

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 27/04/2025.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS JABOTICABAL**

**CONSERVAÇÃO DE VÍSCERAS DE CÃES VISANDO AO
TREINAMENTO CLÍNICO E CIRÚRGICO – UTILIZAÇÃO DO
VÁCUO E SAL DE CURA**

Andréa Barros Piazzon de Souza Queiroz
Médica Veterinária

2023

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS JABOTICABAL**

**CONSERVAÇÃO DE VÍSCERAS DE CÃES VISANDO AO
TREINAMENTO CLÍNICO E CIRÚRGICO – UTILIZAÇÃO DO
VÁCUO E SAL DE CURA**

Andréa Barros Piazzon de Souza Queiroz

Orientador: Prof. Dr. Fabrício Singaretti de Oliveira

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus
de Jaboticabal, como parte das exigências
para a obtenção do título de Doutor em
Cirugia Veterinária, área: Anatomia
Cirúrgica.**

2023

Q3c

Queiroz, Andréa Barros Piazzon de Souza

Conservação de vísceras de cães visando ao treinamento clínico e cirúrgico – utilização do vácuo e sal de cura / Andréa Barros Piazzon de Souza Queiroz. -- Jaboticabal, 2023

56 p.

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

1. Anatomia. 2. Biomecânica. 3. Insuflação pulmonar. 4.
Maleabilidade. 5. Microbiologia. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

Impacto potencial desta pesquisa

Com o crescimento da população mundial, o descarte de cadáveres passa a ser uma questão ambiental fundamental quanto ao uso do solo, emissão de poluentes, consumo de recursos e desperdício de materiais. Tornou-se uma fonte de preocupação pública no século XXI, evidente no desenvolvimento de um “movimento funerário verde” no mundo ocidental, que busca um corpo menos impactante e práticas de eliminação, mais ecologicamente corretas. Com este trabalho iremos avaliar a conservação de vísceras isoladas, advindas de necropsias, o que poderá gerar um grande potencial de utilização desses conjuntos no treinamento clínico e cirúrgico com repetibilidade, reduzindo, inclusive, a quantidade de cadáveres utilizados. Também poderemos diminuir a quantidade de material biológico enviado à descarte sanitário, tornando menor o acúmulo de carcaças, a contaminação do solo e dos lençóis freático.

The potential impact of this research

As the world population grows, the disposal of cadavers becomes a fundamental environmental issue regarding land use, pollutant emissions, resource consumption, and waste. It has become a source of the public concerning the 21st century, evident in the development of a “green burial movement” in the Western world, which seeks a less impactful cadaver and more ecologically correct disposal practices. This study aimed to evaluate the conservation of isolated viscera resulting from necropsies, which could generate a great potential for clinical and surgical training, with repeatability. We can also decrease the amount of biological material sent to sanitary disposal, thereby reducing the accumulation of carcasses and contamination of the soil and groundwater.

Certificado de aprovação



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: CONSERVAÇÃO DE VÍSCERAS DE CÃES VISANDO AO TREINAMENTO CLÍNICO E CIRÚRGICO - UTILIZAÇÃO DO VÁCUO E SAL DE CURA

AUTORA: ANDREA BARROS PIAZZON DE SOUZA QUEIROZ

ORIENTADOR: FABRICIO SINGARETTI DE OLIVEIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Cirurgia Veterinária, área: Saúde Animal pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. FABRICIO SINGARETTI DE OLIVEIRA (Participação Virtual)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
FABRICIO SINGARETTI DE OLIVEIRA
Data: 04/05/2023 08:39:06-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. LEANDRO LUIS MARTINS (Participação Virtual)
Departamento de Anatomia / Universidade Estadual de Londrina (UEL) - Londrina/PR

Documento assinado digitalmente
LEANDRO LUIS MARTINS
Data: 04/05/2023 08:44:54-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. BRUNO CESAR SCHIMMING (Participação Virtual)
Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / IBB UNESP Botucatu

