

Cadáveres de caninos conservados con alcohol etílico y sal de cura y embalados al vacío para la enseñanza de la cirugía veterinaria

Dogs corpses preserved with ethyl alcohol and curing salt and vacuum-packed for teaching veterinary surgery

Geovana Coelho Ferreira¹, Natália Teresina Brandão Costa¹, Marita Vedovelli Cardozo², Andréa Barros Piazzon de Souza Queiroz^{1,3}, Thiago André Salvitti de Sá Rocha¹, Fabrício Singaretti de Oliveira¹

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue analizar biomecánicamente la piel de cadáveres de caninos preparados químicamente con alcohol etílico y sal de cura, y embalados al vacío, para la práctica de la cirugía veterinaria, además de obtener la evaluación microbiológica que se puede presentar durante el proceso. Se trabajó con ocho cadáveres de caninos, de peso 7.96 ± 1.48 kg. Los animales fueron inyectados con 120 ml/kg de una solución de cloruro de sodio al 20%, nitrito al 1% y nitrato de sodio al 1%, y 150 ml/kg de alcohol con glicerina al 5% y se mantuvieron en envases al vacío a temperatura entre 0 y 4 °C. Se tomaron muestras de piel el día 0 (muestras frescas) y los días 30, 60, 90 y 120 para análisis biomecánico, así como para análisis microbiológico de los fluidos en los envases del embalaje plástico. La fuerza máxima de ruptura presentada

¹ Departamento de Morfología y Fisiología Animal, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad Estadual de São Paulo (UNESP), Jaboticabal, São Paulo, Brasil

² Departamento de Patología Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad Estadual de São Paulo (UNESP), Jaboticabal, São Paulo, Brasil

³ E-mail: andrea.queiroz@unesp.br

Recibido: 9 de noviembre de 2020

Aceptado para publicación: 30 de abril de 2021

Publicado: 24 de agosto de 2021

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

por el grupo control y en los días de conservación demostró que la fijación con las sales de cura y el almacenamiento en embalajes al vacío mantuvo las características biomecánicas de la piel hasta por 120 días en los cadáveres bajo refrigeración.

Palabras cleva: anatomía, animal, cirugía, diéresis, sutura, enseñanza

ABSTRACT

The aim of this study was to biomechanically analyze the skin of canine corpses chemically prepared with ethyl alcohol and curing salt, and vacuum packed, for the practice of veterinary surgery, in addition to obtaining the microbiological evaluation that may occur during the process. Eight canine corpses, weighing 7.96 ± 1.48 kg, were used. The animals were injected with 120 ml/kg of a solution of 20% sodium chloride, 1% nitrite and 1% sodium nitrate, and 150 ml/kg of alcohol with 5% glycerin and kept in vacuum-plastic bags at temperature between 0 and 4 °C. Skin samples were taken on day 0 (fresh samples) and on days 30, 60, 90 and 120 for biomechanical analysis, as well as for microbiological analysis of the fluids in the plastic packaging containers. The maximum rupture force presented by the control group and in the days of conservation showed that the fixation with curing salts and the storage in vacuum packs maintained the biomechanical characteristics of the skin for up to 120 days in the corpses under refrigeration.

Key words: anatomy, animal, surgery, dieresis, suture, teaching

INTRODUCCIÓN

El uso de cadáveres en las prácticas de cirugía de estudiantes de medicina veterinaria tiene sus ventajas. Investigaciones con la utilización de cadáveres realizados en el exterior (Carpenter *et al.*, 1991) o dentro de Brasil (Silva *et al.*, 2007) no indicaron alteraciones significativas en relación al rendimiento quirúrgico de alumnos que utilizaron cadáveres en sus aulas en comparación con alumnos que utilizaron animales vivos. Además, se tiene el 95.7% de aceptación por parte de los alumnos para la utilización de cadáveres químicamente preparados, en tanto que el 88.9% consideran, además, que el aprendizaje utilizando cadáveres es satisfactorio (Silva *et al.*, 2007).

Los test biomecánicos permiten comparar a los tejidos frescos con aquellos sometidos a la conservación, generando información que contribuye al mejoramiento de técnicas quirúrgicas en la búsqueda de material biológico alternativo para la experimentación animal (Camargo *et al.*, 2014).

