

## CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E MICROBIOLÓGICAS DO CENTRO TENDÍNEO DIAFRAGMÁTICO BOVINO CONSERVADO EM GLICERINA A 98% E NO GLUTARALDEÍDO A 4%

ROGÉRIO ELIAS RABELO<sup>1</sup>, GILBERTO ANTÔNIO TAVARES<sup>3</sup>, NEUSA MARGARIDA PAULO<sup>2</sup>, LUIZ ANTÔNIO FRANCO DA SILVA<sup>2</sup>, ADILSON DONIZETI DAMASCENO<sup>4</sup>, MARIA AUXILIADORA ANDRADE<sup>2</sup>, FERNANDO GOMES MARTINS<sup>5</sup>, ALANA FLÁVIA ROMANI<sup>1</sup>, OLÍZIO CLAUDINO DA SILVA<sup>2</sup> E BRUNO RODRIGUES TRINDADE<sup>6</sup>

1. Professores Assistentes do Departamento de Medicina Veterinária do Campus Avançado de Jataí da Universidade Federal de Goiás (CAJ/UFG), BR 364, km 192 – CP 03 – Setor Rural – Jataí, GO.
2. Professores do Departamento de Medicina Veterinária da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás (EV/UFG) – CP 131, CEP 74001-970 – Goiânia, GO
3. Professor do Instituto de Matemática e Física da UFG
4. Doutorando em Ciência Animal, área de concentração Patologia, Clínica e Cirurgia da EV/UFG
5. Acadêmico do curso de Física do Instituto de Matemática e Física da UFG
6. Acadêmico do curso de Medicina Veterinária da EV/UFG

### RESUMO

Realizaram-se testes físicos de tração e alongamento até ruptura em dez tiras com 5 a 6 mm de largura, do exemplar *in natura* e dos respectivos exemplares conservados em glicerina a 98% e glutaraldeído a 4% por 30 dias para a avaliação da influência de ambos os conservantes sobre o tecido biológico, com vistas ao aproveitamento em cirurgias reparadoras. Paralelamente, avaliou-se a atividade anti-séptica dos conservantes, por meio de exames microbiológicos de fragmentos colhidos do material *in natura* e dos respectivos exemplares submetidos à conservação. Os testes físicos mostraram que sete amostras conservadas em glutaraldeído a 4% suportaram maior força de tensão, quando comparadas com os respectivos exempla-

res *in natura* e conservados em glicerina a 98%. Duas amostras apresentaram comportamento semelhante quanto ao ponto de rompimento, para ambos os conservantes. Apenas em uma amostra verificou-se que o material *in natura* apresentou um ponto de rompimento superior às amostras conservadas. Observou-se crescimento bacteriano apenas em quatro amostras no material *in natura*. Os mesmos exames realizados em amostras conservadas não revelaram nenhum crescimento. Conclui-se que tanto a glicerina a 98% quanto o glutaraldeído a 4% demonstraram ser eficientes na conservação do material, bem como na atividade bactericida durante o período de 30 dias.

### PALAVRAS-CHAVE:

### SUMMARY

Physical and microbiological characteristics of the 4% glutaraldehyde, 98% glycerine conserved bovine diaphragmatic tendineous center

Ten 5 to 6 mm width strips of fresh, 4% glutaraldehyde and 98% glycerine conserved bovine diaphragmatic tendineous center for 30 days was subjected to tension and extension physical tests until rupture to evaluation the influence of both conservative agents in tissue, aiming it utilization in reconstructive surgery. At this time, the antiseptic action of the conservative agents

in fresh and conserved samples was evaluated through the microbiological tests. The physical tests showed that seven 4% glutaraldehyde conserved samples supported higher tensile strength than fresh and 98% glycerine conserved samples. Two samples showed similar behaviour about rupture point for both conservative agents. In only one sample the fresh strip showed a higher rupture point than

conserved strips. The bacterial growth was observed in four fresh samples only. The same test in conserved strips didn't show bacterial growth. It follows that 4% glutaraldehyde

and 98% glycerine was efficient as conservative agents for bovine diaphragmatic tendineous center and showing efficiency antiseptic activity during 30 days.

#### KEY WORDS:

## INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As membranas biológicas têm sido pesquisadas com o objetivo de reparar alterações anatômicas congênitas ou adquiridas e, dentre essas, as falhas na parede abdominal (ALVARENGA, 1992; PREVEL et al., 1995; KAMA et al., 1999; GIROTTO et al., 2003; QUITZAN et al., 2003). Destaca-se, nesse contexto, em Medicina Veterinária, o emprego da dura-máter homogênea em cão (PIGOSSI, 1964), do pericárdio equino em cão (STOPIGLIA et al., 1986; RANZANI et al., 1990), do peritônio bovino em cão (DALECK et al., 1988), do pericárdio bovino (ALVARENGA, 1992; QUITZAN et al., 2003), do músculo grande dorsal autógeno em cão (BARREIROS et al., 1996), do ligamento nucal bovino em cão (DALECK et al., 2000), do diafragma homólogo em cão (MAZZANTI, 2000) e do centro tendinoso de ovinho em cão (MAZZANTI et al., 2000).