Documento assinado digitalmente
BRUNO CESAR SCHIMMING
Data: 05/05/2023 08:24:01-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa. Dra. PAOLA CASTRO MORAES (Participação Virtual)
Depto de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV UNESP Jaboticabal

Paola Castro
Paola Castro
Moraes:26766509805
2023.05.04 08:31:08 -03'00'

Profa. Dra. MARCIA RITA FERNANDES MACHADO (Participação Virtual)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
MARCIA RITA FERNANDES MACHADO
Data: 24/05/2023 11:58:32-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Jaboticabal, 27 de abril de 2023

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Andréa Barros Piazzon de Souza Queiroz, nascida em Campinas, São Paulo, em 21 de setembro de 1971. Graduiu-se em Fisioterapia – PUC, Campinas, no ano de 1992. Fez residência na AACD (Associação de Assistência à Criança Defeituosa) em 1994. Graduiu-se em Medicina Veterinária no ano de 2018, com o trabalho de conclusão de curso intitulado “Hiperadrenocorticismo em cães”, na Faculdade Anhanguera de Campinas. Fez estágio curricular obrigatório no Laboratório de Anatomia Cirúrgica do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV – UNESP – Jaboticabal em 2018. Em 2020, concluiu o mestrado em anatomia cirúrgica pelo Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária na FCAV – UNESP Câmpus de Jaboticabal, SP, sob orientação do Prof. Dr. Fabrício Singaretti de Oliveira. Iniciou o Doutorado em agosto de 2020 na mesma linha pesquisa e foi responsável pelas disciplinas “Anatomia dos animais domésticos I e II” para o Curso de Zootecnia nos anos de 2020 e 2021. Desde julho de 2022, é Assistente de Suporte Acadêmico do Laboratório de Anatomia Animal do referido Departamento

“Passing over the other arts in silence, I shall speak briefly of that which concerns the health of mankind; indeed, of all the arts the genius of man has discovered it is by far the most beneficial and of prime necessity, although difficult and laborious.”

Andreas Vesalius

AGRADECIMENTOS

A Deus por sua presença e auxílio constante ao longo de minha vida. Porque d'Ele, por Ele e para Ele são todas as coisas.

À minha mãe Cristina, por toda paciência, amizade, amor e cuidado. E por me apoiar em minhas escolhas e me ensinar que o que se leva dessa vida é apenas o conhecimento que podemos obter com muito estudo, em cada viagem, conhecendo novas pessoas e novas culturas...

Ao meu pai Guguy, por ser um homem de caráter, honesto e que nunca mediu esforços para nos dar de tudo.

À minha irmã Patrícia por ter me apoiado nesse projeto e à Cacau por estar sempre perto em pensamento. A minha sobrinha linda que nos alegra a cada dia.

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

À Laura pela amizade por toda ajuda nas coletas e experimentos, sem você não teria conseguido realizar.

Ao Seu Zé e Dona Marilda por todo carinho, amizade e parceria.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

CEUA – certificado de comprovação



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



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **"Conservação de vísceras ocas isoladas de cães visando treinamento cirúrgico - utilização do vácuo e sal de cura"**, protocolo nº 2693/22, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Fabrício Singaretti de Oliveira, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 18 de maio de 2022.

Vigência do Projeto	20/05/2022 a 20/03/2024
Espécie / Linhagem	Cães e gatos
Nº de animais	120
Peso / Idade	3 a 20 Kg
Sexo	Macho e fêmea
Origem	Centro de zoonoses de Ribeirão Preto processo 02.2014.000027-1

Jaboticabal, 18 de maio de 2022.


