, já que apresenta inúmeras vantagens. É a substância química de maior utilização pelos pesquisadores e vem servindo como base para a comparação com outros meios de conservação (RODASKI et al., 2000; GUIMARÃES, 2007).

Essa solução é um poderoso antisséptico de amplo espectro, com exceção das formas bacterianas esporuladas e, por esse motivo, no momento da reidratação, deve-se utilizar uma solução aquosa de iodo a no mínimo 1% durante 1 hora (RAISER et al., 2001). A glicerina desidrata o tecido rapidamente, substituindo a maior parte da água intracelular, sem, entretanto, alterar a concentração iônica das células, protegendo sua integridade (RABELO et al., 2004).

Tal solução foi utilizada na preservação de pericárdio de equino, de peritônio bovino e jejuno. Além de ser de baixo custo, pode ser mantida à temperatura ambiente (NOLASCO et al., 2003). Além dessas características, a glicerina reduz a antigenicidade do material conservado em seu meio, preservando também sua textura (RABELO et al., 2004).

Desde a década de 80, alguns autores, como Daleck et al. (1987) e Alvarenga (1992), relataram que, ao se conservar uma membrana biológica em glicerina a 98%, sob temperatura ambiente, por período superior a 30 dias, preserva-se sua textura, seu grau de elasticidade e sua resistência (OLIVEIRA, T. C. et al., 2008).

Para a utilização do material conservado em glicerina a 98%, este precisa ser reidratado, antes de ser transplantar, por um período variável, dependendo do tipo do material conservado, pelo fato de que, como já foi dito, a glicerina retira a água do tecido rapidamente, o que deixa o tecido com o tamanho e o formato diferentes do real (RAISER et al., 2001).

A reidratação mínima é de 1 hora, porém, em relato de Raiser et al. (2001), com utilização de tendões calcâneos de cães, a reidratação foi realizada por 24 horas.

## 2.5 – DESINFECÇÃO, ANTISSEPSIA E ESTERILIZAÇÃO

Desde os primórdios das atividades referentes à área de saúde, o ser humano batia com o fator infecção, geralmente perdendo a batalha. Essas derrotas, porém, vêm, através da história, diminuindo em número, devido às atitudes que gradualmente foram sendo priorizadas – a limpeza, a higiene, as boas condições ambientais e alimentares -, evoluindo para a desinfecção e a esterilização de materiais hospitalares, entre outros fatores não menos importantes. A desinfecção e a esterilização garantem condições para a recuperação dos pacientes, bem como para a segurança dos mesmos e das equipes de profissionais de saúde envolvidas nas atividades hospitalares (KALIL e COSTA, 1994).

Por definição, os dois procedimentos diferem quanto à capacidade para eliminação dos esporos, propriedade inerente à esterilização (KALIL e COSTA, 1994; MORIYA e MÓDENA, 2008).

A descontaminação é o processo pelo qual um objeto tem removidos os micro-organismos patológicos, tornando-se seguro para ser manuseado pelos profissionais competentes (KALIL e COSTA, 1994).

O material usado nos cuidados aos pacientes é dividido em três distintas categorias, baseando-se no grau de risco de infecção envolvido, em artigos críticos, artigos semicríticos e artigos não-críticos (KALIL e COSTA, 1994).

Os artigos não-críticos são os que entram em contato apenas com a pele íntegra, como, por exemplo, os lençóis, os manguitos de esfigmomanômetros e muletas. Os artigos semicríticos são os objetos que entram em contato com pele lesada ou mucosa, devendo estar livres de todos os micro-organismos, com exceção dos esporos bacterianos. Pertencem a este grupo os equipamentos de anestesia e de terapia respiratória, endoscópios gastrintestinais e termômetros. Os artigos críticos oferecem alto risco de infecção hospitalar, caracterizados pela contaminação com micro-organismos ou esporos bacterianos. São incluídos nesta categoria o material cirúrgico, os cateteres cardíacos e vesicais, os implantes, os fluidos para aplicação intravenosa e as agulhas de punção (KALIL e COSTA, 1994).

### **2.5.1 – A desinfecção**

Desinfecção é o processo que elimina todos os micro-organismos ou objetos inanimados patológicos que inativa sua toxina ou inibe o seu desenvolvimento, com exceção dos esporos bacterianos. Esse processo não deve ser confundido com a esterilização, visto que não elimina totalmente todas as formas de vida microbiana (KALIL e COSTA, 1994; MORIYA e MÓDENA, 2008).

A desinfecção é classificada de acordo com o nível de eliminação dos micro-organismos patológicos. Na desinfecção de baixo nível, os agentes utilizados apresentam atividade antibacteriana sobre a maioria das bactérias, alguns vírus e fungos, porém não inativam os micro-organismos mais resistentes (micobactérias e esporos bacterianos); Na desinfecção de nível intermediário, os agentes aplicados são eficientes para destruir as bactérias vegetativas (incluindo micobactérias da tuberculose), a maioria dos vírus e fungos; e por fim, na desinfecção de alto nível, os agentes aplicados são eficientes na destruição de todos os micro-organismos presentes, com exceção de esporos bacterianos (VENTURELLI et al., 2009).

A desinfecção associada à esterilização utiliza agentes que são capazes de destruir e eliminar todos os tipos de micro-organismos, inclusive de esporos bacterianos, reduzindo e, por vezes, inativando substancialmente os príons e as proteínas tóxicas (VENTURELLI et al., 2009).

Alguns desinfetantes como o cloro, glutaraldeído e o formol podem eliminar esporos com tempo de exposição prolongado (6 a 10 horas), sendo assim chamados de quimioesterilizadores. Em concentrações similares, esses mesmos desinfetantes, em período de exposição menor do que 30 minutos, por exemplo, podem eliminar micro-organismos vivos, com exceção dos esporos bacterianos, sendo então denominados desinfetantes de alto nível. Outros podem destruir bactérias vegetativas, fungos e vírus lipofílicos em aproximadamente 10 minutos (desinfetantes de baixo nível) e há os que destroem o bacilo da tuberculose e os vírus hidrofílicos em períodos superiores a 30 minutos (desinfetantes de nível intermediário) (KALIL e COSTA, 1994).

### **2.5.2 – A antissepsia**

Os micro-organismos encontrados na pele e nas mucosas são chamados de microbiotas residentes, transitória e temporariamente residentes. A microbiota residente é definida como micro-organismos persistentes isolados na pele da maioria dos animais, e constituída por aqueles que conseguem aderir, sobreviver e colonizar a superfície das células epiteliais. Esses micro-organismos multiplicam-se em perfeito equilíbrio com os mecanismos anti-infecciosos locais do hospedeiro, constituindo, portanto, a população estável que só pode ser removida parcial e temporariamente pela descamação celular natural ou forçada por procedimentos de degermação e/ou antissepsia, muito importantes para a cirurgia, por destruírem ou inibirem o crescimento de micro-organismos existentes nas camadas superficiais (microbiota transitória) e profundas (microbiota residente) da pele e de mucosas, pela aplicação de agentes germicidas classificados como antissépticos. (CARDOSO et al., 2006).

### 2.5.3 - A esterilização

Esterilização é a eliminação ou destruição completa de todas as formas de vida microbiana (bactérias nas formas vegetativas e esporuladas, fungos) e viral, sendo executada no próprio hospital por meio de processos físicos, basicamente o calor e a pressão, ou químicos, utilizando-se substâncias químicas (KALIL e COSTA, 1994; MORIYA e MÓDENA, 2008). Toda esterilização deve ser precedida de lavagem e enxaguadura para remoção de detritos (MORIYA e MÓDENA, 2008).

A esterilização por meio físico-químico é realizada em autoclaves onde ocorre a combinação de solução de formaldeído com vapor saturado, a uma temperatura entre 50°C a 78°C. A palavra quimioesterilizante é utilizada para designar um pequeno grupo de compostos químicos (óxido de etileno, formaldeído e glutaraldeído) que, quando monitorados, promovem a destruição de bactérias esporuladas (SALMON, 2008).

#### 2.5.3.1 – O formaldeído como quimioesterilizante

O formaldeído ( $\text{CH}_2\text{O}$ ) é um líquido límpido, incolor, picante, sabor cáustico e irritante para as mucosas, como nariz, faringe e olhos. Também chamado aldeído fórmico, formol, formalina, é o mais simples dos aldeídos, resultando da oxidação parcial do álcool metílico (MORIYA e MÓDENA, 2008; SALMON, 2008) e é altamente solúvel em água (SALMON, 2008). O gás é incolor, inflamável (em concentrações superiores a 7% no ar), biodegradável, cáustico para a pele e mucosa, possui um odor forte e irritante em concentrações superiores a 1 ppm (parte por milhão) (SALMON, 2008). É usado como desinfetante ou esterilizante nas formas gasosa ou líquida (KALIL e COSTA, 1994; MORIYA e MÓDENA, 2008).

As soluções comerciais de formol ou formalina apresentam diluições a partir de concentrações de formaldeído entre 37% a 40%, chamadas comercialmente de pura. A formalina em solução aquosa a 10% (formaldeído a 4%, corretamente) é amplamente empregada na fixação e conservação de tecidos (FONSECA, 2007).

O formol é um potente bactericida, fungicida, agindo também contra vírus, bacilos da tuberculose e esporos bacterianos (KALIL e COSTA, 1994; FARIA et al., 1998; MORIYA e MÓDENA, 2008; SALMON, 2008). O mecanismo de ação do for-

maldeído envolve a alquilação entre a aldoxila e os átomos de hidrogênio dos radicais amino (-NH<sub>2</sub>); hidroxila (-OH); carboxila (-COOH); sulfidril (-SH) das proteínas; e ácidos nucleicos microbianos, formando pontes metilênicas ou etilênicas que impedem que estes componentes vitais cumpram suas funções celulares (FARIA et al., 1998; SALMON, 2008). O formol desnatura as proteínas, reagindo com os grupos amino livres, e isso faz a transformação de toxina em toxoide ou antoxina, conservando assim o poder de antigenicidade (MORIYA e MÓDENA, 2008). A sua ação esporicida é ativada pela combinação com o aquecimento e, permanecendo constantes a umidade e a temperatura, o aumento da concentração de formaldeído elevará o índice de destruição dos esporos, impedindo que colônias de microorganismo cresçam (SALMON, 2008).

O processo de esterilização que associa o quimioesterilizante com o calor é chamado de esterilização por baixa temperatura e é fundamentado na capacidade de inativar as células mediante a coagulação de proteínas e metilação dos ácidos nucleicos, utilizando, mais comumente, o formaldeído como um agente microbicida, virucida e esporicida de amplo espectro de atividade junto com calor que pode ser mais baixo que o habitual, não danificando os materiais termossensíveis (FARIA et al., 1998; GRAZIANO et al., 2002; SALMON, 2008). A esterilização pelo gás de formaldeído, em condições ambientais de pressão e temperatura, é bastante duvidosa, tendo em vista que o poder de penetração do vapor, nessas condições, é precário. O aumento de temperatura e da pressão no recipiente onde o material é colocado ajuda a penetração do gás (formaldeído) no material, já que atividade de um germicida aumenta com a elevação da temperatura (FARIA et al., 1998).

O formaldeído é preferido muitas vezes por ter um baixo custo, pequeno risco de explosão, e baixa ação residual. A exposição do material ao ar livre, após a esterilização e antes do procedimento cirúrgico, favorece a redução da concentração residual dessa substância (FARIA et al. 1998; SALMON, 2008), o que diminui o risco de intoxicação pela exposição direta com o produto.

No Brasil, o uso do formaldeído obtido por meio de sublimação do paraformaldeído, como método de esterilização, sempre esteve presente nos hospitais, mesmo com o advento do gás óxido de etileno. Porém, as pesquisas sobre as condições de esterilização de materiais por esse produto são escassas (FARIA et al. 1998). Em 1985, o Ministério da Saúde do Brasil adotou como metodologia oficial de análise para aprovação de agentes químicos esterilizantes, a mesma dos Estados

Unidos, que segue a preconizada pela *Association of Official Analytical Chemists-AOAC*, porém os autores estabelecem parâmetros diferentes para a esterilização de superfície dos artigos por meio do formol, utilizando diversos métodos de análise (GRAZIANO et al., 2002).

Graziano (1989), utilizando os parâmetros seguros para a esterilização em condições ambientais utilizando as pastilhas de paraformaldeído, seguiu a metodologia da AOAC, oficialmente adotada pelo Ministério da Saúde do Brasil. Os resultados do experimento indicaram, para a efetividade da esterilização frente aos esporos do *B.subtilis* ATCC 19659 e *C.sporogenes* ATOC 3584, a necessidade de uma concentração do agente químico a 3%, à temperatura da estufa, regulada nos 50°C, com tempo de exposição de 4 horas e umidade relativa de 100%.

O trabalho de Miranda et al. (1993), que utilizaram formol tamponado a 4%, em temperatura e pressão naturais na conservação de homoiimplantes otológicos por até 9 anos, resultou que, em 55 amostras testadas, não houve crescimento de bactérias e/ou fungos. Este dado permite inferir que a solução de formaldeído a 4% está plenamente adequada como agente esterilizador, uma vez que obtiveram 100% de sucesso na esterilização.

Faria et al. (1998), utilizando temperatura de 37°C, formol a 37% e exposição por 3 horas, obtiveram a esterilização de todos os materiais em estudo.

Em maio de 2005, a *Infection Control and Hospital Epidemiology* publicou em sua revista um estudo comparativo do óxido de etileno, plasma de peróxido de hidrogênio à baixa temperatura e formaldeído, no qual os micro-organismos foram inativados em todas as avaliações, concluindo-se eficácia na morte microbiana (SALMON, 2008).

Pinto et al. (1993) utilizaram o banho em formol fundamentado exatamente no aspecto de esterilização e manutenção do material, pronto até o momento da implantação, e chegaram ao resultado de que tanto o formol como glutaraldeído demonstraram ser tóxicos, embora em níveis diferentes. Sendo assim, Pinto et al. (1993) concluíram que a prática de lavagem da prótese valvular biológica merecia aperfeiçoamento, visto permanecer o residual dos agentes de esterilização em níveis ainda tóxicos.

Para a utilização do formaldeído como produto de utilização em seres vivos, a ANVISA preconiza o limite máximo de uso permitido de 0,2%, conforme a Resolução

162/01. A ANVISA alega ainda que o risco do formol em sua aplicação indevida é tanto maior quanto maior a concentração e a frequência do uso (ANVISA, 2010).