Os bioimplantes requerem diferentes técnicas de conservação, no intuito de preservar sua viabilidade e diminuir sua antigenicidade. A preservação pode ser feita por congelamento ou por agentes químicos, como as soluções mercuriais, betapropiolactona (RAISER et al., 2001), ácido acético glacial (PAULO, 1997), ácido peracético (PREVEL et al., 1995); glicerina (RICHA, 1987; PAULO, 1997; QUITZAN et al., 2003), solução supersaturada de açúcar (D'OLIVEIRA, 1999) e o glutaraldeído (SANTILLÁN-DOHERTY et al., 1995; MARTINS et al., 2000; RAISER et al., 2001).

A preservação dos implantes não pressupõe a manutenção da viabilidade celular, sendo que a eficiência da cirurgia reparadora, geralmente, está associada à reação biológica de reparação e não à sobrevivência dos elementos celulares presentes no implante, uma vez que o implante funciona como um arcabouço ou suporte temporário à migração de fibroblastos. Além disso, os agentes conservantes são

substâncias dotadas de ação germicida ou germiostática, as quais se destinam a evitar as alterações que possam ocorrer em qualquer conservado, proveniente de proliferação microbiana (PRISTA et al., 1990).

A glicerina a 98% tem sido utilizada na esterilização e conservação das membranas biológicas, como demonstrado por PIGOSSI (1964), INATOMI et al. (1980), DALECK et al. (1992), COSTA NETO et al. (1999) e DALECK et al. (2000).

PIGOSSI (1964) verificou que essa solução, além de ser um poderoso anti-séptico, desidrata o tecido, substituindo a maior parte da água intracelular, sem, entretanto, alterar a concentração iônica das células, protegendo sua integridade. PIGOSSI (1967) citou que a glicerina reduz a antigenicidade, preserva a textura das peças e apresenta poder anti-séptico com amplo espectro de ação, excetuando-se as formas bacterianas esporuladas. PAULO et al. (2000), trabalhando com segmentos homólogos de artéria carótida conservada em glicerina a 98%, relataram que este conservante foi capaz de preservar a arquitetura do tecido conservado, não havendo degeneração de suas fibras.

As membranas biológicas devem ser conservadas em glicerina por um período mínimo de trinta dias (DALECK et al., 1992; SARTORI FILHO et al., 1997; COSTA NETO et al., 1999), e há relatos de conservação por seis (INATOMI et al., 1980) e sete meses (PIGOSSI, 1967).

O glutaraldeído constitui-se em um agente anti-séptico e desinfetante pertencente ao grupo dos aldeídos, sendo largamente utilizado como desinfetante e esterilizante químico, por ser considerado pouco irritante e de amplo espectro bactericida (CÁRDENAS-LAILSON et al., 1997).

A eficiente atuação do glutaraldeído a 4% na preservação de placentoma bovino foi citada por MARTINS et al. (2000). SANTILAN-DOHERTY et al. (1995) utilizaram o glutaraldeído em diferentes concentrações, na preservação de pericárdio bovi-

no para a reparação de defeitos na parede toracoabdominal, conferindo a conservação da resistência adequada aos tecidos na concentração de 0,5%. GALLO et al. (1982) utilizaram a solução de glutaraldeído para a conservação do pericárdio bovino e suíno para fins de implantação, verificando que o conservante manteve inalteradas as estruturas morfológicas do implante nos aspectos macro e microscópios, além de garantir uma baixa antigenicidade.