Profª Drª Paola Castro Moraes
 Vice-Coordenadora – CEUA

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

CONSERVAÇÃO DE VÍSCERAS DE CÃES VISANDO AO TREINAMENTO CLÍNICO E CIRÚRGICO – UTILIZAÇÃO DO VÁCUO E SAL DE CURA

RESUMO – Métodos alternativos vêm sendo utilizados para minimizar o uso de animais vivos no ensino e buscam, também, reduzir o número de animais em experimentação. O uso de cadáveres é uma possibilidade como recurso alternativo ao uso de animais vivos para aprendizagem cirúrgica, os quais promovem eficiência prática, melhoram o aprendizado, além de apresentarem menor custo e serem possíveis customizá-los para repetição de técnicas. Objetivou-se, com esse trabalho, avaliar a conservação de conjuntos de vísceras (conjunto pulmão e coração – CPC -, e conjunto estômago, baço e intestinos – CEBI - de cães) com dois tipos de soluções preparadoras em relação à microbiologia, biomecânica ou insuflação pulmonar por até quatro meses. Foram utilizados 16 cadáveres, 8 para o grupo 1 (G1 - Álcool etílico glicerinado e sais de cura) e 8 para o grupo 2 (G2 - sais de cura). Para o CEBI foram quantificadas as alterações na resistência intestinal, medida em Newtons, durante o teste de tração, nos momentos zero (previamente à fixação), 30, 60, 90 e 120 dias de conservação à vácuo e para o CPC foi avaliada a viabilidade pulmonar por meio da insuflação pulmonar. Foi realizada a análise microbiológica do líquido e de fragmento de tecido pulmonar para a quantificação das bactérias mesófilas aeróbias e anaeróbias, leveduras, Enterobacteriaceae, esporulados totais viáveis e presença de *Clostridium*. A força máxima de ruptura (FMR) para o G1 e G2, e o alongamento da ruptura (AR) do G1 e do G2 para as amostras controle do jejuno foram 19,21N, 9,68mm, 18,29N e 13,76mm, respectivamente, e durante a conservação, 23,34N e 9,06mm, 23,27N e 8,37mm (30 dias), 16,79N e 6,15mm, 21,46N e 5,33mm (60 dias), 23,02N e 5,02mm, 27,29N e 5,54 (D90), 28,07N e 5,39mm, 25,96N e 4,51mm (120 dias), respectivamente. Não houve diferença significativa entre a interação Tempo x Tratamento, e os fatores foram examinados individualmente dentro de cada grupo. No G1, os momentos D60, D90 e D120 diferiram significativamente do D0 (controle). Já no G2 houve diferença significativa em todos os momentos em relação ao D0. Não houve diferença significativa entre os tratamentos no D30, D60, D90 e D120 e a diferença observada no D0 não é estatisticamente relevante. A população microbiana não excedeu $9,2 \times 10^3$ UFC / mL no total de bactérias aeróbicas e $1,8 \times 10^3$ UFC/mL no total de bactérias anaeróbicas no G1 e $1,9 \times 10^3$ UFC/mL no total de bactérias aeróbias e $1,33 \times 10^3$ UFC/mL para anaeróbios totais no G2. Enterobacteriaceae foi detectado nas amostras de jejuno em 120 dias na concentração de $2,1 \times 10^2$. A contagem de leveduras nunca ultrapassou $3,4 \times 10^2$ UFC/mL e esporulados, $2,3 \times 10^3$ UFC/mL. A biomecânica não foi significativamente afetada e a contagem microbiológica foi baixa durante os 120 dias, demonstrando a eficácia de ambos protocolos de conservação de vísceras isoladas visando ao treinamento cirúrgico.

Palavras-chave: anatomia, biomecânica, insuflação pulmonar, maleabilidade, microbiologia .