## 2.6 - INFLAMAÇÃO

A inflamação é uma das principais defesas do corpo contra qualquer forma de agressão. A inflamação é a resposta vascular e celular dos tecidos vivos à agressão, que resulta em alterações passivas e químicas nas células ou tecido agredido, as quais desencadeiam o processo inflamatório. A manifestação da inflamação se dá, geralmente, por vermelhidão, calor, tumefação local e dor. Esses sinais cardeais da inflamação foram identificados há muitos séculos e, após alguns anos, foi acrescentado também outro sinal, a perda da função, pela tendência de o organismo não utilizar o órgão lesado (THOMSON, 1983).

A função do processo inflamatório é minimizar o efeito de um irritante no tecido agredido em questão. A principal resposta à agressão é o acúmulo de líquidos e células numa área lesada. O objetivo principal desses líquidos e células é diluir, localizar, destruir e remover o irritante e induzir a substituição de quaisquer porções de tecido lesado. O conjunto de líquido e células é chamado de exsudato (THOMSON, 1983).

A resposta inflamatória é uma resposta inata que independe da natureza do agressor e da existência ou não de contatos prévios com o mesmo. Embora o principal objetivo da inflamação seja deter a agressão, ela pode se dar de maneira generalizada e inespecífica, acabando por atingir o tecido adjacente da lesão (DUARTE, 2003).

A inflamação consiste em três componentes, o crescimento da permeabilidade capilar na área afetada, o aumento do suprimento sanguíneo no local da lesão e o deslocamento das células sanguíneas para os tecidos. Os neutrófilos, geralmente, são as primeiras células a surgirem no local da agressão, e são seguidas pelos macrófagos e linfócitos (DUARTE, 2003).

A inflamação pode ser caracterizada como *aguda* ou *crônica*. A inflamação aguda é uma maneira eficiente de o organismo neutralizar, inativar ou eliminar o a-



gente causador da lesão, podendo ser classificada de acordo com as características do exsudato, e ser dividida em (MONTENEGRO e FECCHIO, 1999):

**Inflamações serosas:** são classificadas como inflamações predominantemente constituídas por líquido. O líquido que se acumula contém macromoléculas (albumina), algumas células, especialmente neutrófilos e hemácias.

**Inflamações fibrinosas:** são aquelas cujo exsudato contém uma grande quantidade de proteínas plasmáticas, incluindo o fibrinogênio. A fibrina se deposita nas superfícies formando camadas que lhe conferem um aspecto característico, permitindo um diagnóstico macroscópico seguro.

Ainda segundo Montenegro e Fecchio (1999), a inflamação aguda pode ainda ter quatro tipos de evolução:

- **Resolução ou regeneração:** quando a lesão é pequena, o organismo se recupera e tudo volta ao normal;
- **Cicatrização:** quando há destruição do tecido, a área foi reparada e substituída por uma cicatriz (tecido conjuntivo – colágeno);
- **Formação de abscesso:** quando agentes piogênicos se instalam na profundidade dos tecidos.
- **Progressão para inflamação crônica:** quando o agente inflamatório não consegue ser eliminado pelo processo inflamatório agudo.

A inflamação crônica é caracterizada quando o agente agressor é inerte, pouco agressivo ou quando é persistente à inflamação aguda. Assim, em vez de um exsudato rico em líquido, fibrina e neutrófilos, ocorrerá um aumento na proporção de linfócitos, macrófagos, proliferação de vasos e de fibroblastos com deposição de colágeno. Esse tipo de inflamação é diferente da aguda em virtude da sua longa duração, pela ausência ou pouca evidência dos quatro sinais cardinais da inflamação e, principalmente, pela prevalência de monócitos. A inflamação crônica geralmente é precedida por uma ou várias inflamações agudas, porém, em outros casos, pode se desenvolver quase sem evidenciar manifestações clínicas como, por exemplo, as doenças causadas por reações imunológicas (DUARTE, 2003).

As inflamações são classificadas por Duarte (2003) em:

**Inflamações crônicas específicas:** quando os elementos da reação têm feição de nódulos e seu limite é mais ou menos preciso (granulomas). As células que

predominam essa inflamação são os macrófagos e o processo é pouco vascularizado.

**Inflamações crônicas inespecíficas:** quando a disposição dos diferentes elementos nas reações não sugere as suas etiologias. Nesta, o exsudato inflamatório é rico em células linfomononucleares, proliferação de vasos neoformados e de tecido conjuntivo fibroso.

## 2.7 - REPARAÇÃO TECIDUAL (CICATRIZAÇÃO)

A cicatrização é um fenômeno físico, químico e biológico, que ocorre logo após a lesão tecidual, permitindo o restabelecimento da integridade e da função dos tecidos afetados (BATISTA et al., 2006).

O processo de reparação tecidual compreende quatro fases: inflamação, debridamento, proliferação e reparo e, por fim, a maturação. A inflamação inicia-se no momento em que ocorre a perda de integridade tecidual, com a formação de coágulo estabilizando as bordas da ferida, seguida pela liberação de enzimas e fatores quimiotáticos. A migração de células inflamatórias e o debridamento ocorrem quando se forma um exsudato composto de leucócitos, tecidos mortos e fluidos do ferimento com a participação de neutrófilos, monócitos, plaquetas e linfócitos. Isso auxilia na remoção de tecidos necróticos, coágulos e do corpo estranho (ZIMMERMANN, 2007)

A fase de proliferação e reparo é caracterizada pelo aumento de fibroblastos que migram para o interior do ferimento para sintetizar e depositar colágeno, elastina, e proteoglicanos (ZIMMERMANN, 2007). À medida que o teor de colágeno dos tecidos aumenta, a fibrina desaparece e o número de fibroblastos e a velocidade de síntese diminuem, marcando o final da fase de reparação (FOSSUM, 2008). A necessidade de oxigênio para movimentação, migração celular e síntese proteica é responsável pelo brotamento e crescimento neovascular da periferia para o centro da ferida que geralmente é hipóxica (FOSSUM, 2008). A angiogênese está presente em todo o processo de reparação, independentemente do tecido acometido pela injúria. É reconhecida como um fenômeno de grande importância para a reparação dos tecidos. Os fatores que estimulam a angiogênese durante o processo de repara-

ção não são ainda totalmente conhecidos. Os principais envolvidos são fatores de crescimento de células endoteliais e alguns fatores quimiotáxicos (ZIMMERMANN, 2007).

A última fase, chamada de maturação, caracteriza-se pelo incremento total de colágeno, seu remodelamento e orientação ao longo das linhas de tensão. As collagenases atuam na dissolução do colágeno de fibras desorientadas, havendo diminuição do colágeno tipo III e aumento do colágeno tipo I. O número de capilares diminui no tecido fibroso, formando cicatrizes pálidas e menos celulares (FOSSUM, 2008).

## 2.8 – RESISTÊNCIA À TRAÇÃO

A resistência dos materiais estuda o comportamento dos sólidos quando estão sujeitos a diferentes tipos de carregamentos. Esta ciência é conhecida como Mecânica dos Sólidos e Mecânica dos Corpos Deformáveis (HIBBELER, 2009).

A resistência à tração é uma das propriedades mais importantes dos materiais, porque, por intermédio de sua determinação, podem ser obtidas características significativas do material, tanto no projeto, quanto no controle de qualidade (PASSOS, 2006).

Tanto a resistência à tração, como também as outras propriedades mecânicas, depende do tipo de material, do teor de elementos de liga, das condições de fabricação e tratamento, da estrutura, da temperatura, entre outros (PASSOS, 2006).

A tensão é a força por unidade de área. Quando um material está sendo alongado por uma força **P**, a tensão resultante é uma tensão de tração; se as forças tiverem o sentido oposto, comprimindo o material, a tensão é de compressão (SENAI, 2004; HIBBELER, 2009).

A unidade no Sistema Internacional de Unidades (SI) para tensão é o Pascal (Pa), ou seja,  $1 \text{ N/m}^2 = 1 \text{ Pa}$ . Além disso, pode-se utilizar o MPa (Mega Pascal) =  $1 \times 10^6 \text{ N/m}^2 = 1 \text{ milhão de N/m}^2$  (SENAI, 2004; HIBBELER, 2009).

Para o melhor entendimento do valor atingido pelo material, este pode ser convertido em  $1 \text{ MPa} = 10,2 \text{ kgf/cm}^2$ , e entende-se que cada  $1 \text{ cm}^2$  do material suporta um peso de aproximadamente 10 kgf (HIBBELER, 2009).

Alguns pesquisadores vêm fazendo testes de resistência à tração em materiais biológicos, embora a padronização do teste ainda não seja uma verdade. Alguns autores fazem os testes após a implantação, outros utilizam os materiais *in natura* e outros ainda utilizam o material conservado. Assim, é necessária uma padronização do estudo tensiométrico para que seja possível a comparação e discussão dos resultados de forma mais fidedigna.

Batista et al. (1996) tiveram como finalidade testar a resistência à tração e a elasticidade de peritônios de bovino, equino, suíno e canino, assim como estabeleceram uma comparação entre as membranas dessas espécies. Para isso, foram obtidos os corpos de prova, padronizados nas dimensões de 6 mm de largura e 50 mm de comprimento. Os ensaios de tração foram realizados em corpos de prova a fresco, e os resultados, quando analisados os alongamentos em função das cargas aplicadas, mostraram comportamentos heterogêneos, e o ponto de ruptura das membranas foi bastante diferente entre as espécies.

Bastos et al. (2005) utilizaram o peritônio bovino como material de substituição da tela de polipropileno e, para testarem a resistência desse material em comparação com a tela de polipropileno, utilizou-se o material implantado para realizar o teste, sendo os fragmentos de músculo e implante seu corpo de prova. O resultado obtido foi o mesmo para a membrana e para a tela de polipropileno quanto à resistência do material.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 - COLETA DA TÚNICA ALBUGÍNEA

O material foi coletado a partir de castrações realizadas em bovinos saudáveis, devidamente vacinados, destinados ao corte na região do Norte Fluminense.

Os testículos foram acondicionados em sacolas individuais, colocados em recipientes térmicos com temperatura baixa e encaminhados para o Hospital Veterinário da UENF, onde as túnicas foram processadas assepticamente (Fig. 1).

Após a individualização dos testículos, separando-os de todas suas estruturas adjacentes (fig. 2), estes foram abertos no seu eixo longitudinal na área onde ocorreu a desinserção do epidídimo (fig. 3). Em seguida, foi retirado o parênquima testicular, descolando-o da túnica albugínea (fig. 4 e 5), e algum resquício do parênquima que permaneceu foi retirado mecanicamente por raspagem, com a utilização da borda não-cortante de uma lâmina de bisturi descartável número 22.



Figura 1: Testículo bovino após castração, individualizado em sacola plástica e armazenado em recipiente térmico com gelo.



Figura 2: Preparo da membrana: Individualização do testículo de bovino, separando-o do epidídimo no ponto de inserção entre os dois.



Figura 3: Preparo da membrana: Abertura do testículo com bisturi no seu eixo longitudinal no local onde estava inserido o epidídimo.



Figura 4: Preparo da membrana: descolamento da túnica albugínea do parênquima testicular com o auxílio do dedo polegar. Observa-se a retirada da túnica albugínea e a vascular.



Figura 5: Preparo da membrana: Túnica albugínea bovina separada do parênquima testicular.

As túnicas, por sua vez, foram lavadas com solução de soro fisiológico estéril, e imediatamente imersas individualmente em recipientes estéreis contendo formaldeído a 10% por um período de 1 hora. Após esse processamento, as membranas foram novamente lavadas com solução fisiológica estéril e imersas em recipientes estéreis com glicerina a 98% também estéril, armazenadas em ambiente limpo sem

incidência de luz durante 30 dias antes da implantação. Cada frasco possuía duas membranas, uma de cada testículo do mesmo animal.

### 3.2 - TESTE DE REAÇÃO DO ORGANISMO AO IMPLANTE

Foram utilizados 41 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), machos e adultos. Os procedimentos cirúrgicos foram realizados no Laboratório da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental do Hospital Veterinário da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Os animais ficaram alojados individualmente em gaiolas e alocados no Núcleo de Estudos e Pesquisa em Animais Selvagens (NEPAS) e permaneceram por 7 (sete) dias para ambientação.

Antes e após os procedimentos cirúrgicos, os animais permaneceram em condições de temperatura e de luminosidade naturais e foram alimentados com ração própria e água potável *ad libitum*.

O protocolo experimental foi submetido à apreciação da Comissão de Ética de Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro pelo protocolo nº 110.

#### 3.2.1 - Grupos de estudo

Foi avaliada a biocompatibilidade de um implante de túnica albugínea bovina, preparado em formaldeído 10% e conservado em glicerina 98% estéril por meio do processo de autoclavagem, comparado com uma tela de polipropileno na correção de defeitos criados na parede abdominal em 41 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*).

Grupo A: Animais que tiveram a implantação de tela de polipropileno no defeito da parede abdominal. O grupo foi dividido em dois subgrupos: A1 com animais eutanasiados, com 15 dias após a implantação, e A2 com animais eutanasiados, com 30 dias após a implantação. Foram utilizados 12 animais divididos em igual número para cada subgrupo.

Grupo B: Animais que tiveram a implantação da membrana biológica (túnica albugínea) tratada com formaldeído 10%, reidratada somente com uma imersão de



solução fisiológica por 1 hora antes de ser implantada. O grupo foi dividido em dois subgrupos: B1, com animais eutanasiados 15 dias após o procedimento de implantação e B2, com animais eutanasiados 30 dias após a implantação.

Grupo C: Animais que tiveram a implantação da membrana biológica (túnica albugínea) tratada em formaldeído 10%, reidratada com duas imersões em solução fisiológica, sendo cada imersão por 30 minutos no mínimo. O grupo foi dividido em dois subgrupos: C1, com animais eutanasiados com 15 dias após a implantação, e C2, com animais eutanasiados com 30 dias após a implantação.

Grupo D: Animais que tiveram a implantação da membrana biológica conservada somente na glicerina estéril e reidratada por uma imersão de 1 hora em solução fisiológica. Foram utilizados cinco animais eutanasiados com 15 dias após a implantação da membrana biológica.

### 3.2.2 - Tela de polipropileno

A tela escolhida para o procedimento foi a de polipropileno (Intracorp®) tecida em forma de malha, com fios monofilamentares entremeados de poros de 164  $\mu\text{m}$  x 96  $\mu\text{m}$  e apresentando uma espessura de 0,7 mm. Foram cortados fragmentos de tela de 3 cm de comprimento por 2 cm de largura e estes foram armazenados individualmente em embalagem autoclavável e esterilizados por autoclave (fig. 6).