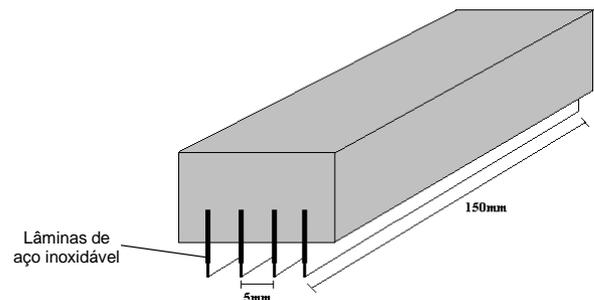
Este trabalho objetivou avaliar a resistência à tração e ao alongamento até a ruptura do centro tendíneo diafragmático de bovinos após conservação em glicerina a 98% e em glutaraldeído a 4% e a eficiência de ambos os conservantes como agentes anti-sépticos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se, neste estudo, dez amostras de centro tendinoso diafragmático de bovinos adultos, com idade média de 24 meses, da raça Girolando, oriundos de um mesmo sistema de criação e abatidos em frigorífico sob Inspeção Federal. Após a colheita, as amostras foram transportadas sob refrigeração e posteriormente lavadas em água corrente, removendo-se os excessos teciduais e resquícios de sangue. Concluído o processo de limpeza, foram obtidas da parte central de cada membrana tendinosa três tiras de 5 a 6 mm de largura e de comprimentos variáveis, em virtude da não-uniformidade do material. Nesse processo, empregou-se instrumento de corte desenvolvido para essa finalidade, que consistiu de quatro lâminas de aço inoxidável paralelas de 150 mm de comprimento, espaçadas entre si 5 mm, e fixadas em base de madeira (Figura 1).

A tira central, como exemplar do material *in natura*, foi submetida, imediatamente, a testes físicos de esforços no Laboratório de Ensino do Instituto de Física da Universidade Federal de Goiás. Os dois fragmentos remanescentes foram submersos em solução de polivinilpirrolidona-iodo (PVPI) a 1% (Riodeine tópico, Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda., São José do Rio Preto, SP) por 24 horas, conforme recomendado por PAULO (1997), em frascos de cor âmbar previamente identificados e tamponados. Ao final desse período, o material foi

lavado com solução de cloreto de sódio 0,9% (solução fisiológica 0,9%, Halex Istar Indústria Farmacêutica Ltda., Goiânia, GO) esterilizada, para a remoção dos resíduos de PVPI. Em seguida, cada exemplar foi colocado, de forma equitativa, em frascos esterilizados contendo glicerina a 98% (Labyrinth Produtos para Laboratório Ltda., Diadema, SP) ou glutaraldeído a 4% (Glutaron, Indústria Farmacêutica Bioquímica Ltda., São José do Rio Preto, SP), totalizando vinte amostras, que foram mantidos nessas soluções por um período de trinta dias em frascos tamponados. Os fragmentos permaneceram submersos com auxílio de tampões de gaze esterilizada. Após esse tempo, foram submetidas ao mesmo teste físico anteriormente aplicado ao respectivo exemplar *in natura*.



**FIGURA 1.** Instrumento de corte desenvolvido para obtenção das tiras de centro tendíneo diafragmático.

Os testes físicos basearam-se na teoria de física básica experimental, em que a resistência à tração linear verificada a partir de medições da variação de comprimento e largura das tiras dos tecidos submetidas a forças crescentes de tração efetuadas por um paquímetro tipo Mytutoyo. Para isso, os fragmentos foram fixados em cada extremidade, por presilhas. Uma presilha foi fixada em um pino de sustentação fixo, mantendo-se o fragmento e a outra presilha suspensos. Essa presilha, de 28,5 g, foi a massa inicial utilizada para produzir a primeira deformação no fragmento e também para apoiar massas aferidas, submetendo-se as tiras às forças gradativas de 0,5 Newton (N), até o rompimento efetivo. O emprego desse modelo físico foi fundamental para determinar eventuais alterações no material, decorrentes das ações químicas tanto da glicerina como do glutaraldeído.

As variáveis como força de tensão de ruptura das amostras de centro tendíneo diafragmático foram submetidas à análise de variância após atendidas as

exigências para ela (normalidade, homogeneidade de variância) para determinação de diferenças significativas (SAMPAIO, 1998) e pelo Teste “t” de Student para identificação da fonte responsável pela diferença ou variação, conforme CURI (1997).

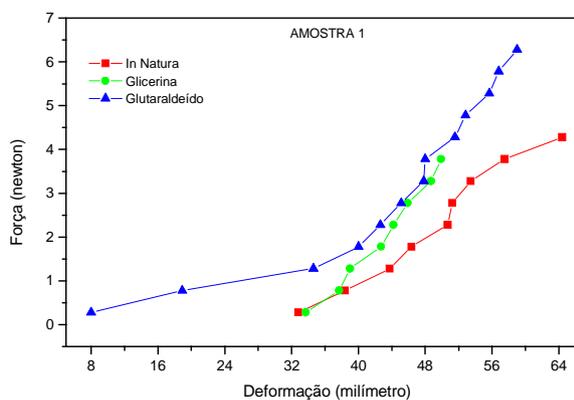
Para os exames microbiológicos foram colhidos e processados trinta centros tendinosos diafragmáticos de bovinos com as mesmas características raciais dos animais utilizados para colher o material empregado nos testes físicos. Após lavagem em água corrente e remoção de aparas, com tesouras esterilizadas, as membranas foram submetidas à anti-sepsia com PVPI, sendo quinze amostras destinadas à conservação em solução esterilizada de glicerina 98% e quinze em glutaraldeído a 4% em recipientes previamente identificados, seguindo a mesma metodologia adotada para os testes físicos.