Las sustancias más utilizadas para la conservación en medio líquido son el formaldehído, la glicerina, el alcohol etílico y el fenol (Rodrigues, 2010), además de inhibir el crecimiento de microorganismos. El formaldehído es el fijador y conservante más utilizado, comúnmente en solución acuosa al 10%. A pesar de tener un bajo costo y rápida penetración tisular (Rodrigues, 2010), el formaldehído es considerado como una sustancia cancerígena y teratogénica por la

Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC), y ofrece riesgo ambiental, caso sea descartado en afluentes (WHO, 1991).

Los nitritos y nitratos tienen actividad conservadora, pues retardan o inhiben la actividad microbiana o enzimática, evitando la precoz deterioración de los tejidos. También son fijadores de color (Iamarino *et al.*, 2015). La refrigeración es el método más utilizado para la conservación de la carne y se convierte en necesaria, por un lado, para minimizar las alteraciones, principalmente la putrefacción, y por otro, para eliminar los riesgos producidos por el desarrollo de microorganismos patógenos, además de controlar la velocidad con que aparecen las características organolépticas *post mortem* de la carne (Rosset *et al.*, 1994).

En un estudio realizado por la Universidad de Berlin, Alemania, utilizando la sal de cura como alternativa al uso de formaldehído en la enseñanza de anatomía veterinaria, en solución de 23% de sales de cura, 30% de etanol, 20% de Pluriol® E 400 (mezcla de polietilenglicoles) y 0.1% de aceite de orégano encontraron que preservaba los cadáveres de caninos, sin riesgos ambientales ni de la salud humana con bajo costo efectivo (Janczyk *et al.*, 2011). Werdelmann y Geric (2016), de otra parte, demostraron la utilidad de la solución de sales de cura al 16% como alternativa al formaldehído para la preservación a largo plazo de piezas anatómicas de caninos sometidos a la disección. Las piezas inmersas en la solución de sales mantuvieron su coloración y consistencia en comparación con aquellas sometidas a la fijación por formaldehído.

El embalaje al vacío es considerado una atmósfera modificada, pues ocurre una alteración de la presión del aire por reducción del oxígeno, provocando así una disminución de la actividad respiratoria normal del alimento y de la población microbiana, llevando a la disminución de la velocidad de deterioración

(Young *et al.*, 1988). Además, el vacío promueve reducción en los valores de oxidación y de la fuerza del cizallamiento muscular (Leonel, 2008), lo que provoca mayor macidez del producto. Cuando no hay contacto con el oxígeno predominan las bacterias lácticas, que causan menor alteración en la calidad de las carnes (Tesser, 2009).

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue analizar biomecánicamente la piel de cadáveres de caninos preparados químicamente con alcohol etílico y sal de cura, embalados al vacío, para la práctica de cirugía veterinaria, así como realizar la evaluación microbiológica del producto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales y Muestras de Piel

Se seleccionaron ocho cadáveres de caninos, machos y hembras, adultos sin alteraciones morfológicas aparentes. Los cadáveres fueron obtenidos en el Centro de Control de Zoonosis de Ribeirão Preto, SP (Proceso 02.2014.000027-1) y aceptados por el comité de ética local (Proceso 4593/19). Los animales fueron congelados (-18 °C) después de su muerte y transportados al Laboratorio de Anatomía Animal de la Universidad Estadual de São Paulo (UNESP) Jaboticabal, Sao Paulo.

Los animales escogidos tuvieron un peso de 7.96 ± 1.48 kg y condición corporal de 4 (costillas fácilmente palpables, con mínima cobertura de grasa; cintura abdominal fácilmente observada, cuando vista dorsalmente; pliegue abdominal evidente) o 5 (costillas palpables y sin exceso de cobertura de grasa; cintura abdominal observada caudalmente hacia las costillas observada dorsalmente; pliegue abdominal evidente observada por lado), en una escala de 1 al 9, considerado como score corporal ideal por Laflamme (1997).