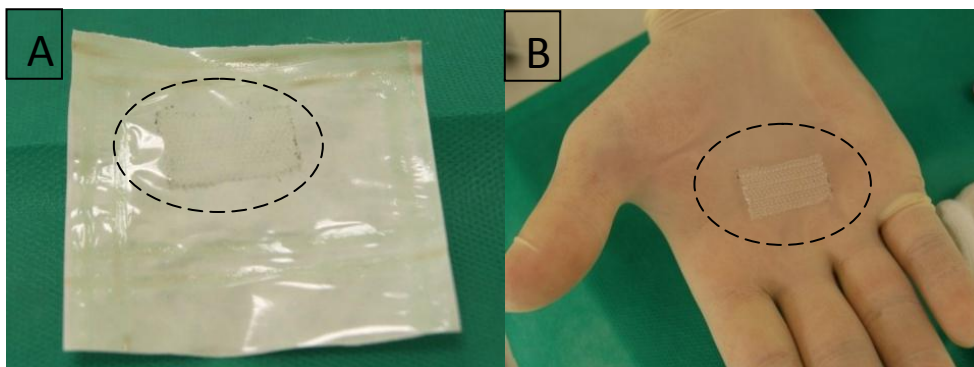


Figura 6: Tela de polipropileno cortada, em embalagem estéril em destaque (A) e, após a abertura da embalagem, para implantação em destaque (B).

### 3.2.3 - Técnica cirúrgica

Foi realizada uma anestesia dissociativa com a utilização de cetamina ( $75 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ), midazolam ( $1,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e xilazina ( $10 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) por via intraperitoneal. Os animais eram colocados em decúbito dorsal, com os membros fixados em abdução. Após a tricotomia ampla e antissepsia com solução de polivinilpirrolidona iodo tópico (fig 7), a região operatória era demarcada com a aplicação do campo cirúrgico estéril (fig. 8).



Figura 7: Rato Wistar com tricotomia abdominal e antissepsia com PVPI® tópico, posicionado em decúbito dorsal para a operação. Sala de Técnicas Cirúrgicas - UENF.

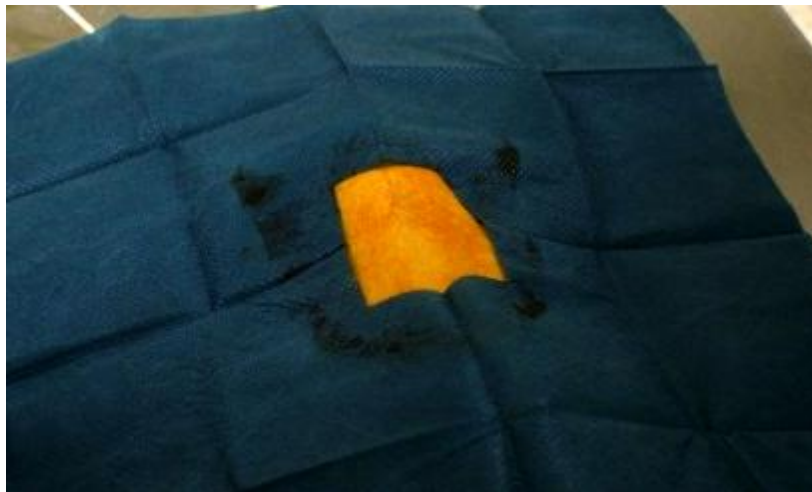


Figura 8: Rato Wistar posicionado em decúbito dorsal, com campo cirúrgico delimitando a área operatória. Sala de Técnicas Cirúrgicas – UENF.

Foi feita uma incisão de pele na região abdominal mediana de 5 cm de extensão. Após atingir o plano músculo-aponeurótico, o tecido subcutâneo adjacente era descolado de sua inserção com o auxílio de um bisturi, nos sentidos crânio-caudal e látero-lateral, com a finalidade de expor amplamente a camada músculo-aponeurótica do abdômen (fig. 9).

Partindo do ponto médio entre o processo xifóide do osso esterno e a sínfise púbica, era criado um defeito, medindo 3 cm x 2 cm, comprometendo todas as camadas da parede abdominal (fig. 10). Um segmento de tela, com as dimensões já citadas, servia de modelo para a confecção dos defeitos em todos os animais do experimento.

Após a retirada do fragmento, os implantes específicos de cada grupo eram inseridos, utilizando nylon 3-0 para a fixação dos mesmos na parede abdominal. Para fixação, eram utilizados oito pontos simples dispostos em pontos cardiais e entre eles (fig. 11).

Para a síntese da pele, foi utilizado o nylon 3-0 também com pontos simples interrompidos (fig. 12).



Figura 9: Incisão na linha média abdominal expondo toda a camada músculo-aponeurótica. Sala de Técnicas Cirúrgicas – UENF.

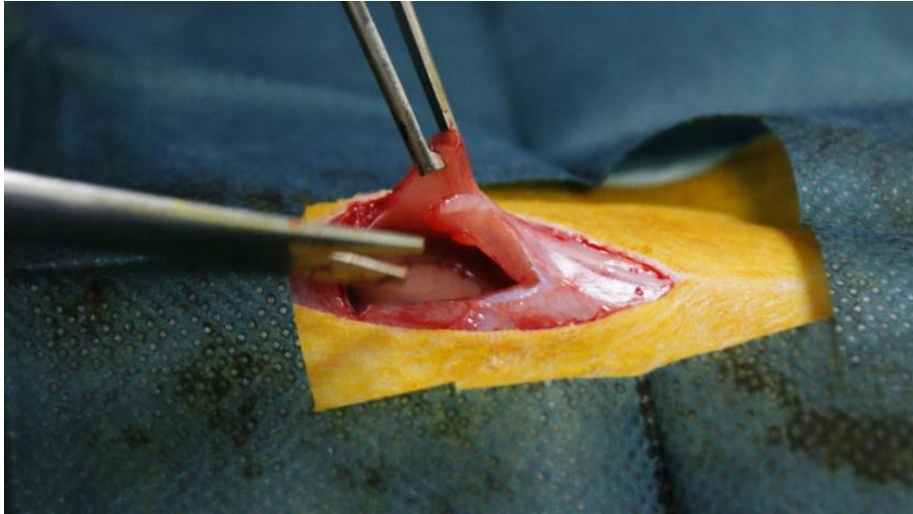


Figura 10: Criação do defeito de 3 cm x 2 cm na parede abdominal de rato Wistar para posterior implantação do material. Sala de Técnicas Cirúrgicas – UENF.



Figura 11: Fixação da membrana biológica, com pontos simples separados de nylon 3-0, na parede abdominal de rato Wistar. Sala de Técnicas Cirúrgicas – UENF.



Figura 12: Síntese da pele, com pontos simples interrompidos, após a implantação da membrana na parede abdominal de ratos Wistar. Sala de Técnicas Cirúrgicas – UENF.

### 3.2.4 - Coleta do material pós-operatório e análise de reação tecidual

Realizada a implantação da tela de polipropileno e da túnica albugínea, os ratos foram transferidos para o NEPAS e, após um período de retorno anestésico, a alimentação foi reinstituída.

Os animais foram acompanhados diariamente para a avaliação das feridas cirúrgicas e suas possíveis complicações, podendo sofrer intervenção imediata caso ocorressem.

Durante os 30 dias em que os animais permaneceram em observação clínica, os seguintes parâmetros foram analisados:

- a) presença de seroma;
- b) presença de hematocisto;
- c) sinais de infecção;
- d) presença de hérnia incisional;
- e) deiscência de pontos.

Essa avaliação macroscópica constou na avaliação das feridas cirúrgicas e estas foram graduadas durante todo período pós-operatório quanto ao aspecto: em satisfatório, quando as feridas não tinham secreções, infecções ou sinais de deis-



cência; ou insatisfatório, quando as feridas apresentavam secreções, infecções e sinais de deiscências.

Após 15 e 30 dias, os animais foram eutanasiados de forma ética, seguindo o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), com a utilização de anestesia geral barbitúrica até o aprofundamento anestésico, para coleta dos implantes. Estas, posteriormente, foram enviadas para exame histopatológico, as quais foram acondicionadas em recipiente próprio, contendo solução de formaldeído tamponada neutra a 10%, com intuito de observar os aspectos cicatriciais em todos os grupos estudados. Foram avaliados os graus de reação tecidual, de aderência e de evolução do tecido de granulação.

O grau de aderência dos biomateriais implantados às estruturas intra-abdominais foi analisado logo no momento da coleta, sendo mensurado de acordo com Scalco et al. (2008) e se deu da seguinte forma:

- 0** – Ausência de adesões.
- 1** – Aderências finas e de fácil liberação.
- 2** – Aderências que necessitam de dissecção romba para a liberação.
- 3** – Aderências firmes onde a lise da aderência só pode ser feita com aplicação de força importante, ocorrendo lesão parcial ou total da víscera envolvida.

Depois da fixação, as peças foram encaminhadas para o Laboratório de Morfologia e Patologia Animal (LMPA) do Hospital Veterinário da UENF, onde foram clivadas (Fig. 13) e processadas (reidratadas em solução aquosa alcoólica, diafanizadas em xilol e embebidas) por inclusão em parafina (Processador Automático de Tecidos – LEICA TP1020), cortadas (Micrótomo Semiautomático – LEICA RM2145) em 5  $\mu$ m e coradas pela Hematoxilina e Eosina (HxE) (PROPHET et al., 1994).



Figura 13: Material coletado da parede abdominal de ratos Wistar com o implante após a necropsia, sendo clivado para posterior preparação da lâmina de microscopia. Laboratório de Patologia Veterinária – UENF, 2010.

Para determinação do grau de inflamação, fibrose da ferida cirúrgica e processo de absorção e viabilidade do implante, foi utilizado um sistema de escore numa análise semiquantitativa.

Para determinar um escore de grau de inflamação, foram escolhidos dez campos microscópicos com aumento de 400x, nas lâminas de cada animal de cada um dos grupos. Então, foram contadas as células polimorfonucleares e as mononucleares, para determinar o tipo e o grau de processo inflamatório, já que segundo Nunes (2007), a reação inflamatória aguda é caracterizada por predominância de polimorfonucleares, e a reação crônica, por mononucleares. Seguiram-se os seguintes escores segundo Nunes (2007), modificado:

**0** - Ausência de reação inflamatória devido à presença de poucas células inflamatórias, com número inferior a 10 polimorfonucleares e mononucleares por campo.

**1** - Reação inflamatória aguda leve caracterizada por predominância de polimorfonucleares com 10 a 150 células por campo, com raros mononucleares, número inferior a 10 células por campo.

**2** - Reação inflamatória aguda moderada, com predominância de polimorfonucleares, com número superior a 150 células por campo, associada à supuração,

caracterizada por presença de reação piogênica, granuloma piogênico e microabscesso.

**3** - Reação inflamatória crônica, com predominância de mononucleares, com número superior a 50 células por campo e com raros polimorfonucleares, inferiores a 10 células por campo.

**4** - Reação inflamatória crônica leve com predominância de mononucleares, com número inferior a 50 células por campo e com raros polimorfonucleares, número inferior a 10 células por campo.

Foram observadas também a presença de fibroblastos, a neovascularização, a síntese e a deposição de colágeno, para determinar o grau de fibrose na linha de sutura, tendo em vista o processo de cicatrização. Seguiram-se os seguintes escores de acordo com Nunes (2007), modificado:

**1** - Granulação em 1º estágio, quando se observa o tecido de granulação caracterizado por fibroblastos jovens e neovascularização.

**2** - Início de fibrose com granulação inicial, representada pela presença de fibroblastos, não havendo sinais de deposição de colágeno.

**3** - Início de fibrose com granulação inicial, representada pela presença de fibroblastos, com sinais de deposição de colágeno.

**4** - Fibrose densa com presença de quantidade considerável de fibroblastos e intensa deposição de colágeno, ou seja, cicatrização.

**5** - Fibrose densa com presença de raros fibroblastos e intensa deposição de colágeno, ou seja, cicatrização.

De acordo com o grau de reação que o organismo teve em relação ao material empregado como implante, criou-se, assim, uma classificação do nível de gravidade desta reação (inflamatória e cicatricial), que se seguiu da seguinte forma:

**1** – Ocorrência de reação normal esperada, com presença de 0 a 50 células inflamatórias (polimorfonucleares e/ou mononucleares) por campo, sugerindo uma reação leve.

**2** – Ocorrência de reação normal esperada, com presença de 50 a 150 células inflamatórias (polimorfonucleares e/ou mononucleares) por campo, sugerindo uma reação moderada.

**3** – Ocorrência de reação normal esperada, com presença de 150 a 300 células inflamatórias (polimorfonucleares e/ou mononucleares) por campo, sugerindo uma reação alta.



4 – Alteração da reação normal ao material, com presença de poucos microabscessos e piócitos, além das células inflamatórias de 150 a 300 por campo.

5 – Alteração da reação normal ao material, com presença de microabscessos e piócitos em quantidade considerável e células inflamatórias incontáveis.

6 – Reação excessiva do organismo ao material, com expulsão de parte do implante, com presença de fibrose excessiva.

7 – Reação excessiva do organismo ao material, com expulsão total do implante e presença de fibrose excessiva.

Também se avaliou a viabilidade do implante a partir da presença de fibroblasto, neovascularização, síntese e deposição de colágeno para determinar a viabilidade do implante, adotando dois critérios, de acordo com Nunes (2007), modificado:

- satisfatório, quando apresentava fibroblastos ativos, com boa vascularização e maior síntese e deposição de colágeno.

- insatisfatório, quando existia presença de fibroblastos inativos, com vascularização comprometida, menor síntese e deposição de colágeno ou também com alto índice de processo inflamatório (piócitos) e perda do implante com degradação precoce de suas fibras colágenas.

A comparação entre os diferentes resultados do grau de reação do organismo em relação ao implante foi feita por análise de variância (ANOVA), com nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ), e, a *posteriori*, por testes de comparações múltiplas de médias, o teste de Tukey. Os outros resultados foram analisados a partir do cálculo da estatística descritiva dos acontecimentos.

### 3.3 - ESTUDO DE RESISTÊNCIA À TRAÇÃO

Os testes tensiométrico foram realizados no Laboratório de Estruturas e Materiais do Programa de Engenharia Civil da COPPE – Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-graduação e Pesquisa de Engenharia /UFRJ.