Após serem submetidos ao processo de conservação, fragmentos de 2 x 2 cm de cada membrana foram colhidos em capela de fluxo laminar. As amostras, individualmente, foram transferidas para tubos de ensaio contendo caldo tioglicolato e selenito-cistina, que foram incubadas em estufa a 37°C por 24 horas. As amostras que não apresentaram qualquer reação que caracterizasse crescimento bacteriano foram observadas por mais 48 horas, com o intuito de certificação do resultado. As amostras que apresentaram modificação das características do meio foram repicadas para o meio de McConkey e ágar-sangue e incubadas a 37°C por 24 horas. As unidades formadoras de colônias (ufcs) que se desenvolveram nos dois meios foram avaliadas morfológicamente, empregando-se lupa de magnificação, para identificação de diferentes tipos de colônia. Essas ufc's foram purificadas em ágar Casoy (TSA) a 37°C/24-48 horas e submetidas à triagem em ágar triplice açúcar ferro (TAF) a 37°C/18-24 horas. As ufc's que se desenvolveram em TSA foram submetidas ao teste de hidróxido de potássio (KOH) e da catalase. O crescimento em TAF foi utilizado em provas bioquímicas básicas, visando à identificação da espécie bacteriana, como a produção da urease, indol, reação do vermelho de metila e

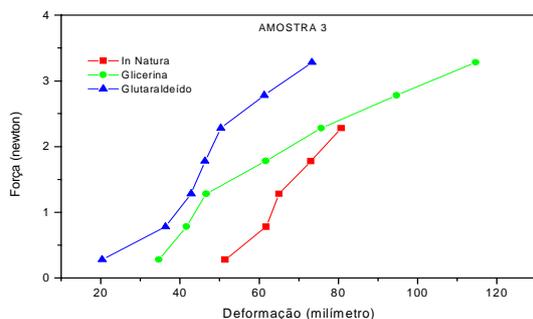
Voges Proskauer e citrato de Simmon, denominadas genericamente como IMViC, e a fermentação de carboidratos (glicose/gás; lactose, sacarose, maltose, malonato; manitol, dulcitol, salicina, inositol, arabinose, rafinose e raminose), conforme descrito por KONEMAN et al. (1997).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

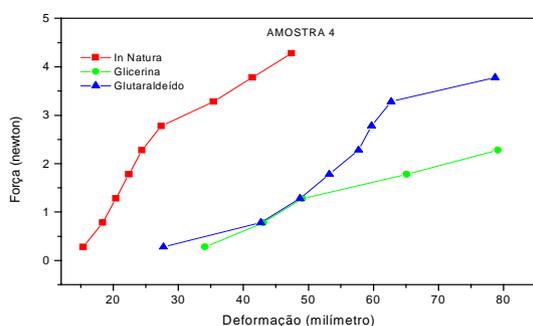
Os testes físicos realizados nas dez amostras de centro tendíneo diafragmático mostraram que sete exemplares (70%) conservados em glutaraldeído a 4% suportaram maior força de tensão, quando comparados com os respectivos exemplares *in natura* e conservados em glicerina a 98%, como exemplificado na Figura 2. Dois exemplares (20%) apresentaram comportamento semelhante quanto ao ponto de rompimento, para a conservação em glicerina a 98% e glutaraldeído 4%, conforme exemplificado na Figura 3. Apenas em um caso (10%), verificou-se que o exemplar *in natura* apresentou um ponto de rompimento superior aos respectivos exemplares submetidos à conservação (Figura 4).



**FIGURA 2.** Deformação das tiras (mm) de centro tendíneo diafragmático de bovino da amostra 1, *in natura* e conservadas em glicerina a 98% e no glutaraldeído a 4% por 30 dias em função da força de tensão (N) até a ruptura.



**FIGURA 3.** Deformação das tiras (mm) de centro tendíneo diafragmático de bovino da amostra 3, *in natura* e conservadas em glicerina a 98% e no glutaraldeído a 4% por 30 dias em função da força de tensão (N) até a ruptura.



**FIGURA 4.** Deformação das tiras (mm) de centro tendíneo diafragmático de bovino da amostra 4, *in natura* e conservadas em glicerina a 98% e no glutaraldeído a 4% por 30 dias em função da força de tensão (N) até a ruptura.