Los cadáveres fueron descongelados en un refrigerador horizontal a 4-6 °C e identificados de A1 al A8. Se cortó el pelo de todo el cuerpo, teniendo cuidado de no lesionar la piel. Se tomaron tres fragmentos de piel fresca utilizando un bisturí y un molde rectangular de 1 x 4 cm de acero inoxidable con auxilio de bisturí, las que fueron consideradas como muestras control. Las muestras fueron inmediatamente colocadas en frascos con agua para evitar el resecamiento hasta el momento del análisis biomecánico. Posteriormente, se inyectó a cada cadáver una solución de alcohol etílico puro con 5% de glicerina a razón de 150 ml/kg de peso corporal, vía arteria carótida con un catéter 40x16G, seguido de 120 ml/kg de solución con sal de cura (200 g/L de cloruro de sodio, 10 g/L de nitrito de sodio, 10 g/L de nitrato de sodio). Finalmente, los cadáveres fueron embalados en sacos plásticos al vacío y refrigerados entre 0 a 4 °C, con termómetro digital acoplado en la tapa de sello del refrigerador.

Se tomaron muestras mensuales de piel por cuatro meses (D30, D60, D90 y D120). Para esto, los embalajes fueron abiertos y luego de la colección de la muestra, los embalajes fueron nuevamente cerrados al vacío y mantenidos en refrigeración.

Para la colecta de la piel, el cadáver fue posicionado inicialmente en decúbito lateral izquierdo. Con el auxilio de un bisturí (hola 22) y un molde de 1 x 4 cm se cortaron los fragmentos de piel, en el lado del pecho, paralelo y a 5 cm del plano sagital. Las muestras fueron tomadas en forma secuencial y en sentido transversal a la línea de tensión de la piel del canino (Figura 1). Las muestras fueron almacenadas en recipientes con agua hasta el momento del análisis biomecánico.

Para la evaluación de la resistencia de los tejidos, se utilizó la Máquina Universal de Ensayos EMIC® DL-2000. La célula de carga utilizada fue de 500N, con una velocidad de aplicación de carga de 100mm/min y con un espacio libre entre las garras con agarre del material de 20 mm.



Figura 1. Cadáver canino después de la colecta de tres muestras de piel

Bacterias Aerobias y Anaerobias Mesófilas

Se realizó el análisis microbiológico mensual del líquido que se extravasa en el embalaje de dos cadáveres escogidos al azar. Se colectaron no menos de 10 ml en frascos estériles y las muestras fueron llevadas al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias de la UNESP de Jaboticabal.

La cuantificación de las bacterias mesófilas aerobias y anaerobias facultativas viables fue realizada a través de la técnica de placas en superficie. En esta técnica, la muestra es diluida hasta 5 veces con peptona 0.1% y a partir de cada dilución se utiliza 100 µl como inóculo y se distribuye en las placas en la superficie del agar BHI (Brain Heart Infusion) expandido con auxilio de un asa de Drigalski. Las placas para el conteo de microorganismos aeróbicos fueron almacenadas directamente en una estufa bacteriológica, mientras que las placas para el conteo de microorganismos anaerobios fueron almacenadas en jarras de anaerobiosis con la utilización de Anaeroback (Probac). En ambos casos, las placas fueron incubadas a 37 °C du-

Cuadro 1. Fuerza máxima (Newtons) y deformación en milímetros (mm) de ruptura de muestras de piel de ocho cadáveres de caninos (Promedio \pm desviación estándar)

	Fuerza máxima de ruptura (N)	Desplazamiento máximo de ruptura (mm)
Control	125.9 \pm 76.59	8.872 \pm 1.528
Día 30	129.01 \pm 76.08	6.885 \pm 1.699
Día 60	107.23 \pm 71.585	6.59 \pm 1.606
Día 90	115.30 \pm 77.769	6.116 \pm 1.863
Día 120	95.786 \pm 56.563	6.081 \pm 1.181

rante 24 h. Luego de la incubación se hizo el conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por mililitro (Vanderzant y Splittstoesser, 1992).

Posterior al conteo, se aislaron cinco colonias de cada placa, se sembraron en agar BHI (Brain Heart Infusion), y se incubaron a 37 °C por 24 h para la identificación de bacterias de los géneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas* y de la especie *Escherichia coli*.

Las colonias se sembraron en las placas con asa de platino. Para el estudio se utilizaron medios de cultivo selectivos: agar MacConkey para *Pseudomonas* y *Escherichia coli*, agar SPS (Sulfito Polimixina Sulfadiazina) para *Clostridium* y agar base MYP (Manitol Yolk Polimixina) para aislamiento de *Bacillus*. Después de la incubación a 37 °C durante 24 horas, se evaluó la morfología celular mediante tinción de Gram, presencia de esporas y pruebas bioquímicas específicas para confirmar cada género o especie (Barrow y Feltham, 1993).