Fragmentos de túnica albugínea preparados assepticamente em solução de formol a 10%, conservados em glicerina a 98% e reidratados, como citado anterior-

mente, caracterizando o grupo B do teste de biocompatibilidade, e analisados com relação à sua capacidade tênsil.

Para a realização dos testes de resistência à tração, foi utilizada uma máquina universal de ensaios Shimadzu AG-X 100 kN, do Laboratório de Estruturas e Materiais do Programa de Engenharia Civil da COPPE/UFRJ. Os ensaios de resistência à tração axial foram realizados com velocidade de ensaio de 0,5 mm/s e célula de carga de 500 N.

Após a reidratação das túnicas albugíneas, estas foram fragmentadas em fitas de aproximadamente 10 mm de largura e 30 mm de comprimento no sentido aleatório da membrana, transversal ou longitudinal, e foram feitas todas as mensurações de comprimento, largura e espessura com auxílio de um micrômetro (precisão de 0,01 mm).

O estudo tensiométrico compreendeu análise da resistência à tração axial e do deslocamento da amostra até a ruptura. A resistência à tração (em MPa) foi calculada a partir da razão entre a força máxima (em N) e a área da seção transversal da amostra de túnica (em mm<sup>2</sup>). Por sua vez, o deslocamento da amostra até a ruptura foi monitorado por meio de sensor de deslocamento instalado na prensa. (Fig. 14).

Para a análise da influência da idade sobre a resistência da membrana, foram separados dois grupos. Foram testadas 34 amostras, sendo 17 amostras de membranas oriundas de animais com até 2 (dois) anos de idade e 17 amostras oriundas de animais com idade maior de 2 (dois) anos.

Outros dois grupos foram formados visando à correlação do sentido de tração da membrana e à resistência do material. Sendo assim, formou-se um grupo com corpos de prova testados, a partir de um corte transversal ao sentido longitudinal da membrana, com 22 amostras; e outro grupo, com 12 amostras, formado por corpos de prova testados a partir de cortes feitos no sentido longitudinal da membrana.

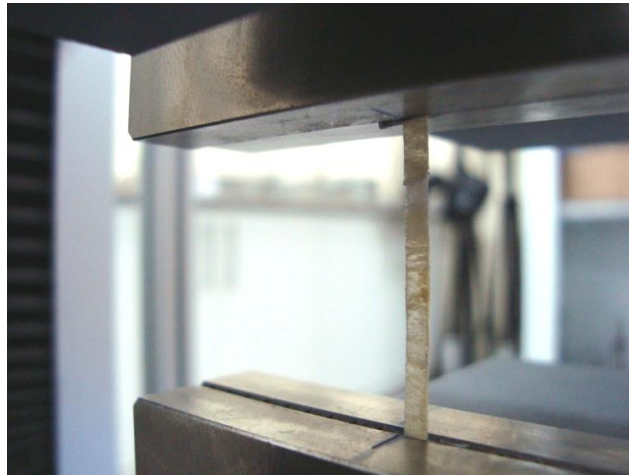


Figura 14: Túnica albugínea bovina, sendo testada quanto a sua capacidade tênsil. (Laboratório de Estruturas e Materiais do Programa de Engenharia Civil da COPPE/UFRJ)

A comparação entre os diferentes resultados dos ensaios tensiométricos foi feita por comparação entre médias, com nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ), utilizando-se o teste t de Student.

## 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 – ESTUDO DE RESISTÊNCIA À TRAÇÃO

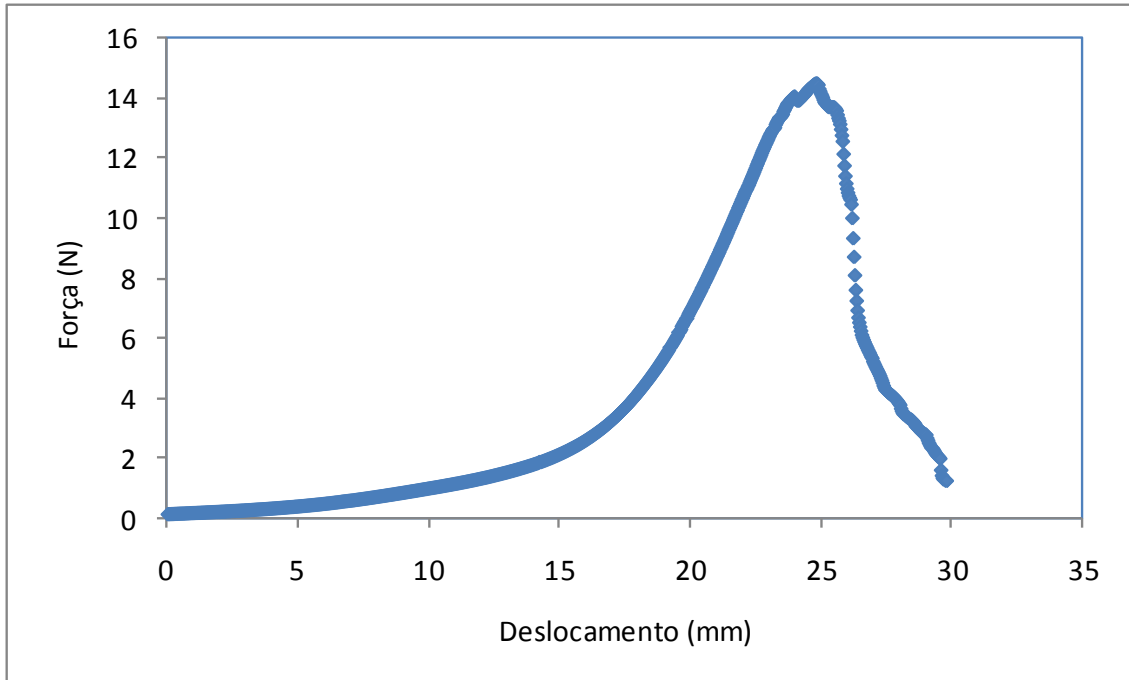
De forma geral, a túnica albugínea teve uma resistência média de 19,6 kgf/cm<sup>2</sup> com desvio-padrão de 8,37 kgf/cm<sup>2</sup>. Sendo assim, a membrana se mostrou bastante resistente, atingindo seguramente uma resistência de 10 kgf/cm<sup>2</sup>, ou seja, cada 01 cm<sup>2</sup> da túnica albugínea suporta 10 kg de peso. Essa resistência se mostrou muito maior àquela testada por Falcão et al. (2008) que observaram uma resistência máxima de 1,6 kgf com a membrana de celulose. Já no trabalho de Ramos (2002), com a submucosa suína, observou-se uma resistência de 171 N em média, um número muito maior da encontrada neste experimento. Tal fato pode ser explicado pela metodologia utilizada, já que Ramos (2002), para medir a resistência, utilizou toda a parede abdominal do animal, incluindo a musculatura e o implante, diferentemente do feito neste experimento, quando foi utilizado somente o material do implante para saber o valor real de resistência, sem interferência de outras estruturas ou até mesmo da sutura utilizada.

O gráfico 01 mostra um exemplo do ensaio de resistência à tração das membranas. Neste caso, têm-se, no eixo das abscissas, os valores de deslocamento (em mm) do travessão da máquina, que indicam o alongamento da membrana; e no eixo das ordenadas, os valores de força (em Newton – N), posteriormente, convertido em Megapascal (MPa) e quilograma força por centímetro quadrado (Kgf/cm<sup>2</sup>).

Na análise do gráfico, a força de tração teve um acréscimo menor inicial e esse aumento era maior de acordo com o alongamento do corpo de prova e formou-se um desenho de uma parábola até o momento de força máxima de ruptura.

Esse desenho pode ser explicado pelo fato do alto poder elástico da membrana que, em todas as amostras, o comprimento, no mínimo, atingia o dobro do comprimento inicial. À medida que as amostras eram tracionadas, a túnica albugínea atingia sua elasticidade máxima e a força de tração aumentava, a partir desse momento, em menos tempo.

Gráfico 01: Desempenho de uma amostra de túnica albugínea durante o teste de resistência à tração, exemplificando o comportamento geral das amostras durante o ensaio.



#### 4.1.1 – Resistência X Idade

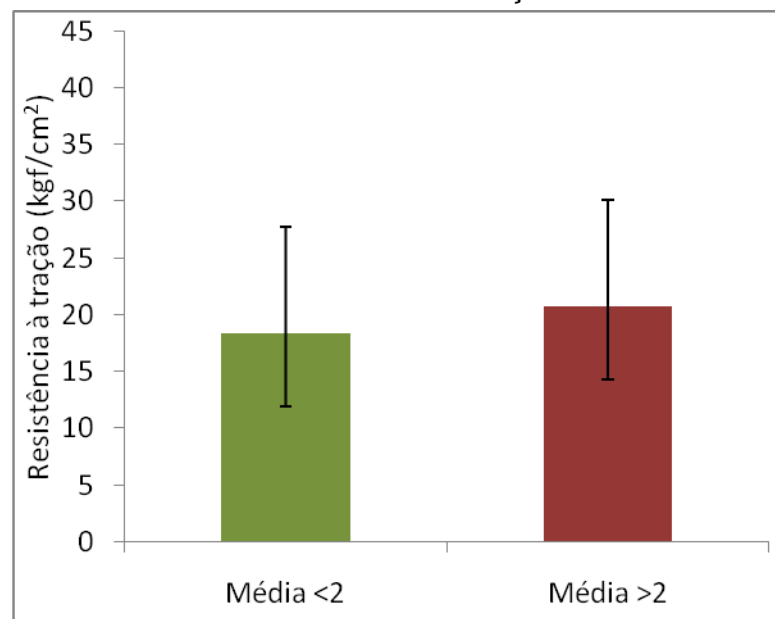
Foram formados dois grupos de bovinos, separados por idade, os quais forneceram as túnicas albugíneas (Grupo < 2 anos e Grupo > 2 anos). Após os ensaios realizados nessas amostras, foram obtidos os resultados relacionados no quadro 01.

Calculada a média dos dois grupos, pôde-se observar que as membranas oriundas de animais com idade inferior a 2 anos tiveram uma média de 18,4 kgf/cm<sup>2</sup>, com um desvio-padrão de 9,4 kgf/cm<sup>2</sup>. Já as membranas oriundas de bovinos com idade superior a 2 anos, a média atingida foi de 20,7 kgf/cm<sup>2</sup>, com um desvio-padrão de 7,3 kgf/cm<sup>2</sup> (Gráfico 02).

Quadro 01: Resultados da Resistência x Idade

Amostra (animais < 2 anos)	Resistência (kgf/cm <sup>2</sup> )	Amostra (animais > 2 anos)	Resistência (kgf/cm <sup>2</sup> )
01	36,1	01	30,2
02	24,3	02	25,6
03	10,3	03	10,5
04	13,5	04	8,6
05	11,2	05	15,7
06	21,2	06	12,8
07	16,4	07	15,0
08	11,3	08	20,0
09	12,8	09	17,0
10	41,1	10	25,3
11	29,7	11	16,7
12	11,9	12	28,1
13	16,1	13	34,0
14	13,9	14	22,2
15	13,7	15	18,2
16	20,6	16	29,2
17	8,8	17	23,1

Gráfico 02: Médias da resistência à tração x idade do bovino



A comparação entre as médias, utilizando-se o teste t de Student, com nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ), mostrou que não existe diferença significativa entre as mesmas, fato que corrobora Getty (1986) e Ross e Pawlina (2008), que citaram não existir uma variação importante na espessura da túnica albugínea, o que influenciaria diretamente na resistência do material, sabendo que a área é um dos fatores determinantes no valor do ponto de ruptura do material.

#### **4.1.2 – Resistência X Sentido da tração**

Foram formados dois grupos separados quanto ao sentido de corte do corpo de prova. O grupo que teve os corpos de prova obtidos a partir de cortes no sentido transversal do eixo longitudinal da membrana possuía 22 amostras e o grupo que teve os corpos de prova obtidos a partir de cortes no sentido longitudinal do eixo longitudinal da membrana possuía 12 amostras.

Após os ensaios realizados nessas amostras, foram obtidos os resultados relacionados no quadro 02.

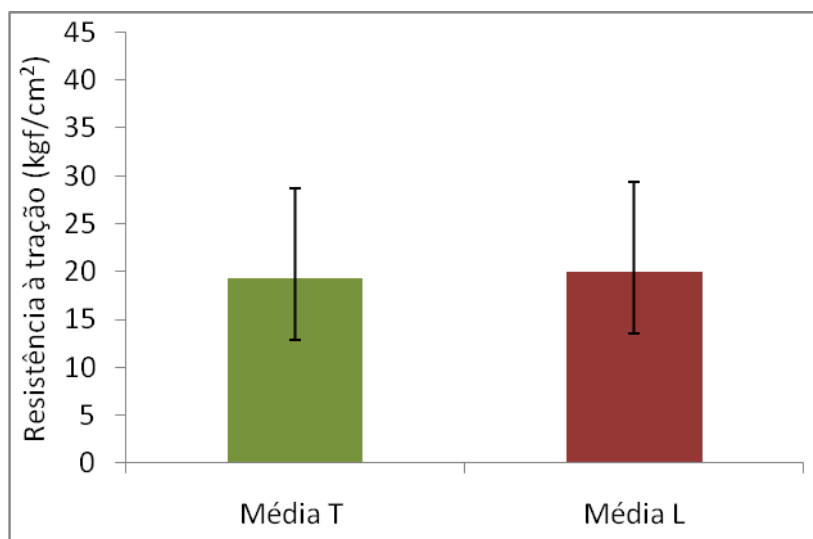
Após o cálculo da média dos dois grupos, pôde-se observar que as membranas de sentido transversal tiveram uma média de  $19,3 \text{ kgf/cm}^2$ , com um desvio-padrão de  $9,4 \text{ kgf/cm}^2$ . Já nas membranas de sentido longitudinal, a média atingida foi de  $20 \text{ kgf/cm}^2$ , com um desvio-padrão de  $6,4 \text{ kgf/cm}^2$  (Gráfico 03).

A comparação entre as médias, utilizando-se o teste t de Student, com nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ), mostrou que não existe diferença significativa entre a resistência à tração nos diferentes sentido, fato que corrobora Banks (1992) e Gartner e Hiatt (2003), que classificaram este tecido como tecido conjuntivo denso não-modelado ou levemente modelado, caracterizado por possuir feixes de fibras de colágeno grosseiros entrelaçados, dispostos ao acaso, formando uma rede que resiste a trações de todas as direções. Esta situação é interessante na túnica albugínea pelo fato de torná-la aplicável em situações onde as forças de tração não atuam somente em uma direção.