Os testes físicos mostraram que o centro tendinoso diafragmático apresenta um comportamento elástico heterogêneo para cada animal. Esse comportamento não é linear e difere entre as amostras, como se pode observar pelo tipo de curva encontrada nas Figura 1, 2 e 3. Na análise dos resultados das amostras *in natura*, excetuando-se as amostras três, sete e dez, verificou-se que os pontos de rompimento ocorreram quando as tiras foram submetidas à força de tensão compreendidas entre 4,78 e 5,28 N. A amostra dez apresentou um comportamento anômalo, em que seu rompimento ocorreu somente após uma tração de 9,78 N, mostrando ser mais resistente em relação às demais membranas. Em virtude de apresentar um ponto de ruptura muito superior em relação às demais, caracterizando um comportamento discrepante, esta amostra foi retirada das análises estatísticas, de modo a evitar

uma interferência indesejável de uma única amostra sobre as conclusões dentro do grupo e entre os tratamentos.

A obtenção de resultados tão heterogêneos não era esperada em virtude do estabelecimento de critérios para colheita da amostra como: origem (mesmo frigorífico), raça (Girolando), idade média (24 meses), mesmo grupo contemporâneo e submetido ao mesmo manejo. Entretanto, é sabido que, em se tratando de biologia, variações de caráter individual podem existir. A despeito disso, trabalhos que empregam testes físicos para a avaliação de membranas biológicas são raros, e esses não fornecem subsídios para determinação das possíveis causas de tal variação ou justificativas para o achado em questão.

O instrumento idealizado para a obtenção de fragmentos de centro tendíneo diafragmático para determinação das medidas de deformação após aplicação de forças controladas permitiu obter tiras com dimensões semelhantes. As variações individuais foram desconsideradas, em virtude de as características físicas do tecido dificultarem o procedimento de corte, impedindo uma maior homogeneidade das amostras. Mesmo considerada essa possibilidade, macroscopicamente, todos os fragmentos mostraram-se de forma retilínea, sem qualquer ponto de fragilidade. A presença de tiras não-uniformes incorreria na obtenção de valores imprecisos, o que invalidaria o estudo. Fragmentos com dimensões mais precisas poderiam ser obtidos utilizando-se aparelhos automáticos especiais, como aqueles empregados por SANTILLÁN-DOHERTY et al. (1995) e PIGOSSI (1964). Contudo, em virtude da carência de equipamentos dessa natureza, optou-se por uma opção mais simples.

Os dados avaliados estatisticamente indicam que, em média, as amostras *in natura* submetidas a esforços lineares se romperam sob a ação de forças de tensão da ordem de  $4,61 \pm 0,97$  N. As amostras conservadas em glicerina a 98% e no glutaraldeído a 4% apresentaram ponto de ruptura médio de  $4,28 \pm 0,79$  N e  $5,58 \pm 1,25$  N, respectivamente (Tabela 1).

Por meio da Análise de Variância (Tabela 2), verificou-se que existe diferença entre os tratamentos ( $p < 0.05$ ), uma vez que o F tabelado (3,40), segundo os graus de liberdade da fonte testada e do erro, é

menor que o F calculado (3,79). Com base nesse resultado, empregou-se o Teste “t” de Student, conforme CENTENO (1999). O cálculo da diferença mínima significativa (DMS) foi empregado para a comparação das médias das forças (N) no ponto de ruptura das amostras de centro tendíneo

diafragmático considerados no estudo (Tabela 3). Ao nível de significância de 5%, verificou-se diferença significativa entre as amostras de centro tendíneo diafragmático conservadas em glicerina a 98% e no glutaraldeído a 4%, sem diferença entre os demais tratamentos.

**TABELA 1.** Estatística descritiva entre as forças (N) nos pontos de ruptura das amostras de centro tendíneo diafragmático de bovino, *in natura* e conservadas em glicerina a 98% e no glutaraldeído a 4% por trinta dias.

In natura		Glicerina		Glutaraldeído	
Média	4,61	Média	4,28	Média	5,58
Mediana	4,78	Mediana	4,28	Mediana	5,28
Moda	4,78	Moda	4,28	Moda	6,78
Desvio padrão	0,97	Desvio padrão	0,79	Desvio padrão	1,25
CV	21,04%	CV	18,46	CV	22,40%

**TABELA 2.** Teste F (ANOVA) empregado na determinação da diferença entre as forças (N) de tensão de ruptura das amostras de centro tendíneo diafragmático de bovino, *in natura* e conservadas em glicerina a 98% e no glutaraldeído a 4% por trinta dias.

Fonte da variação	GL	SQ	QM	F	valor-P	F crítico
Tratamento	2	7,91	3,95	3,79	0,037	3,40
Erro	24	25,05	1,04			
Total	26	32,96				

$p < 0,05$

**TABELA 3.** Forças nos pontos de ruptura (N) das amostras de centro tendíneo diafragmático de bovino, *in natura* e conservadas em glicerina a 98% e no glutaraldeído a 4% por trinta dias.