CONSERVATION OF DOG VISCERA AIMING FOR CLINICAL AND SURGICAL TRAINING - USE OF VACUUM AND CURING SALT

ABSTRACT - Alternative methods have been used to minimize the use of live animals in teaching and also seek to reduce the number of animals in experimentation. The use of cadavers is a possibility as an alternative resource to the use of live animals for surgical learning, which promotes practical efficiency and improves learning, in addition to presenting lower cost and being possible to customize them for repetition of techniques. The aim of this research was to evaluate the conservation of sets of viscera (lung and heart set - LHS -, and stomach, spleen, and intestines set - SSIS - of dogs) with two types of preparative solutions in relation to microbiology, biomechanics, or lung inflation for up to 4 months. Sixteen cadavers were used, 8 for group 1 (G1 - glycerin ethyl alcohol and curing salts) and 8 for group 2 (G2 - curing salts). For SSIS, changes in intestinal resistance were quantified, and measured in Newtons, during the traction test, at moments zero (prior to fixation), 30, 60, 90, and 120 days of vacuum storage, and for LHS, the viability was evaluated through lung insufflation. Microbiological analysis of the fluid, lung, and jejunum tissue fragment was performed to quantify aerobic and anaerobic mesophilic bacteria, yeasts, Enterobacteriaceae, total viable sporulates, and the presence of *Clostridium*. The maximum rupture force (FMR) for G1 and G2, and the elongation rupture (AR) of G1 and G2 for jejunum control samples were 19.21N, 9.68mm, 18.29N, and 13.76mm, respectively, and during storage, 23.34N and 9.06mm, 23.27N and 8.37mm (30 days), 16.79N and 6.15mm, 21.46N and 5.33mm (60 days), 23.02N and 5.02mm, 27.29N and 5.54 (D90), 28.07N and 5.39mm, 25.96N, and 4.51mm (120 days), respectively. There was no significant difference between the Time x Treatment interaction, and the factors were examined individually within each group. In G1, moments D60, D90, and D120 differed significantly from D0 (control). In G2, there is a significant difference at all times in relation to D0. There is no significant difference between treatments on D30, D60, D90, and D120; the difference observed on D0 is not statistically relevant. The microbial population did not exceed 9.2×10^3 CFU/mL in total aerobic bacteria and 1.8×10^3 CFU/mL in total anaerobic bacteria in G1 and 1.9×10^3 CFU/mL in total aerobic bacteria and 1.33×10^3 CFU/mL for total anaerobes in G2. Enterobacteriaceae was detected in the jejunum samples in 120 days at a concentration of 2.1×10^2 . The yeast count never exceeded 3.4×10^2 CFU/mL and sporulated, 2.3×10^3 CFU/mL. The biomechanics were not significantly affected and the microbiological count was low during the 120 days, demonstrating the effectiveness of both isolated viscera conservation protocols aimed at surgical training.

Keywords: anatomy, biomechanics, malleability, microbiology, pulmonary insufflation.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. Introdução

Utilizando os princípios humanitários de experimentação animal que foram sintetizados por Russell e Burch em 1959, métodos alternativos vêm sendo utilizados para minimizar o uso de animais vivos no ensino da Medicina Veterinária. Três palavras foram utilizadas para sintetizar esses princípios, denominados como os 3 Rs': replacement, reduction, e refinement (substituição, redução e refinamento). Esses três conceitos fundamentais buscam alcançar equilíbrio para substituir animais vivos em instituições acadêmicas. Assim, há necessidade da busca por métodos alternativos à utilização de animais vivos, visando reduzir o número de animais necessários em experimentação, assim como na pesquisa (Costa Neto et al., 2012, Rocha et al., 2019), e com possibilidade de repetição de treinamentos (Arluke, 2004, Tannenbaum e Bennett, 2015, Guaraná et al., 2021).

Técnicas de preparo de cadáveres com aspecto realístico têm sido descritas para a prática do treinamento cirúrgico (Rocha et al., 2019), radiológico (Kihara et al., 2023) e de exames e procedimentos, como o da colheita do líquido cerebrospinal e mielografia (Zero et al., 2022), com ótima avaliação acadêmica.

A lei Arouca (11.794/2008) foi criada em 2008 e oficializada pelo Decreto 6.899 de 2009 (Brasil, 2009) para regulamentar o uso de animais em atividades de ensino e pesquisas no Brasil, estabelecendo que Comissões de Ética Institucionais controlem as atividades de ensino e pesquisa nas universidades através do CEUA (Comissão de Ética no Uso de Animais), e cadastrando a instituição junto ao Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (Concea) (Brasil, 2008), auxiliando com isso, na formação dos novos profissionais com valores éticos de responsabilidade e respeito para com a vida (Oliveira et al., 2013).