Análisis Estadístico

Se hizo una evaluación inicial de los datos obtenidos con el fin de retirar a los outliers. Los datos fueron analizados por el test de Cramer-Von Mises. Posteriormente, se empleó el análisis de varianza y la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

RESULTADOS

La fuerza máxima de ruptura para los grupos control, D30, D60, D60 y D120 (promedio \pm desviación estándar) se presentan en el Cuadro 1.

Los datos referentes a la fuerza máxima de ruptura (N) y al desplazamiento máximo de ruptura presentaron normalidad (Cramer-Von Mises 0.9244 y 0.055, respectivamente). No se encontró diferencia significativa ($p = 0.53$) entre el promedio de la fuerza máxima de ruptura presentada por el grupo control y los promedios de los tres momentos evaluados, lo que comprueba que

Cuadro 2. Resultados (media \pm DE) del desplazamiento máximo de ruptura (mm) de las muestras de piel de ocho caninos hasta los 10 días de conservación con sales de cura y refrigeración

	Desplazamiento máximo (mm)
Control	8.872 \pm 1.528 ^a
Día 30	6.885 \pm 1.699 ^b
Día 60	6.597 \pm 1.606 ^b
Día 90	6.117 \pm 1.863 ^b
Día 120	6.081 \pm 1.181 ^b

^{a,b} Letras diferentes dentro de la columna indican diferencia (significativa $p < 0.05$)

la fijación con las sales de cura y el almacenamiento en embalajes al vacío mantuvo las características biomecánicas de la piel durante los 120 días bajo condiciones de refrigeración.

Se encontró diferencia significativa ($p = 2.436 \times 10^{-8}$) entre el promedio del desplazamiento máximo de ruptura (mm) del grupo control con los promedios de los tres tiempos de conservación, pero sin diferencia entre estos (Cuadro 2).

Los resultados de la identificación bacteriana se presentan en el Cuadro 3. La población microbiana no excedió de 8×10^2 UFC/ml en los aerobios totales y de 5×10^2 UFC/ml en los anaerobios totales. El 25% de las muestras no presentaron contaminación.

DISCUSIÓN

La solución etílica demostró ser eficiente como fijadora (Rodríguez, 2010), tal y como ha sido reportada en cadáveres humanos hasta por un año (Goyri-O'Neill *et al.*, 2013). La

frespuesta obtenida también fue similar a los estudios que utilizaron alcohol etílico para fijación y solución acuosa de cloruro de sodio para conservación de cadáveres de caninos hasta por cuatro meses para el entrenamiento quirúrgico en piel y yeyuno (Rocha *et al.*, 2018), arterias (Cerqueira *et al.*, 2017) y venas (Pelógia *et al.*, 2018). La piel no se oscureció ni se endureció como ocurre cuando se utilizan fijadores que contienen formaldehído (Groscurth *et al.*, 2001; Hayashi *et al.*, 2016).

El análisis estadístico no mostró diferencia significativa entre el promedio de la fuerza máxima de ruptura entre las muestras control y las sometidas a conservación, lo que confirma que el proceso efectuado mantuvo las características biomecánicas de la piel hasta por 120 días bajo refrigeración y embalaje al vacío, tal y como se obtuvo con una solución etílica en cadáveres de caninos hasta por cuatro meses (Rocha *et al.*, 2018).

En la presente investigación, el valor promedio para la ruptura de la piel fresca en caninos de 7.96 ± 1.48 kg fue de 125.89 N, lo que fue similar al valor de 131.3 N en caninos de 7.6 ± 2.7 kg (Rocha *et al.*, 2018), lo que se puede asumir como una relación directa entre el peso corporal y la fuerza para ruptura. Durante el tiempo de conservación, la fuerza varió de 95.78 N a 129.0 N, lo que es comparable a la variación de 110.8 N a 177.5 N de la piel de caninos del estudio de Rocha *et al.* (2018) en caninos mantenidos hasta por cuatro meses en tanques de alcohol etílico.

La fuerza observada en muestras frescas o conservadas fue muy mayor a los 19.98 N necesarios para causar ruptura en las venas yugulares de caninos o de los 21.51-26.17 N necesarios para romper las venas yugulares de caninos mantenidos en tanques de alcohol etílico (Pelógia *et al.*, 2018). Los valores obtenidos también fueron mayores a aquellos requeridos para la ruptura de arterias carótidas de caninos frescos (25.77 ± 15.43 N) o mantenidos en tanques con alcohol etílico (16.44 ± 31.79 N) (Cerqueira *et al.*, 2017).