Comparações	Média
<i>In natura</i>	4.61ab
Glicerina	4.28b
Glutaraldeído	5.58a

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ )  
DMS: 0,994

Para as amostras conservadas em glicerina a 98% por 30 dias, não se observou diferença significativa em relação aos testes efetuados com as amostras *in natura*, apesar de, em alguns exemplares do material, o rompimento ter sido verificado sob força de tração inferior às obtidas no material *in natura*. Esses achados indicam que a conservação em glicerina a 98% por 30 dias pouco influenciou nas características físicas do material, quando comparadas ao material *in natura*. Entretanto, PIGOSSI (1964), ao trabalhar com dura-máter de cão conservada por 30 dias em glicerina a 98%,

verificou que houve um incremento da resistência linear à tração do material *in natura* para o conservado em glicerina, de 7,76 N para 14,60 N, contrariando os resultados obtidos neste estudo. Por sua vez, DALECK et al. (1988) verificaram que o peritônio de bovino conservado em glicerina a 98% por um período de 60 dias não sofreu alteração em relação à elasticidade e aparentemente manteve-se inalterada sua resistência. Estudos histológicos não revelaram qualquer alteração na constituição da membrana. Contudo, PIGOSSI et al. (1971) comprovaram a manutenção da arquitetura da dura-máter e a preservação das propriedades físicas de seus elementos constitutivos, após conservação em glicerina. Sugeriu-se que isso se devesse à ausência de degeneração das fibras do material conservado, talvez por ação inibidora enzimática por parte da glicerina. Reforçaram a hipótese sobre o papel exercido na preservação pelo efeito desidratante da glicerina, sem alteração das características fundamentais da textura do tecido.

As amostras conservadas em glutaraldeído a 4% por 30 dias apresentaram diferença significativa em sua resistência à tração até ruptura, quando comparadas com as amostras conservadas em glicerina a 98%, em que seu ponto médio de ruptura foi em 5,58 N. Segundo SANTILLÁN-DOHERTY et al. (1995), o glutaraldeído melhorou a estabilidade bioquímica do pericárdio bovino, desencadeando mudanças em suas características mecânicas, tornando-o mais resistente e permitindo assim sua incorporação biológica, fato que corrobora com os resultados observados neste estudo. SPINOSA (1999) descreveu que a ação bactericida do glutaraldeído é determinada pela alquilação de grupos amino e sulfidrílicos (-SH) de proteínas e do nitrogênio do anel da base purina dos ácidos nucleicos (DNA e RNA) da célula bacteriana e, também, que pode interferir nas proteínas da membrana e do citoplasma das bactérias. Relacionam-se como características positivas sua eficácia contra todos os tipos de microrganismos, inclusive vírus e esporos bacterianos, e como fator negativo, sua inativação na presença de matéria orgânica.

Apesar de não ter sido observadas nas análises estatísticas diferenças entre o material *in natura*

e o conservado em glutaraldeído a 4%, a análise das médias dos diferentes tratamentos (Tabela 1) revelou que as amostras conservadas em glutaraldeído a 4% tendem a ser mais resistentes em relação aos demais tratamentos.

No concernente à microbiologia, observou-se que, das 30 amostras *in natura*, após imersão em PVPI por 24 horas sob refrigeração, revelou-se crescimento dos microrganismos *Plesiomonas* spp., nas amostras 2, 9 e 12; *Aeromonas* spp. e *Escherichia coli*, na amostra 6, e de *Pseudomonas aeruginosa* na amostra 9, evidenciando que tal procedimento não foi completamente eficiente na anti-sepsia do material a ser estocado. Os resultados após o período de conservação tanto em glicerina a 98% quanto em glutaraldeído a 4% comprovaram a ação anti-séptica, de ambos os conservantes, sobre as formas vegetativas bacterianas. PIGOSSI (1964) descreveu que a glicerina age como um poderoso anti-séptico de amplo espectro de ação, à exceção das formas esporuladas. A mesma observação foi feita por NETO et al. (2000), ao avaliarem a ação antimicrobiana da glicerina a 98% sobre microrganismos (*Streptococcus pyogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Candida albicans* e forma esporulada de *Bacillus cereus*) inoculados experimentalmente em ligamento nugal de bovino. Neste estudo, apenas a forma esporulada resistiu à ação germicida da glicerina a 98% após 30 dias de conservação.

## CONCLUSÕES

O centro tendíneo diafragmático de bovino conservado em glutaraldeído a 4% durante 30 dias apresentou um incremento em sua resistência quando comparado ao material *in natura*. O centro tendíneo diafragmático de bovino conservado em glicerina a 98% durante 30 dias não apresentou diferenças significativas quanto à resistência, quando comparado ao material *in natura*. Tanto a glicerina a 98% quanto o glutaraldeído a 4% após 30 dias de conservação do centro tendíneo diafragmático de bovino comprovaram a eficiência de sua ação anti-séptica sobre as formas vegetativas bacterianas observadas neste estudo.

## REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, J. Possibilidades e limitações da utilização de membranas biológicas em cirurgia. In: SEMANA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROPECUÁRIA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, 23., Jaboticabal. **Resumos...** Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 1992, p.33-42.
- BARREIROS, L. J.; RODASKI, S.; SUSKO, I.; WERNER, P. R. Uso experimental do músculo grande dorsal autólogo na reparação dos grandes defeitos diafragmáticos no cão. **Revista do Setor de Ciências Agrárias**, Curitiba, v.15, n.1, p. 141-150, 1996.
- CARDENAS-LAILSON, L. E.; GLAVÁN-MONTAÑO, A.; MALAGÓN-HIDALGO, H. O. Modelo experimental del uso de pericardio de bovino tratado con glutaraldehído, comparado con malla de silicón para el tratamiento de los defectos congénitos de la pared abdominal. **Cir. Gen.** v.19, n.2, p.116-119, 1997. Disponível em: <<http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online>>. Acesso em: 26 jun. 2002.
- COSTA NETO, J. M.; DALECK, C. L. M.; PADILHA FILHO, J. G. Tenoplastia experimental do calcâneo em cães com peritônio bovino conservado em glicerina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 4, p. 697-703, 1999.
- CURI, P. R. **Metodologia e análise de pesquisa em ciências biológicas**. Botucatu: Téponic Gráfica e Editora, 1997. 263p.
- D'OLIVEIRA, K. S. **Reparação cirúrgica extra-articular da ruptura do ligamento cruzado cranial de cão (*Canis familiaris*) com centro frênico heterólogo preservado em glicerina**. São Paulo, 1999. 57 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.
- DALECK, C. R.; DALECK, C. L. M.; ALESSI, A. C.; PADILHA FILHO, J. G.; COSTA NETO, J. M. Substituição de um retalho diafragmático de cão por peritônio de bovino conservado em glicerina: estudo experimental. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v. 4, n. 1, p. 53-61, 1988.
- DALECK, C. R.; DALECK, C. L. M.; PADILHA FILHO, J. G. Reparação de hérnia perineal em cães com peritônio de bovino conservado em glicerina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 22, n. 2, p. 179-183, 1992.
- DALECK, C. R.; NETO, J. M. C.; ALESSI, A. C.; VICENTI, F. A. M.; FANTINATTI, A. P.; FRANCISCO, M. M. S.; MARTINS, M. R. Reparação cirúrgica da *pars musculares* do diafragma por ligamento nugal xenólogo conservado em glicerina a 98%: estudo experimental em cães (*canis familiaris*- Linnaeus-1758). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIRURGIA E ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA, 4., 2000, Goiânia. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia: CBCAV/EV-UFG, v.1, suplemento, p.103, 2000. [Resumos].
- GALLO, J. I.; ARTIÑANO, E.; VAL, F. Glutaraldehyde-preserved heterologous pericardium for the repair of diaphragmatic defects. **Journal Thoracic Cardiovascular Surgery**, Philadelphia, v. 83, n. 6, p. 905-908, 1982.
- GIROTTI, J. A.; CHIARAMONTE, M.; MENON, N. G.; SINGH, N.; SILVERMAN, R.; TUFARO, A.P.; NAHABEDIAN, M.; GOLDBERG, N. H.; MANSON, P. N. Recalcitrant abdominal wall hernias: long-term superiority of autologous tissue repair. **American Society of Plastic Surgeons**, Baltimore, v.112, n. 1, p. 106-114, 2003.
- INATOMI, L. S.; PRANTONI, G. A.; RAISER, A. G. Implante de dura-máter heteróloga em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 10, n. 3, p. 291-297, 1980.
- KAMA, N.A.; COSKUN, T.; YAVUZ, H.; DOGANAY, M.; REIS, E. AKAT, Z. Autologous skin graft, human dura mater and polypropylene mesh for the repair of ventral abdominal hernias: na experimental study. **European Journal of Surgery**, v. 165, n. 1080-1085, 1999.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN JR., W.C. **Color atlas and textbook of diagnostic microbiology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1997. 1395p.

MARTINS, E.; MARTINS, V. M. V.; MARQUES JÚNIOR, A. P.; VASCONCELOS, A. C.; CHIARINI-GARCIA, H.; MALARD, P.F. Bovine placentome preservation for light microscopy evaluation. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 52, p. 117-124, 2000.