Objetivou-se, com este estudo, avaliar a conservação do conjunto pulmão coração (CPC) e conjunto estômago, baço e intestino (CEBI) de cães, e comparar as técnicas anatômicas empregadas em relação à microbiologia, biomecânica e insuflação

pulmonar por até quatro meses. Isso poderá gerar grande aplicabilidade na prática de treinamento cirúrgico, sem gerar resíduos tóxicos, diminuindo a quantidade de cadáveres enviados a aterros sanitários e diminuindo o acúmulo de carcaças, a contaminação do solo e dos lençóis de freáticos.

5 CONCLUSION

The preservation methods applied in our study for isolated viscera demonstrated minimal impact on intestinal biomechanics, maintained lung insufflation and low microbiological count for over 300 days. These findings underscore the efficacy of these preservation protocols in preparing cadavers for subsequent use in surgical and clinical training. As both methods were efficient, the curing salt solution is cheaper than the ethylic alcohol solution and should be chosen as the first choice.

6 ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Capes 88887574854/2020 and Usina São Martinho, Pradópolis, SP.

The authors have no conflict of interest to declare.

7 AUTHOR CONTRIBUTIONS

Concept and design by Andréa B.P.S. Queiroz and Fabrício S. Oliveira.

Acquisition of data and data analysis by Andréa B.P.S. Queiroz and Laura G. Soares.

Microbiological analysis by Marita V. Cardozo and Gabriel M. do Nascimento.

Statistical analysis by Alisson D.S. Fechis.

Drafting of the manuscript by Andréa B.P.S. Queiroz.

Revision of the manuscript by Fabrício S. Oliveira.

8 REFERENCES

- Arluke, A. (2004) The Use of Dogs in Medical and Veterinary Training: understanding and approaching student uneasiness. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 7(3), 197-204. https://doi.org/10.1207/s15327604jaws0703_6.
- Balcombe, J. (2000) The use of animals in higher education: problems, alternatives and recommendations. The Humane Society Press. Washington. 104 p.
- Baylis, C, Uyttendaele, M, Joosten, H & Davies, A. (2011) The Enterobacteriaceae and their significance to the food industry. The ILSI Europe Emerging Microbiological Issues Task Force. Belgium.31-34p.
- Brasil. Ministério da Saúde (MS). Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, que aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.
- Brun, M.V., Pippi, N.L., Dreimeier, D. et al. (2002) Solução hipersaturada de sal como conservante de pericárdio canino utilizado na reparação do músculo reto abdominal de ratos Wistar. *Ciência Rural*, 32: 1019-1025. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782002000600016>
- Church, I. J. & Parsons, A.L. (1995) Modified atmosphere packaging technology: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 67, 143-152. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740670202>
- Cury, F.S., Censoni, J.B., Ambrósio C.E. (2013). Técnicas anatômicas no ensino da prática de anatomia animal *Pesq. Vet. Bras*, 33, 688-696. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013000500022>
- De Crop, A., Bacher, K., Van Hoof, T. et al. (2012) Correlation of contrast-detail analysis and clinical image quality assessment in chest radiography with a human cadaver study. *Radiology*, 262(1):298-304. <https://doi.org/10.1148/radiol.11110447>
- Del Ponti, I., Vieira, G.C., Soares, L.G. et al. (2021) Vacuum packaged embalmed dogs for veterinary surgery practicing. *European Journal of Anatomy*, 25(4), 473-480.
- Ferreira, G.C., Costa, N.T.B., Cardozo, M.V. et al.. (2021) Cadáveres de caninos conservados com alcohol etílico y sal de cura y embalados al vacío para la enseñanza de la cirugía veterinária. *Revista de Investigaciones Veterinárias del Perú*, 32(4): e19075.