Cuadro 3. Cuantificación de bacterias aeróbicas y anaeróbicas de muestras del líquido extravasado de cadáveres caninos conservados con sal de cura en bolsas al vacío y bajo refrigeración

Grupo	Animal	Aerobios (UFC/ml)	Anaerobios (UFC/ml)	Microrganismo
D30	A5	0	0	
	A7	8x10 ²	3x10 ²	<i>Bacillus</i> sp.
D60	A1	0	0	
	A3	2.6x10 ²	1.1x10 ²	<i>Bacillus</i> sp.
D90	A2	1x10	0	<i>Bacillus</i> sp.
	A5	7x10	1.1x10 ²	<i>Staphylococcus</i> sp. y <i>Bacillus</i> sp.
D120	A8	1x10	1x10	<i>Staphylococcus</i> sp. y <i>Bacillus</i> sp.
	A5	1x10 ²	5x10 ²	<i>Bacillus</i> sp. y Levadura

En el caso de la contaminación microbiana, García-Esteban *et al.* (2004), observó un aumento progresivo de aerobios mesófilos en embalajes al vacío, llegando a presentar 9.45x10³ UFC/g en la semana 8. En el presente estudio, en la muestra A5 (Cuadro 3) se observó un aumento lento en los aerobios totales y en los anaerobios totales llegando a presentar 1x10² y 5x10² UFC/ml, respectivamente. Los resultados obtenidos fueron parecidos a otro estudio de caninos preservados con la misma técnica en la cual la concentración no fue superior a 9x10¹ UFC/ml en los aerobios totales y 7x10¹ UFC/ml en los anaerobios totales (Pereira *et al.*, 2019). De otro lado, se reconoce que una bacteria para que cause enfermedad en el hospedero debe tener una concentración de 10⁹ UFC/ml (Rigobelo *et al.*, 2016). Los alores obtenidos en el presente estudio apuntan que 10² es una concentración baja, garantizando que no causaría daño a la persona expuesta.

CONCLUSIÓN

La fijación/conservación con alcohol etílico y sales de cura, asociado a los embalajes al vacío es una forma económica, de bajo impacto ambiental y efectiva de preservar y conservar las características de la piel fresca de cadáveres caninos por un tiempo no menor de 120 días, lo que es recomendado para la enseñanza de la cirugía veterinaria por mimetizar en los cadáveres fijados la resistencia cutánea presentada por los cadáveres frescos.

LITERATURA CITADA

1. **Barrow GI, Feltham RKA. 1993.** Cowan and Steel is manual for the identification of medical bacteria. 3rd ed. Cambridge: Cambridge University. 331p.