Quadro 02: Resultados da Resistência x Sentido da tração:

Amostra Transversal	Resistência (kgf/cm <sup>2</sup> )	Amostra Longitudinal	Resistência (kgf/cm <sup>2</sup> )
1	36,1	1	21,2
2	24,3	2	16,4
3	10,3	3	30,2
4	13,5	4	25,6
5	11,2	5	12,8
6	11,3	6	15,0
7	12,8	7	20,0
8	41,1	8	17,0
9	29,7	9	29,2
10	10,5	10	23,1
11	8,6	11	20,6
12	15,7	12	8,8
13	25,3		
14	16,7		
15	28,1		
16	34,0		
17	22,2		
18	18,2		
19	11,9		
20	16,1		
21	13,9		
22	13,7		

Gráfico 03: Médias da resistência à tração x sentido da tração





## 4.2 – TESTE DE REAÇÃO DO ORGANISMO AO IMPLANTE

### 4.2.1 – Observação Clínica

Todos os animais foram observados quanto à presença de seroma; presença de hematocisto; sinais de infecção; presença de hérnia incisional; deiscência de pontos. O que se pôde notar nos animais do experimento, foi a associação entre a deiscência de pontos e os sinais de necrose.

A tela (grupo A) e a membrana reidratada com dois banhos de solução fisiológica (Grupo C) foram os grupos que apresentaram a menor porcentagem de animais com necrose e deiscência de pontos (Quadro 03).

Quadro 03: Resultados da observação clínica pós-operatória:

<b>Grupos</b>	<b>Quant. total de animais</b>	<b>Animais acometidos</b>	<b>Dia de aparecimento da lesão</b>	<b>%</b>
<b>Grupo A</b>	12	03	Até o 4º dia pós-operatório	25%
<b>Grupo B</b>	12	06	Após o 13º dia pós-operatório	50%
<b>Grupo C</b>	12	02	Após o 13º dia pós-operatório	16,67%
<b>Grupo D</b>	05	05	Após o 13º dia pós-operatório	100%

O fato de o grupo A ter apresentado deiscência de pontos até o quarto dia de pós-operatório pode ser explicado por um desconforto local, quando a contração da cicatriz causa dobras na tela, o que leva a uma erosão da pele por agressão mecânica, produzindo infecção e, conseqüentemente, leva à perda do implante e à formação de hérnia incisional, como foi citado por Ramos (2002). Já as outras complicações citadas por Ramos (2002), como fístulas intestinais, migração do implante, erosão para o interior de vísceras, saída do implante pela cicatriz cirúrgica, sépsis e, tardiamente, hérnias incisionais, as quais não foram observadas em nenhum dos animais do experimento.

Nos grupos B, C e D, as lesões que apareceram, após 13 dias de pós-operatório, foram consideradas uma reação tardia, o que pode ser explicado pela reação do organismo ao material implantado. O grupo C possuiu a menor porcentagem de reação até mesmo em relação ao grupo A, porém as membranas que tiveram uma reação tornaram o implante insatisfatório, diferentemente do grupo A, que, mesmo com as deiscências, manteve-se satisfatório em relação à inflamação. O fato de a tela se mostrar resistente ao processo inflamatório já foi citado por Puttini (2006) e Vaz (2007), que disseram ser um material inerte mesmo na presença de infecção.

Os grupos B e D tiveram processo inflamatório e necroses bastante significativas, o que pode ser explicado pela citotoxicidade dos produtos utilizados e suas altas concentrações no momento da implantação, já que os dois grupos passaram por apenas um banho em soro fisiológico. A ANVISA (2010) citou que o risco do formol em sua aplicação indevida é tanto maior quanto maior a concentração e a frequência do uso, fato que pode ter ocorrido no Grupo B. O grupo D teve a utilização somente da glicerina e, segundo Raiser et al. (2001) a reidratação de 1 hora para a espessura do material seria suficiente, porém este resultado não foi o observado no experimento.

#### **4.2.2 – Aderência**

A aderência foi analisada e classificada no momento da necropsia dos ratos do experimento para a coleta do material para a histopatologia.

Segundo Ramos (2002), a membrana biológica, a submucosa intestinal suína (SIS), apresentava aderência severa em todos os animais do experimento, como também a tela de polipropileno, sendo, na sua totalidade, a aderência do omento. Neste estudo, a membrana biológica em questão, a túnica albugínea bovina (TAB), também apresentou aderência significativa e igual à tela de polipropileno, porém sem lesão importante de órgãos, e, na totalidade a aderência, ocorreu no omento (fig. 15 e 16), assim como no experimento de Ramos (2002).



Figura 15: Necropsia de rato Wistar 15 dias após a implantação da tela de polipropileno, mostrando a aderência do omento no local de implantação.



Figura 16: Necropsia de rato Wistar 15 dias após a implantação da túnica albugínea, mostrando a aderência do omento no local de implantação.

### 4.2.3 – Reação Inflamatória

Segundo Montenegro e Fecchio (1999), a inflamação aguda é uma maneira eficiente de o organismo neutralizar, inativar ou eliminar o agente causador da lesão, caracterizada pela prevalência de neutrófilos; e a inflamação crônica, segundo Duarte (2003), ocorre quando o agente agressor é inerte, pouco agressivo ou quando é persistente à inflamação aguda e há principalmente prevalência de monócitos.

Após a análise histológica do material implantado, pôde-se chegar ao resultado segundo a reação inflamatória (Quadro 04):

Quadro 04: Resultado da reação inflamatória observada nas amostras, mostrando a quantidade de animais em cada grau dentro de cada grupo/subgrupo estudado.

Reação Inflamatória	Subgrupos	Grupo A		Grupo B		Grupo C		Grupo D	
		1	2	1	2	1	2	1	2
<b>Grau 0</b>		-	2	-	-	-	-	-	-
<b>Grau 1</b>		6	-	1	-	-	-	-	-
<b>Grau 2</b>		-	-	5	1	3	-	4	-
<b>Grau 3</b>		-	-	-	4	1	2	1	-
<b>Grau 4</b>		-	4	-	1	2	4	-	-

O grupo A foi o grupo que melhor comportou-se de acordo com a literatura citada, como Montenegro e Fecchio (1999) e Duarte (2003), mostrando uma reação aguda leve inicial e uma reação crônica leve final. Duas amostras do grupo A2 (33,33%) já não apresentavam nenhum sinal de inflamação, o que não ocorreu em nenhuma das outras amostras com a túnica albugínea bovina. Este fato pode ser explicado pela questão da inércia do polipropileno, como citado por Ramos (2002), Puttini (2006) e Vaz (2007), que, após a deposição de colágeno ao redor do material, este passa ser incorporado pelo organismo e tem a reação diminuída.

Os grupos B, C e D apresentaram o grau 2 de reação inflamatória, que é o grau onde ocorre a reação inflamatória aguda moderada associada à supuração,

caracterizada por presença de reação piogênica, granuloma piogênico e microabscesso, o que difere de Scalco et al. (2008) que citaram a menor reação do organismo pelo uso da submucosa intestinal suína. Porém, os grupos B1 e D1 apresentaram uma prevalência maior (83,33% e 80%, respectivamente) em comparação com a do grupo C1 (50%) de grau 2, corroborando Nunes (2007), que utilizou túnica albugínea autóloga em cães e, com 15 dias, obteve 43% de reação aguda moderada com piócitos.

Com 30 dias de implantação do material, ainda era possível observar, no grupo B2, uma amostra com reação aguda moderada, que pode ser explicada, segundo Montenegro e Fecchio (1999), pela “reagudização” de uma inflamação por deficiência na neutralização do agente agressor.

Para melhor compreensão, pode-se dizer que, no grupo A, com 15 dias de implantação, a reação foi de 100% inflamatória aguda leve (fig. 17 e 18) e, com 30 dias de implantação, houve uma variação entre a ausência de reação inflamatória (33,33%) e uma reação inflamatória crônica leve (66,67%) (fig. 19), indicando uma fase final de reação inflamatória com resolução do quadro.

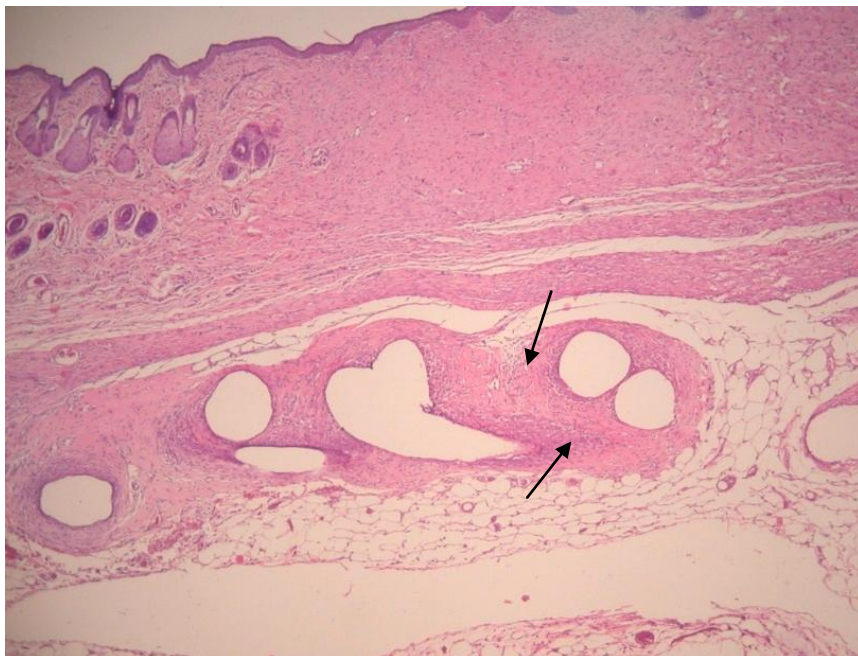


Figura 17: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo A1. Setas: reação inflamatória aguda leve com deposição de colágeno. Aumento 10x, Coloração HE. LM-PA/CCTA/UENF, 2010.



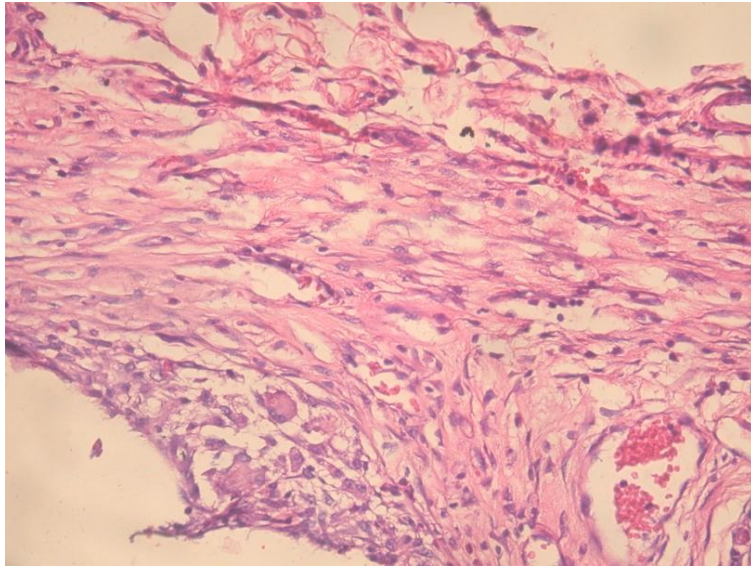


Figura 18: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo A1. Reação inflamatória aguda leve com deposição de colágeno. Aumento 40x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.

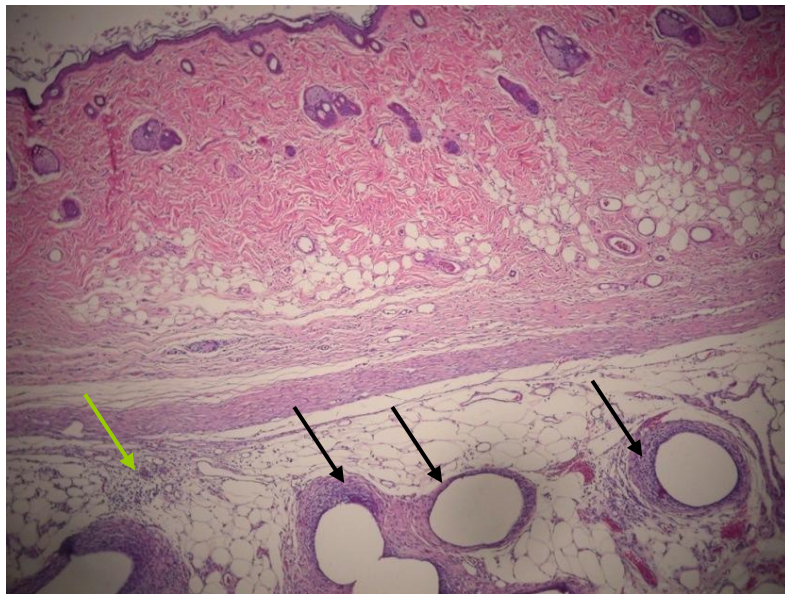


Figura 19: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo A2. Reação inflamatória crônica leve (seta verde). Presença de uma diminuição da reação ao redor do material de implante (setas pretas), quando comparada com a da Figura 17. Aumento 4x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.

O grupo B, com 15 dias de implantação, mostrou uma variação entre uma reação inflamatória aguda leve (16,67%) (fig. 20) e uma reação aguda moderada, com presença de reações piogênicas e microabscessos (83,33%) (fig. 21).

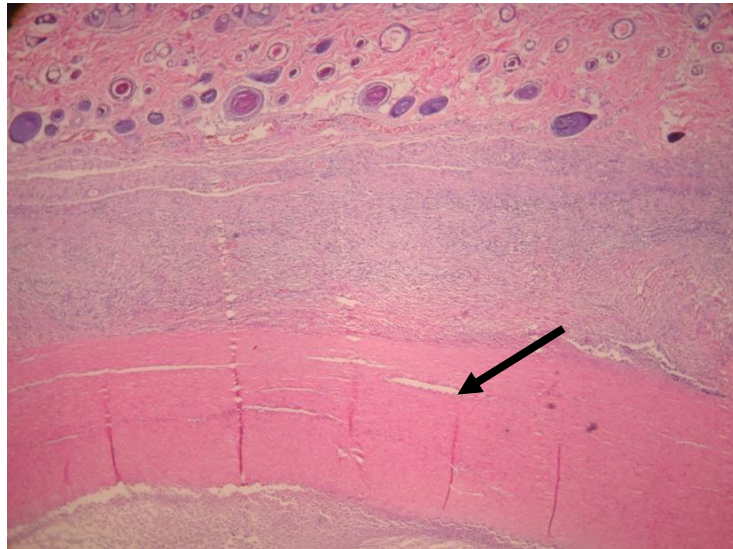


Figura 20: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo B1. Reação inflamatória aguda leve. Pode-se observar a membrana biológica (seta) Aumento 4x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.