- Fração, V.C., Zero, R.C., Rodrigues, A. et al. (2019) Analysis of the Skin of Cats' Corpses Chemically Prepared with Ethylic Alcohol and Curing Salt Aiming Veterinary Surgical Practice- Chronic Effect on Biomechanics and Students' Evaluation. *CPQ Med*, 4: 1-8.
- Friker, J., Zeiler, E., & Mc Daniel, B.J. 2007. From formalin to salt. Development and introduction on a saltbased preserving solution for macroscopic anatomic specimens. *Tierärztl Praxis*, 35: 243-248. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1622624>
- Goyri-O'Neill, J., Pais D., Freire de Andrade, F. et al. (2013) Improvement of the embalming perfusion method: The innovation and the results by light and scanning electron microscopy. *Acta Medica Portuguesa*, 26: 188-194.
- Guaraná, J.B., Müller, A.F., Strefezzi, R.F. et al. (2021) Swine viscera preservation in hypersaturated salt solution after alcohol fixation as a preparation method for educational purposes. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 00:1–11. <https://doi.org/10.1111/ahe.12739>
- Hammer, N., Löffler, S., Feja, C., et al. (2011) Substitution of formaldehyde in cross anatomy is possible. *Journal of National Cancer Institute*, 103: 610-611. <https://doi.org/10.1093/jnci/djr035>
- Hammer, N., Löffler, S., Feja, C. et al. (2012) Ethanol-glycerin fixation with thymol conservation: A potential alternative to formaldehyde and phenol embalming. *Anatomical Science Education*, 5: 225-233. <https://doi.org/10.1002/ase.1270>
- Hyde E.R., Haarmann D.P., Lynne A.M. et al. (2013). The Living Dead: Bacterial Community Structure of a Cadaver at the Onset and End of the Bloat Stage of Decomposition. *PLoS ONE* 8:10, e77733. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077733>
- Janczyk, P., Weigner J., Becker, A.L., et al. (2011) Nitrite pickling salt as an alternative to formaldehyde for embalming in veterinary anatomy - A study based on histo and microbiological analyses. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger*. 193:71–75. . <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2010.08.003>
- Kihara, M.T.; Zero, R.C.; Queiroz, A.B.P.S.; et al. (2023) A new model for thoracic radiology teaching and research in cadavers of embalmed dogs. *Cienc. Rural* (prelo).
- Knight, A. (2007) The effectiveness of humane teaching methods in veterinary education. *Alternatives to animal experimentation*, 91-109.
- Leitão, M.F.F (1978) Microrganismos patogênicos na carne e derivados. *Boletim ITAL*, Campinas, 59:15-48.

<http://pascalfrancis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=PASCAL8050122889>

- Leonel, F.R. (2008) Irradiação e qualidade da carne de frango congelada e embalada a vácuo. [unpublished Ph.D Thesis]- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal.
- Nissenbaum, A. (1975) The microbiology and biogeochemistry of the Dead Sea. *Microbial Ecology*, 2: 139-161. <https://doi.org/10.1007/BF02010435>
- Oliveira, F.S. (2014) Assessing the effectiveness of 30% sodium chloride aqueous solution for the preservation of fixed anatomical specimens: a 5-year follow-up study. *Journal of Anatomy*, 225:118 - 121. <https://doi.org/10.1111/joa.12185>
- Olson, P.R. (2016) Knowing “necro-waste”. *Social Epistemology*, 30:326–345. <https://doi.org/10.1080/02691728.2015.1015063>
- Pereira, N., Cardozo, M.V., Rocha, T.A.S.S., Ávila, F.A., Machado, M.R.F., Oliveira, F.S. (2019) Microbiological analysis of a new anatomical specimen preparation technique for use in veterinary surgery. *Semina – Ciências Agrárias*, 40(6): 3099-3106. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n6Supl2p3099>
- Prieto, J.L., Magaña, C., Ubelaker, D.H. (2004) Interpretation of postmortem change in cadavers in Spain. *Journal of Forensic Science*, 49:918–923.
- Queiroz, A.B.P.S., Soares, L.G., Vieira, G.C. et al. (2019) Biomechanics Analysis of Duodenum, Jejunum and Colon of Dogs’ Cadavers. *CPQ Med*, 8:1-5.
- Queiroz, A.B.P.S., Rodrigues, A., Cardozo, M.V. et al. (2022a) Biomechanical and microbiological analysis of embalmed cats – acute effect of conservation. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 94: e20201583. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202120201583>
- Queiroz, A.B.P.S., Rodrigues, A., Soares, L.G., et al. (2022b) Biomecânica em gatos quimicamente preparados. *Medicina Veterinária em Foco. Anais Congresso Vetscience*, 8-11.
- Queiroz, A.B.P.S., Rodrigues A, Cardozo M V, Costa, NTB, Rocha TASS, Oliveira FS (2022c) Microbiologia de gatos quimicamente preparados. *Medicina Veterinária em Foco - Anais Congresso Vetscience*, 99-102.
- Rigobelo, E.C., Cardozo, M.V., Avila, F.A., et al. (2016) An evaluation of the use of probiotics and manure composting as strategies to reduce levels of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in sheep. *African Journal of Microbiology Research*, 26:1011-1017. <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8034>