MAZZANTI, A. **Músculo diafragma homólogo conservado em solução supersaturada de açúcar envolvido ou não com segmento omental para reparação do diafragma de cão**. Santa Maria, RS, 2000. 62 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2000.

MAZZANTI, A.; PIPPI, N. L.; RAISER, A. G.; GRAÇA, D. L.; SILVEIRA, A. F.; RAPPETI, J. C. S.; BRAGA, F.A. Análise do músculo diafragma de cão conservado em glicerina a 98% em temperatura ambiente. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIRURGIA E ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA, 4., 2000, Goiânia. **Ciência Animal Brasileira, Goiânia: CBCAV/ EV-UFG**, v.1, suplemento, p. 99, 2000. [Resumos].

NETO, J. M. C.; DALECK, C. R.; VICENTI, F. A. M.; ALESSI, A. C.; FANTINATTI, A. P.; SÁ, M. J. C. Ligamento nugal de bovino conservado em glicerina a 98%, como biomaterial para enxertos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIRURGIA E ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA, 4., 2000, Goiânia. **Ciência Animal Brasileira, Goiânia: CBCAV/ EV-UFG**, v. 1, suplemento, p. 98, 2000. [Resumos].

PAULO, N. M. **Estudo comparativo entre membrana amniótica de equino preservada em glicerina a 98% e em ácido acético glacial a 0,25**

**% no tratamento de feridas cutâneas experimentais no cão**. São Paulo, 1997. 62 f. Tese (Doutorado em Cirurgia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

PAULO, N. M.; FISCHER, P.; MATOS, M. P. C.; CONCEIÇÃO, M.; FREITAS, J. S.; FILHO, W. A. S.; BRITO, W. C. R.; AMARAL, A. V. C. Uretroplastia experimental de substituição em cães com segmentos homólogos de artéria carótida conservada em glicerina. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.1, n.1, p.65-71, jan.-jun. 2000.

PIGOSSI, N. **A glicerina na conservação da dura-máter: estudo experimental**. São Paulo, 1967. 36 f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1967.

PIGOSSI, N. Implantação de dura-máter homogênea conservada em glicerina: estudo experimental em cães. **Arquivos de Cirurgia e Clínica Experimental**, São Paulo, n. 27, p. 213-247, 1964.

PIGOSSI, N.; RAIÁ, A.; LEX, A. Estudo experimental sobre o emprego, como implante, da dura-máter homogênea conservada em glicerina à temperatura ambiente. **Revista Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 17, n. 8, p. 263-278, 1971.

PREVEL, C.D.; EPPLEY, B.L.; SUMMERLIN, D.J.; JACKSON, J.R.; MCCARTY, M.; BADYLAK, S.F. Small intestinal submucosa: utilization for repair of rodent abdominal wall defects. **Annals of Plastic Surgery**, v. 35, p. 374-380, 1995.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. M. R. **Técnica farmacêutica e farmácia galênica**. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste, v. 2, 1990. 508p.

QUITZAN, J.G.; RAHAL, S.C.; ROCHA, N.S.; CROCCI, A.J. Comparação entre o pericárdio bovino preservado em glicerina e malha de poliéster no reparo de falhas da parede abdominal em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.18, n. 4, p. 297-301, 2003.

RAISER, A. G.; GRAÇA, D. L.; PIPPI, N. L.; ZINN, L. L.; SILVEIRA, 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**, Santa Maria, v. 31, n. 1, p. 89-94, 2001.

RANZANI, J. J. T.; GANDOLFI, W.; FRANCO, M.; CASTRO, G. B.; NICOLETTI, J. L. M. Implante de pericárdio de equino preservado em glicerina em solução de continuidade do diafragma de cão. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 65-73, 1990.

RICHA, R. V. R. Nuestra experiencia en glicerina en el tratamiento de las grandes hernias ventrales. **Revista Médica**, Panamá, v. 19, n. 2, p. 109-117, 1987.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação

de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.

SANTILLÁN-DOHERTY, P.; VICTORIA, R. J.; VEJA, A. S. Reparacion de defectos di pared tóracoabdominal de perros com bioprótesis de pericárdio bovino. **La Revista de Investigación Clínica**, Ciudad del México, v. 47, n. 6, p. 439-446, 1995.

SARTORI FILHO, R.; GANDOLFI, W.; BANDARRA, E. P. Emprego de membrana biológica na reparação das lesões tendíneas em coelhos. **Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 9, p. 69-77, 1997.

SPINOSA, H. S. **Farmacologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 545p.

STOPIGLIA, A. J.; ALVARENGA, J.; BARROS, P. S. M.; GERRA, J. L.; IWASAKI, M. Reparation chirurgicale de la paroi thoracique du chien. **Le Point Vétérinaire**, Paris, v. 18, n. 97, p. 239-43, 1986.