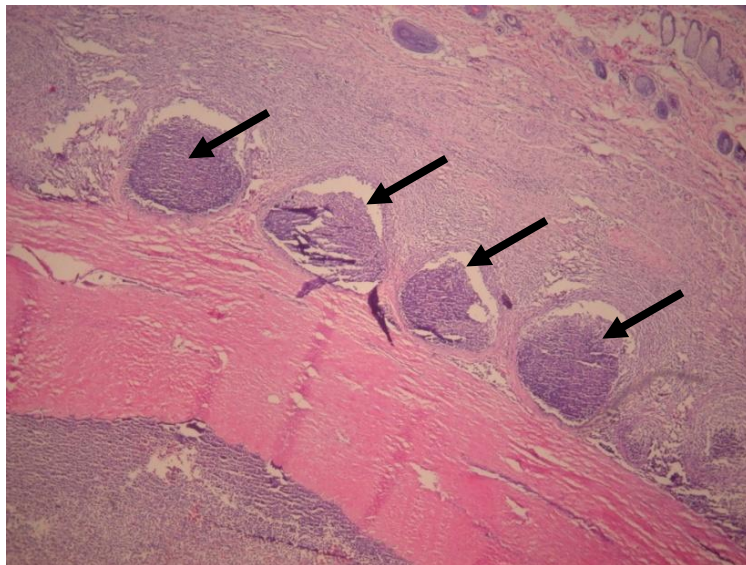


Figura 21: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo B1. Reação inflamatória aguda moderada com presença de microabscessos (setas) Aumento 4x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.



Já com 30 dias de implantação da membrana, o grupo B2 variou de uma reação aguda moderada com piócitos (16,67%) (Fig. 22), reação inflamatória crônica com predominância de mononucleares, com número superior a 50 células por campo e com raros polimorfonucleares, número inferior a 10 células por campo (66,67%) (fig. 23) e reação crônica leve (16,67%) (Fig. 24).

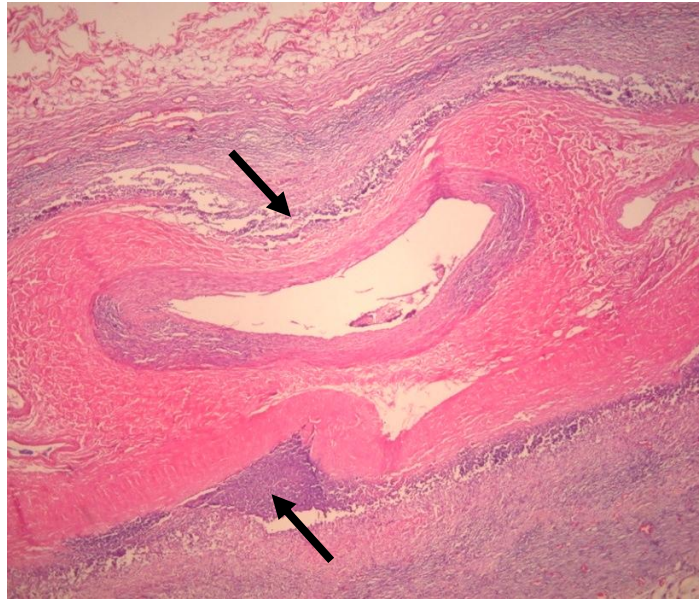


Figura 22: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo B2. Reação inflamatória aguda moderada com presença de reação piogênica (setas) Aumento 4x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.

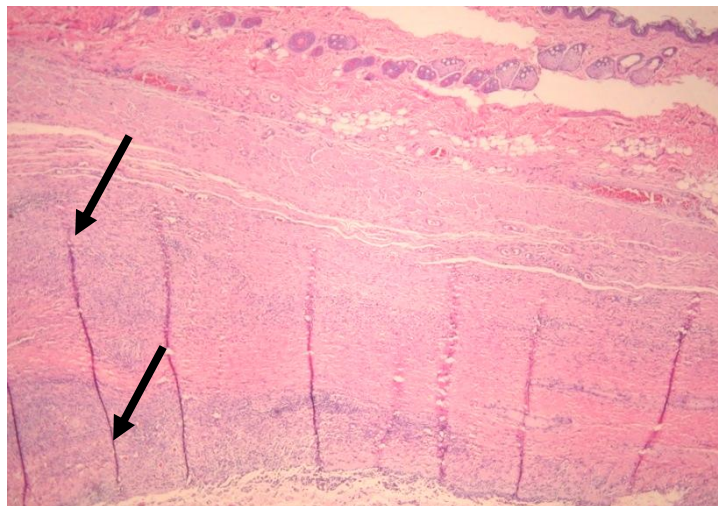


Figura 23: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo B2. Reação inflamatória crônica. Observam-se infiltrados inflamatórios (setas) com predominância de mononucleares. Aumento 4x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.



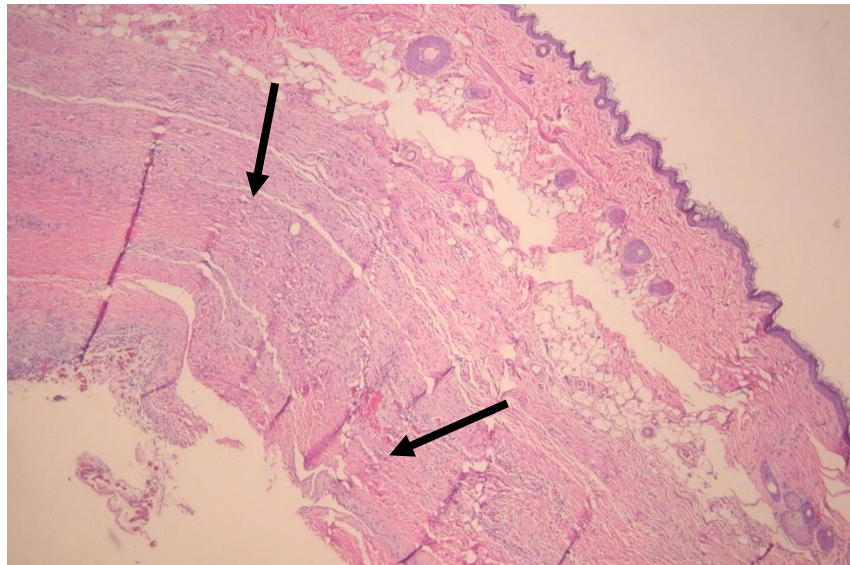


Figura 24: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo B2. Reação inflamatória crônica leve. Observa-se a incorporação da membrana ao organismo (setas) Aumento 4x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.

O grupo C, com 15 dias de pós-operatório, mostrou uma variação de grau 2, com reação aguda moderada, com presença de piócitos e microabscessos (50%); grau 03, que é uma reação crônica moderada (16,67%) (fig. 25); e o grau 4 que é uma reação crônica leve (33,33%), já possível de ser vista com 15 dias de implantação (fig. 26), fato que pode ser explicado pelo aumento de macrófagos estimulado pela presença do material biológico a ser renovado, como citado por Scalco et al (2008).

O grupo C2, com 30 dias de pós-operatório, teve reações inflamatórias que variaram de uma reação crônica moderada, grau 3 (33,33%), à reação inflamatória crônica leve, o grau 04 (66,67%), mostrando uma resolução da reação inflamatória e incorporação completa da membrana, que é a resolução esperada na utilização da membrana biológica, segundo Scalco et al. (2008).

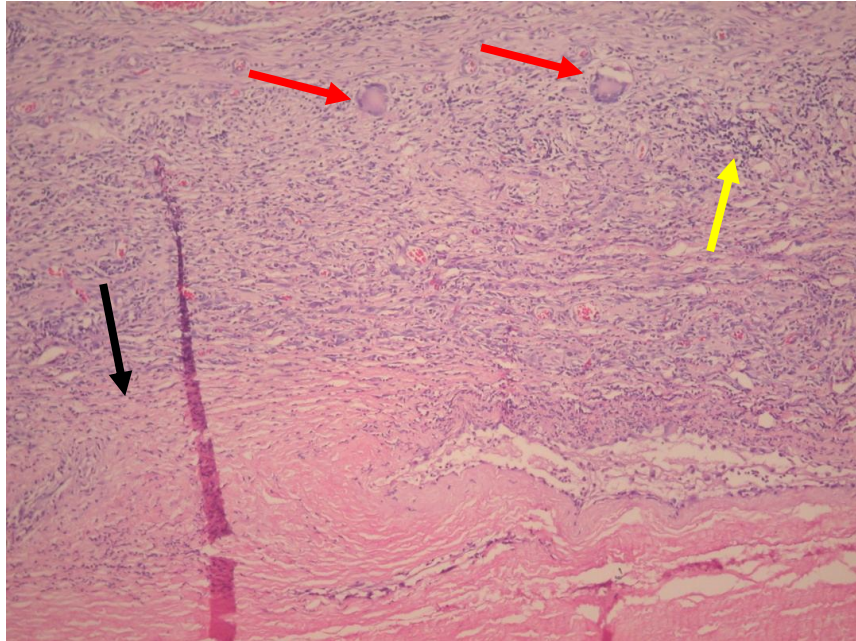


Figura 25: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo C1. Reação inflamatória crônica moderada (infiltrado inflamatório – seta amarela). Observa-se a incorporação da membrana ao organismo (seta preta). Observam-se células gigantes (setas vermelhas) Aumento 10x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.

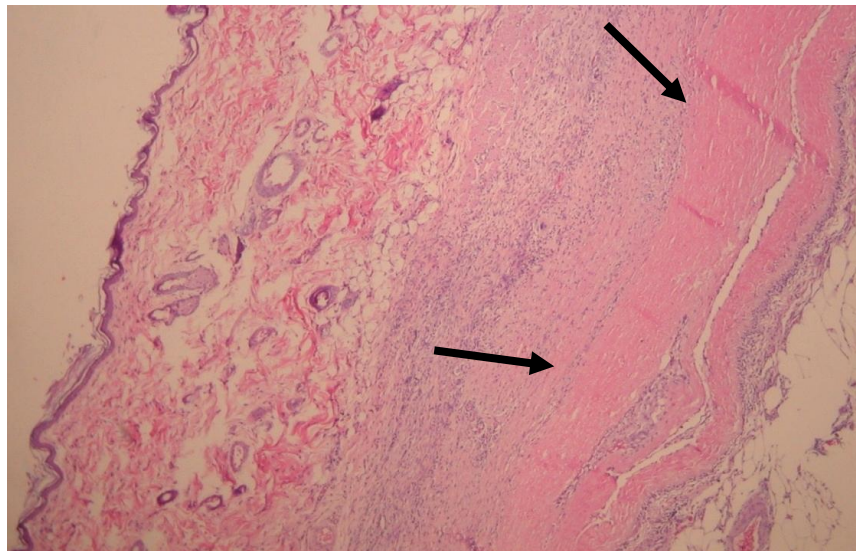


Figura 26: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo C1. Reação inflamatória crônica leve. Observa-se a incorporação da membrana ao organismo (setas) Aumento 4x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.



O grupo D apresentou uma prevalência do grau 2, reação com presença de piócitos e microabscessos (80%) (fig. 27); e também o grau 03 (20%), reação crônica moderada com predominância de mononucleares, com número superior a 50 células por campo (fig. 28). Essa situação não aconteceu com outros trabalhos como os de Nunes (2007), Oliveira L. L. (2008) e Mariano (2010), que também utilizaram a túnica albugínea bovina implantada imediatamente após a coleta, conservada em glicerina ou em mel, respectivamente. Este fato pode ser explicado pelo maior tempo de permanência da membrana na fase de reidratação feita por esses pesquisadores.

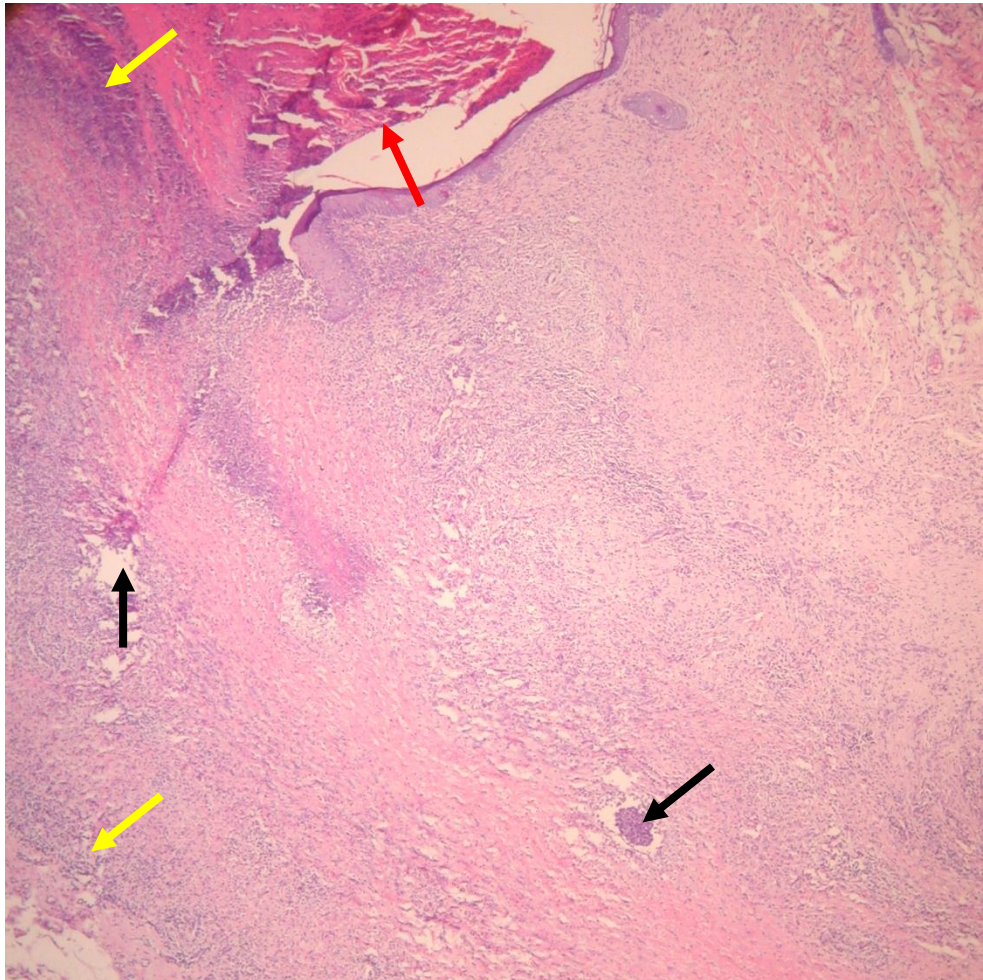


Figura 27: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo D1. Reação inflamatória aguda moderada com presença de microabscesso (seta preta). Observa-se o infiltrado inflamatório (seta amarela) com predominância de polimorfonucleares e expulsão parcial da membrana (seta vermelha). Aumento 4x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.