2. **Camargo AD, Camargo PC, Leal LM, Garcia Filho SP, Martins LL, Shimano AC, Machado MRF. 2014.** Propriedades tensiométricas do peritônio da paca (*Cuniculus paca*) a fresco e conservado em glicerina 98%. *Pesqui Vet Brasil* 34: 185-191. doi: 10.1590/S0100-736X2014000200015
3. **Carpenter LG, Donald L, Piermattei DL, Salman MD, Orton C, Nelson AW, Smeak DD, et al. 1991.** A comparison of surgical training with live anesthezed dogs and cadavers. *Vet Surg* 20: 373-378. doi: 10.1111/j.1532-950x.1991.tb00342.x
4. **Cerqueira ES, Pelogia ME, Silveira CP, Fechis AD, Rocha TA, Laus, J, Oliveira F. 2017.** Suture analysis and arterial traction test in dogs fixed on alcohol and preserved on saline solution aiming surgical practice. *GARJMMS* 6: 292-295.
5. **Goyri-O'Neill J, Pais D, Freire de Andrade F, Ribeiro P, Belo A, O'Neill A, Ramos S, et al. 2013.** Improvement of the embalming perfusion method: the innovation and the results by light and scanning electron microscopy. *Acta Med Port* 26: 188-194.
6. **García-Esteban M, Ansorena D, Astiasarán I. 2004.** Comparison of modified atmosphere packaging and vacuum packaging for long period storage of dry-cured ham: effects on color, texture and microbiological quality. *Meat Sci* 67: 57-63. doi: 10.1016/j.meatsci.2003.09.005
7. **Groscurth P, Eggli P, Kapfhammer J, Rager GJ, Hornung P, Fasel JDH. 2001.** Gross anatomy in the surgical curriculum in switzerland: improved cadaver preservation, anatomical models, and course development. *Anat Rec* 265: 254-256.
8. **Hayashi S, Naito M, Kawata S, Qu N, Hatayama N, Hirai S, Itoh M. 2016.** History and future of human cadaver preservation for surgical training: from formalin to saturated salt solution method. *Anat Sci Int* 91: 1-7. doi: 10.1007/s12565-015-0299-5
9. **Iamarino LZ, Oliveira MC, Antunes MM, Oliveira M, Rodrigues RO, Zanin CIBC, Schimile M, Lima AA. 2015.** Nitratos em produtos cárneos enlatados e/ou embutidos. *Gestão em Foco* 7: 246-251.
10. **Janczyk P, Weigner J, Luebke-Becker A, Kaessmeyer S, Plendl J. 2011.** Nitrite pickling salt as an alternative to formaldehyde for embalming in veterinary anatomy- A study based on histo- and microbiological analyses. *Ann Anat* 193: 71-75. doi: 10.1016/j.aanat.2010.08.003
11. **Laflamme DP. 1997.** Development and validation of a body condition score system for dogs. *Canine Pract* 22: 10-15.
12. **Leonel FR. 2008.** Irradiação e qualidade da carne de frango congelada e embalada a vácuo. Tese de doutorado. Jaboticabal, SP: Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal. 88 p.
13. **Pelogia ME, Cerqueira ES, Silveira CP, Rolim G, Fechis AD, Rocha TA, Laus J, Oliveira F. 2018.** Suture and venous traction test analysis in dogs fixed in alcohol and preserved in saline solution. *Pesqui Vet Brasil* 38: 1834-1837. doi: 10.1590/1678-5150-pvb-5447
14. **Pereira N, Cardozo M, de Sá Rocha TA, Zero R, de Ávila FA, de Oliveira F. 2019.** Microbiological analysis in the fixation and preservation of dos cadavers with ethyl alcohol and sodium chloride solution. *Semin-Cienc Agrar* 40: 3099-3106.
15. **Rigobelo EC, de Avila FA, Blackall PJ. 2016.** An evaluation of the use of probiotics and manure composting as strategies to reduce levels of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* on a sheep farm. *Afr J Microbiol Res* 10: 1011-1017. doi: 10.5897/AJMR2016.8034
16. **Rocha TAS, Yanagihara GR, Shimano AC, Rolim GS, Santos CCC, Fechis ADS, Oliveira FS. 2018.** Biomechanical analysis of the skin and jejunum of dog cadavers subjected to a new anatomical preservation technique for surgical teaching. *J Plastination* 30: 16-23.

17. **Rodrigues H. 2010.** Técnicas anatômicas. Vitória-ES: Gm Gráfica. 269 p.
18. **Rosset R, Bourgeois CM, Mescle JF, Zucca J. 1994.** Microbiología alimentaria. 1. Aspectos microbiológicos de la seguridad y calidad alimentaria. Zaragoza: Acribia. 460 p.
19. **Silva RMG, Matera JM, Ribeiro AACM. 2007.** New alternative methods to teach surgical techniques for veterinary medicine students despite the absence of living animals. is that an academic paradox? *Anat Histol Embryol* 36: 220-224.
20. **Tesser ES. 2009.** O uso de diferentes tipos de embalagem na conservação de carnes bovinas. Tesis de Médico Veterinario. Porto Alegre, Brasil: Univ. Federal do Rio Grande do Sul. 35 p.
21. **Vanderzant C, Splittstoesser DE. 1992.** Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3rd ed. Washington: American Public Health Association. 1219 p.
22. **Werdelmann R, Gerics B. 2016.** Preservation of specimens for students – formaldehyde vs. Salt based fixative. In: XXXIth Congress of the European Association of Veterinary Anatomists. Vienna, Austria.
23. **[WHO] World Health Organization. 1991 - IPCS International Programme on Chemical Safety – Formaldehyde - Health and Safety Guide N° 57.** [Internet. Available in: <http://www.inchem.org>
24. **Young LL, Reviere RD, Cole B. 1988.** Fresh meats: a place to apply modified atmospheres. *J Food Sci Tech Mys* 42: 65-69.