- Rocha, T.A.S.S., Yanagihara, G.R., Shimano, A.C. et al. (2018) Biomechanical analysis of the skin and jejunum of dog cadavers subjected to a new anatomical preservation technique for surgical teaching. *Journal of Plastination*, 30:16 - 23.
- Rocha, T.A.S.S., Queiroz, A.B.P.S., Zero, R. C., Oliveira, F.S. (2022) Bone marrow quality in chemically prepared dogs. *European Journal of Anatomy*, 26, 189-197.
- Rodrigues, H. (2010) *Técnicas Anatômicas*. 4º edição. Vitória, ES: GM Gráfica e Editora.
- Silva, R.M.G., Matera, J.M., Ribeiro, A.A.C.M. (2007) New Alternative Methods to Teach Surgical techniques for Veterinary Medicine Students despite the Absence of Living Animals. Is that an Academic Paradox? *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 36: 220–224. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0264.2007.00759.x>
- Stirling, E.R.B., Lewis, T.L., Ferran, N.A. (2014) Surgical skills simulation in trauma and orthopaedic training. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 9: 126. <https://doi.org/10.1186/s13018-014-0126-z>
- Tannenbaum, J. & Bennett, B.T. (2015) Russell and Burch's 3Rs then and now: the need for clarity in definition and purpose. *Journal of American Association Laboratory of Animal Science*, 54:120-32.
- Tesser ES. (2009) O uso de diferentes tipos de embalagem na conservação de carnes bovinas. [unpublished Ph.D Thesis] Univ. Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre, Brasil, 35 p.
- Vanderzant, C. & Splittstoesser D.E. (1992) *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 3ªed. Washington: American Public Health Association, p.1219.
- WHO – World Health Organization (1991) - IPCS International Programme on Chemical Safety– Formaldehyde - Health and Safety Guide, 57. <<http://www.inchem.org>>.
- WSAVA – Global Nutrition Committee – (2013) Body condition score. <https://wsava.org/global-guidelines/global-nutrition-guidelines/>
- Young, L.L., Reviere, R.D. & Cole B. (1988) Fresh meats: a place to apply modified atmospheres. *Food Science Technology*, 42: 65-69.
- Zero, R.C., Shimano, A.C., Cardozo, M.V. et al. (2020) Cadáveres de gatos preparados quimicamente para la enseñanza de técnicas quirúrgicas: análisis biomecánico de piel y yeyuno. *Revista de investigaciones veterinária del Perú*, 31(2): e16172. <https://doi.org/10.15381/rivep.v31i2.16172>

Zero, R.C., Queiroz, A.B.P.S., Toscano, C.P., et al. A Training Model for Cerebrospinal Liquid Collection and Myelography in Embalmed Dog Cadavers. *Rev.Bras.Cien.Vet.* 2022, 9(4), 175-181. <https://doi.org/10.4322/rbcv.2022.0031>