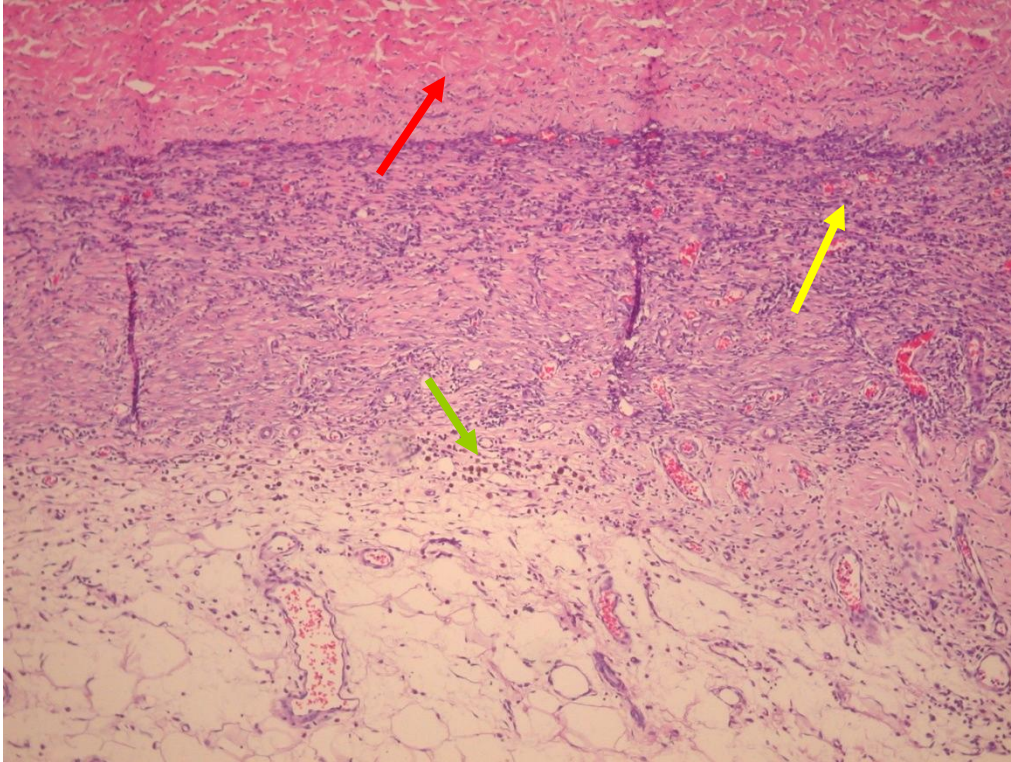


Figura 28: Corte histológico do material coletado após necropsia do grupo D1. Reação inflamatória crônica moderada (seta verde). Observam-se o infiltrado inflamatório (seta amarela), com predominância de mononucleares, e expulsão parcial da membrana (seta vermelha). Aumento 10x, Coloração HE. LMPA/CCTA/UENF, 2010.

#### 4.2.4 – Cicatrização

Quanto à cicatrização, todos os implantes mostraram uma cicatrização satisfatória, porém os grupos que utilizaram as membranas mostraram uma reação cicatricial maior do que a tela de polipropileno (quadro 05).

Gasque et al. (2008) e Scalco et al. (2008) citam que o colágeno é importante na cicatrização por induzir a quimiotaxia para fibroblastos, ativação e atração de neutrófilos e macrófagos, estimulando uma maior reação cicatricial da região. Esta situação foi possível ser observada, no presente estudo, pelo fato de os grupos B, C e D, que utilizaram a túnica albugínea, apresentarem uma reação cicatricial, com deposição de colágeno e fibroblastos ativos, maior que a do grupo A, cujo material de polipropileno era mais inerte. Porém, o grupo C foi o que mostrou uma reação cicatricial maior em relação a todos os outros grupos. Este fato pode ser explicado

pela inércia da tela em relação à membrana e à alta concentração de formol e glicerina nos grupos B e D, respectivamente, cujo papel citotóxico diminuiu a eficiência dos fibroblastos, como citado por Pinto et al. (1993) e pela ANVISA (2010).

Quadro 05: Resultado da cicatrização observada nas amostras, mostrando a quantidade de animais em cada grau dentro de cada grupo/subgrupo estudado.

Cicatrização	Subgrupos	Grupo A		Grupo B		Grupo C		Grupo D	
		1	2	1	2	1	2	1	2
<b>Grau 1</b>		6	-	-	-	-	-	-	-
<b>Grau 2</b>		-	-	-	-	-	-	3	-
<b>Grau 3</b>		-	4	6	5	3	5	2	-
<b>Grau 4</b>		-	2	-	1	2	1	-	-
<b>Grau 5</b>		-	-	-	-	1		-	-

#### 4.2.5 – Gravidade da reação do organismo ao implante

Para quantificar a reação do organismo ao implante, foi criada uma graduação de 1 (um) a 7 (sete) em relação ao nível que o organismo reagiu ao material implantado. Os resultados obtidos foram:

Quadro 06: Média dos níveis de reação do organismo ao material implantado entre os diferentes grupos do experimento.

GRUPO	MÉDIA DE REAÇÃO	DESVIO PADRÃO
<b>A</b>	1,31	0,49
<b>B</b>	4,17	1,19
<b>C</b>	2,25	1,82
<b>D</b>	6,05	0,45

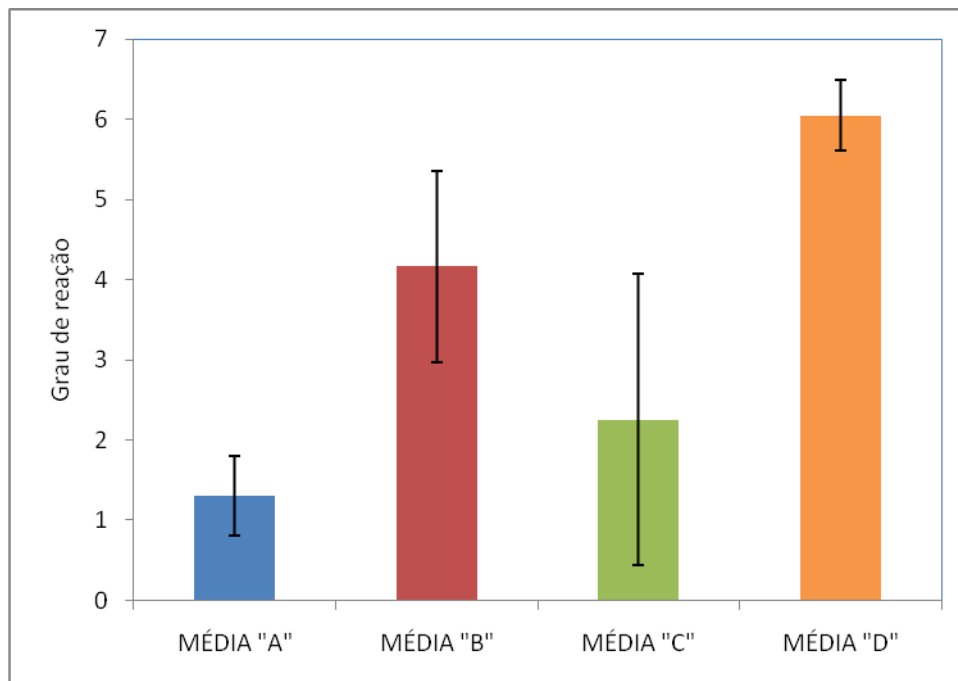
O grupo A foi o grupo que apresentou menor grau de reação do organismo ao implante, corroborando as citações de Ramos (2002), Puttini (2006), Vaz (2007) e Scalco et al. (2008) que citam a tela de polipropileno como um material inerte mes-



mo na presença de infecção. O grupo C apresentou uma média de reação estatisticamente similar ao do grupo A. Já os grupos B e D mostraram uma reação exagerada ao implante, chegando ao ponto, em alguns momentos, da expulsão do material.

Estes resultados foram resumidos a seguir (gráfico 04):

Gráfico 04: Média do grau de reação do organismo ao implante nos grupos de estudo.



O grupo C, cujas membranas foram mergulhadas no formol, conservadas na glicerina e posteriormente reidratadas com dois banhos em solução fisiológica, teve uma reação do organismo, estatisticamente, por análise de variância (ANOVA), igual à reação da tela de polipropileno, mostrando que este material não traz tanto prejuízo ao organismo. A baixa reação do organismo à membrana biológica em questão pode ser explicada pelo fato de a mesma ter sido tratada com a utilização do formaldeído que, segundo Faria et al. (1998) e Salmon (2008), cria pontes etílicas e metílicas entre as cadeias de proteínas da túnica albugínea. Este mecanismo de ação pode diminuir a quantidade de antígenos na superfície do material, tornando-o menos antigênico. Por outro lado, Moriya e Módena (2008) citaram que o formol desnatura as proteínas, reagindo com os grupos amino livres, e isso faz a transformação

de toxina em toxoide ou antoxina, conservando assim o poder de antigenicidade do material, o que iria contra os resultados deste experimento.

A alta concentração de formol pode ser tóxica às células do tecido normal, segundo a ANVISA (2010), o que explicaria a alta reação do organismo às amostras do grupo B, as quais foram processadas da mesma forma que as do grupo C, embora tenham passado por um banho a menos na sua reidratação, porém, sem diminuir o tempo de reidratação antes da implantação nos ratos do experimento.

Já o grupo D manteve um alto nível de reação do organismo ao implante. Segundo Rabelo et al. (2004), a glicerina desidrata o tecido rapidamente, substituindo a maior parte da água intracelular, sem alterar a concentração iônica das células, o que protege sua integridade. Esta preservação da integridade pode ser o causador de uma reação maior do organismo, visto que a preservação da integridade também mantém viáveis as estruturas antigênicas do tecido implantado, fato que está em discordância com os estudos de Rabelo et al. (2004), que citam a capacidade de a glicerina diminuir a antigenicidade.

Outra observação que ajuda a pensar no formol como substância atuante na diminuição da antigenicidade é o fato de que, nos três grupos com a túnica albugínea (B, C, D), ter sido utilizada a glicerina para conservação, somente o grupo que não utilizou o formol apresentou a maior média de reação do organismo ao implante. E a diferença apresentada pelo grupo B e C é explicada pela mudança da concentração de formol presente entre os dois grupos.

Partindo do princípio de que materiais biocompatíveis e seguros são considerados aqueles que, ao serem submetidos a testes biológicos e também a testes mecânicos, não mostram resultados de reatividade histopatológica, ou apenas uma reatividade inflamatória mínima, em termos de bioincorporação e de histocompatibilidade. Segundo Filadelpho et al. (2009), pode-se dizer então que a túnica albugínea bovina, preparada em formol a 10%, conservada em glicerina a 98% e reidratada em solução fisiológica com dois banhos por 1 hora, é biocompatível como a tela de polipropileno.

## 5 – CONCLUSÃO

A túnica albugínea se mostrou um material pouco mais reativo ao organismo, porém, utilizando o preparo adequado, sua reação é estatisticamente igual à da tela de polipropileno, podendo, assim, ser utilizada como material de implante.

A resistência da túnica albugínea é alta (média de 19,6 kgf/cm<sup>2</sup>), atingindo uma grandeza comparável a de materiais da engenharia civil, no mínimo de 10 kgf/cm<sup>2</sup>. Além disso, sua capacidade de deformação deve ser considerada quando o local de implantação for escolhido..

Não existe uma idade do bovino para se fazer a coleta da membrana, visto que a túnica albugínea se mostrou estatisticamente com a mesma resistência em animais jovens e adultos. Além disso, no momento do preparo do material, não existe a necessidade de preocupação com o sentido de utilização do material, podendo, assim, ser utilizado em hérnias, lesões automobilísticas, perdas teciduais em cirurgias oncológicas, nas quais, geralmente, existe tração em todas as direções.

Após as análises estatísticas realizadas e de acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que a tela de polipropileno é um material inerte e pode servir como instrumento em comparação com outros tipos de implante a serem estudados posteriormente.

O protocolo de preparo da membrana do grupo C, que trata a túnica albugínea com um banho de 1 hora em formaldeído a 10%, conserva em glicerina estéril e reidrata a membrana com duas imersões de 30 minutos, em soro fisiológico estéril, se mostrou utilizável, tendo uma reação tecidual parecida, estatisticamente, com a da tela de polipropileno.



## REFERÊNCIAS

ALVARENGA, J. Possibilidades e limitações da utilização de membranas biológicas preservadas em cirurgia. In: DALECK, C. R.; BAPTISTA, L. C.; MUKAI, L. S. **Tópicos em cirurgia de cães e gatos**. Jaboticabal: FUNEP-UNESP, p. 33-42, 1992.

ANVISA (Assessoria de Imprensa da ANVISA) <http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2007/210307.htm>, acessado em 23.06.2010.

BANKS J. W. **Histologia Veterinária Aplicada**. 2<sup>o</sup> ed. São Paulo: Manole, 629 p., 1992.

BASTOS, E. L. S.; FAGUNDES, D. J.; TAHA, M. O.; NOVO, N. F.; SILVADO, R. A. B. Peritônio bovino conservado na correção de hérnia ventral em ratos: uma alternativa para tela cirúrgica biológica. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgia**. v. 32, n. 5, p. 256-260, 2005.

BATISTA, L. C.; DALECK, C. R.; SHIMANO, A. C.; ALESSI, A. C.; ABRAHÃO, M. DE S. Estudo comparativo da resistência à tração do peritônio (bovino, eqüino, suíno e canino) a fresco e conservado em glicerina. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 33, suplemento, p. 305-312, 1996.

BATISTA, C. P.; TORRES, O. J. M.; MATIAS, J. E. F.; MOREIRA, A. T. R.; COLMAN, D.; LIMA, J. H. F.; MACRI, M. M.; JUNIOR, R. J. R.; FERREIRA, L. M.; FREITAS, A. C. T. Efeito do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (babaçu) na cicatrização do estômago em ratos: estudo morfológico e tensiométrico. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v. 21, n. 3, p. 26 – 32, 2006.

CARDOSO, S. R.; PEREIRA, L. S.; SOUZA, A. C. S.; TIPPLE, A. F. V.; PEREIRA, M. S.; JUNQUEIRA, A. L. N. Anti-sepsia para administração de medicamentos por via endovenosa e intramuscular. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 08, n. 01, p. 75– 82, 2006.

CEFET – MG, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais. **Projeto de criação do curso de graduação em engenharia de materiais**. Belo Horizonte, MG, 200 p., 2007.

DALECK, C. R.; DALECK, C. L. M.; GANDOLFI, W.; ALESSI, A. C. Esofagoplastia cervical no cão com peritônio autólogo ou homólogo conservado em glicerina - “estudo experimental”. **Ars Veterinária**, v. 3, n. 2, p. 195-202, 1987.

DE PAULO, B. O.; OLIVEIRA, I. G.; NETTO, L. A. P. G.; SANTANA, L. C.; CHAVES, P. H. L.; FONSECA, C. H. Compatibilidade de compósitos biologicamente ativos em implantes de tecido osteotraumático. **Coletânea**, v. 2, n. 2, p. 102-111, 2008.

DINSMORE, R. C.; CALTON, J. R. W. C.; HARVEY, S. B.; BLANEY, M. W. Prevention of adhesions to polypropilene mesh in a traumatized bowel model. **Journal of American College of Surgeons**. v. 191, n. 2, p. 131- 136, 2000.

DUARTE, A. C. **Semiologia imunológica nutricional**. Rio de Janeiro: Axcel Books do Brasil, 225 p., 2003.

FALCÃO, S. C.; COELHO, A. R. B.; NETO, J. E. Biomechanical evaluation of microbial cellulose (*Zoogloea sp.*) and expanded polytetrafluoroethylene membranes as implants in repair of produced abdominal wall defects in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 23, n. 2, p. 184-191, 2008.

FARIA M. R.; MILAGRES, M. M. A.; AZZOLINI, V.; NASCIMENTO, L. C. Avaliação da esterilização de canetas de alta rotação e cabos de bisturi pelo formaldeído a temperatura de 37°C. **Revista Universitária de Alfenas**, n.4, p.21-24, 1998.

FILADELPHO, A. L.; ARTONI, S. M. B.; ORSI, A. M.; DIAS, L. G. G. G.; CABRINI, T. M.; BARIANI, M. H.; LOT, R. F. S. Aspectos histológicos do implante de matrizes de colágeno no tecido subcutâneo de ratos. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Ano VII, n. 12, 2009. Disponível em: [www.revista.inf.br/veterinaria12/artigos/AnoVII-Edic12-Art02.pdf](http://www.revista.inf.br/veterinaria12/artigos/AnoVII-Edic12-Art02.pdf).

FILHO, E. A.; ASSIS, C. M.; VERCIK, L. O.; GUASTALDI, A. C. Biomateriais: deposição de hidroxiapatita sobre superfície de Ti-CP modificada por aspensão térmica. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1229-1232, 2007.

FONSECA, A. A. R. **Avaliação do efeito da formalina na descalcificação de espécimes anatômicos, por meio da densidade radiográfica e concentração de cálcio**. Tese (Doutorado em Estomatologia Clínica) - Porto Alegre – RS, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS. 98 p. 2007.

FOSSUM, T. W. **Cirurgia de pequenos animais**. 3º ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 159 – 175, 2008.

GASQUE, K. C. S.; OLIVEIRA, R. C.; CEOLIN, D.; CESTARI, T. M.; TAGA, R.; TAGA, E. M.; CORRÊA, A.; PAIVA, K. B.; TAKYIA, C. M.; GRANJEIRO, J. M. Avaliação

da biocompatibilidade de uma membrana de pericárdio bovino acelular e seu potencial como carreador de osteoblastos. **Ciência Odontológica Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 58-66, 2008.

GARTINER, L. P. ;P.; HIATT, J. L. **Tratado de Histologia em Cores**, 2º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 456 p., 2003.

GETTY, R. **Sisson/Grossman Anatomia dos animais domésticos**. v. 1, 5º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 881 – 887, 1986.

GRAZIANO, K. U. **Avaliação da atividade esterilizante do paraformaldeído**. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – São Paulo – SP, Universidade de São Paulo – USP, 62 p. 1989.

GRAZIANO, K. U.; CIANCIARULLO, T. I.; PINTO, T. J. A. Reutilização das pastilhas de paraformaldeído: avaliação da sua atividade esterilizante. **Revista Escola de Enfermagem USP**, v.36, n.2, p.184-192, 2002.

GUIMARÃES, G. C.; SCAVONE, A. R. F.; MACHADO, M. R. F.; CRUZ, C.; CAPALBO, A. C.; SANTOS, A. L. Q. Avaliação histológica de membranas biológicas bovinas conservadas em glicerina e a fresco. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 3, p. 120-127, 2007.

HIBBELER, R. C. **Resistência dos materiais**, 7ª ed. Rio de Janeiro: Pearson Prentice Hall, 674 p., 2009.

KALIL, E. M.; COSTA, A. J. F. Desinfecção e esterilização. **Acta ortopedica brasileira** v. 2, n. 4, p. 1 – 4, 1994.

LIMA, F. M. T. **Membrana de biopolímero de cana-de-açúcar como substituto de dura-máter em ratos wistar**. Tese (Doutorado em Cirurgia) – Recife – PE, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, 88 p., 2008.

MARIANO, C. M. A. **Enxerto de túnica albugínea bovina, conservada em mel, como reforço de parede abdominal em cães**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 2010.

MARQUES, R. G. **Técnica Operatória e Cirurgia Experimental**. 1º Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 452-456, 2005.

MAZZANTI, A.; RAISER, A. G.; PIPPI, N. L.; ALVES, A. S.; FARIA, R. X.; ALIEVI, M. M.; BRAGA, F. A.; SALBEGO, F. Z. Hernioplastia diafragmática em cão com pericárdio bovino conservado em solução supersaturada de açúcar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.6, p.677-684, 2003.

MAZZINI, D. L.; MANTOVANI, M. Fechamento da parede abdominal com afastamento parcial das bordas da aponeurose utilizando sobreposição com telas de vicryl ou marlex em ratos. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 14, n. 1, p. 28-34, 1999.

MIRANDA, A. P.; DA COSTA, D. M.; GESSINGER, R. P.; MATUSIAK, R.; LINDEN, A. O formaldeído da esterilização de homoenxertos processados em banco de tecidos para implantes otológicos. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 59, n. 1, p. 33-35, 1993.

MONTENEGRO, M. R.; FECCHIO, D. Inflamação: Conceitos gerais e inflamação aguda. In: MONTENEGRO, M. R.; FRANCO, M. **Patologia – Processos gerais**. 4ª ed. São Paulo: Atheneu; p. 109-28, 1999.

MORIYA, T; MÓDENA, J. L. P. Assepsia e antissepsia: técnicas de esterilização. **Medicina (Ribeirão Preto)**; v. 41, n. 3, p. 265 - 273. Disponível em: <http://www.fmrp.usp.br/revista>, 2008.

MOTA, F. C. D.; EURIDES, D.; BELETTI, M. E.; FREITAS, P. M. C.; MASTRANTONIO, E. C.; SHIMIZU, B. J.; CARDOSO, J. R.; MARTINS, A. K. Análise ultra-estrutural da túnica muscular do intestino delgado de cães preservado em diferentes meios. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n. 1, p. 13-17, 2002.

NOLASCO, R. M.; BELETTI, M. E.; EURIDES, D.; E SILVA, F. O. C.; COELHO, H. E.; DALECK, C. R.; DA SILVA, L. A. F. Avaliação histológica e ultra-estrutural de tendões de bovinos preservados em diferentes meios. **Ars veterinaria**, v. 19, n. 3, p. 210-215, 2003.

NUNES, V. A. **Enxerto de túnica albugínea como reforço de parede abdominal em cães**. Tese (Doutorado em Ciências) – Rio de Janeiro – RJ, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, 56 p., 2007.

OLIVEIRA, L. L. **Reconstrução vesical em cães (*Canis familiaris*): Xenoenxerto com túnica albugínea bovina conservada em glicerina a 98%**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 60 p., 2008.

OLIVEIRA, T. C.; SCAVONEI, A. R. F.; MACHADO, M. R. F.; MAZZUCATTO, B. C. Cistoplastia experimental em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) com peritônio bovino conservado em glicerol a 98%. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, p. 2218-2224, 2008.

PASSOS, L. **Apostila de Ciência e Tecnologia dos Materiais**. Limeira: Faculdades Integradas Einstein de Limeira, 34 p., 2006.

PIGOSSI, N.; RAIÁ, A.; GAMA, A. H.; SIMONSEN, O.; HADDAD, J.; STOLF, N. A. G.; ZERBINI, E. J.; MINITI, A.; TENUTO, R. Estudo experimental e clínico sobre o emprego, como implante, da dura-máter homóloga conservada em glicerina à temperatura ambiente. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 17, n. 8, p. 263-278, 1971.

PINTO, T. J. A.; SAITO, T.; GLERAN, A. Biocompatibilidade de materiais empregados na confecção de próteses cardiovasculares: comparação entre pericárdio bovino e Dacron. **Revista Saúde Pública**, v. 27, n. 3, p. 185 – 189, 1993.

PROPHET, E. B., MILLS, B., ARRINGTON, J. B., SOBÍN, L. H. **Laboratory Methods In Histotechnology**. Washington, D.C. Armed Forces Institute of Pathology, 274 p. 1994.

PUTTINI, S. M. B. **Avaliação da resposta inflamatória desencadeada pelas telas de polipropileno e politetrafluoretileno expandido implantados no espaço intraperitoneal. Estudo experimental em camundongos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Brasília – DF, Universidade de Brasília – UnB, 93 p., 2006.

RABELO, R. E.; TAVARES, G. A.; PAULO, N. M.; SILVA, L. A. F.; DAMASCENO, A. D.; ANDRADE, M. A.; MARTINS, F. G.; ROMANI, A. F.; SILVA, O. C.; TRINDADE, B. R. Características físicas e microbiológicas do centro tendíneo diafragmático bovino conservado em glicerina a 98% e no glutaraldeído a 4%. **Ciência Animal Brasileira**, v. 5, n. 4, p. 229-238, 2004.

RAISER, A. G.; GRAÇA, D. L.; PIPPI, N. L.; ZINN, L. L.; SILVEIRA, D. S.; BORDIN, A. I.; BAIOTTO, G. C.; RIOS, M. V.; SILVEIRA, A. F. Homoimplante ortotópico de tendão calcâneo em cães. conservação, assepsia e implantação. **Ciência Rural**, v. 31, n. 1, p.89-94, 2001.

RAMOS, E. J. B. **Biocompatibilidade da tela de polipropileno e da submucosa intestinal de porco na correção de defeitos criados na parede abdominal de**

**cães. Estudo comparativo.** Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) – Curitiba – PR, Universidade Federal do Paraná – UFPR, 75 p., 2002.

RODASKI, S.; GUÉRIOS, S. D.; PERRONI, M. A.; NARDI, A. B.; SILVA, C. A. M. Esfincteroplastia anal externa experimental com membrana de peritônio bovino preservada em glicerina a 98%, em cães. **Archives of Veterinary Science**, v. 5, p. 55-60, 2000.

ROSS, M. H.; PAWLINA, W. **Histologia, texto e atlas em correlação com biologia celular e molecular**; 5ª ed. Rio de Janeiro; Guanabara Koogan; p. 731-774, 2008.

ROUSH, J. K. Biomateriais e Implantes Cirúrgicos. In: SLATTER, D., **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**; 3º ed. São Paulo: Manole; 2 v.; v. 1; p. 141-148; 2007.

SALMON, V. R. R. **Validação da esterilização a vapor com baixa temperatura e formaldeído de acordo com a norma EN 14180.** Dissertação (Mestrado em Ciência) – Curitiba – PR, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, 105 p. 2008.

SENAI - SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM INDUSTRIAL. **Resistência dos Materiais.** Florianópolis: SENAI/SC, 108p., 2004.

SCALCO, P. P. C.; COSTA, R. G.; LONTRA, M. B.; JOTZ, G. P.; MARQUES, F. B.; CAVAZZOLA, L. T. Comparação entre a tela de submucosa intestinal suína acelular (Surgisis®) e a tela polipropileno (Marlex®) na formação de aderências peritoneais – estudo experimental em ratos. **Revista da AMRIGS**, v. 52, n. 3, p. 197-203, 2008.

SCHANAIDER, A.; SILVA, P. C. Uso de animais em cirurgia experimental. **Acta Cirúrgica Brasileira** [serial online] v. 19, n. 4; Disponível em: <http://www.scielo.br/acb>, 2004.

SONCINI DA ROSA, G. R.; COSTA, F. D.; VILANI, A. R. G. D. C.; SOUZA, F. P.; REICHERT, L.; COSTA, I. S. E. A. Utilização do etanol na prevenção da calcificação em heteroenxerto valvar pulmonar porcino: estudo experimental em ovinos. **Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery** v. 21, n. 3, p. 304-313, 2006.

THOMSON, R. G. **Patologia Geral Veterinária**, 1º ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 145-246, 1983.

VASCONCELOS, L. W. Técnicas cirúrgicas para obtenção de enxerto ósseo autógeno. **Revista da Faculdade de Odontologia de Lins**, v. 12, n. 1/2, 2000.

VAZ, M. **Avaliação do tempo de fibroplasia em tela de polipropileno na correção de hérnia incisional na parede abdominal: estudo experimental em ratos.** Tese (Doutorado em Medicina: Cirurgia) – Porto Alegre – RS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, 84 p., 2007.

VENTURELLI, A. C.; TORRES, F. C.; ALMEIDA-PEDRIN, R. R.; ALMEIDA, R. R.; ALMEIDA, M. R.; FERREIRA, F. P. C. Avaliação microbiológica da contaminação residual em diferentes tipos de alicates ortodônticos após desinfecção com álcool 70%. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, v. 14, n. 4, p. 43-52, 2009.

ZIMMERMANN, M. **A membrana de látex como implante para correção de defeitos musculares em cães e coelhos.** Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Santa Maria – RS, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, 52 p., 2007.