

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS DO PONTAL
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Uso de Técnicas de Manutenção de Peças Anatômicas Alternativas ao Formaldeído: Um Estudo
Comparativo

Mariana Brígida de Castro Silva

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção
do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Ituiutaba - MG

Dezembro - 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS DO PONTAL
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Uso de Técnicas de Manutenção de Peças Anatômicas Alternativas ao Formaldeído: Um Estudo
Comparativo

Mariana Brígida de Castro Silva

Prof^a. Dr^a. Carla Patrícia Bejo Wolkers

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção
do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Ituiutaba - MG

Dezembro - 2018

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à minha família, em especial aos meus pais, Telma e Reginaldo, e a minha avó Ana Castro por todo o apoio, incentivo e confiança.

À minha professora orientadora prof. Dra. Carla Wolkers, pelos ensinamentos, conselhos e confiança. Obrigada por não me deixar desistir e por estar sempre ao meu lado, me acolhendo e aceitando me orientar e me acompanhar desde o início da graduação tornando possível a conclusão deste trabalho.

Aos professores do curso de Ciências Biológicas do Campus Pontal, em especial ao prof. Dr. Alexandre Azenha, que além de contribuir para minha formação como bióloga, me ajudou a ser uma pessoa melhor. Obrigada por me estender a mão nos momentos mais difíceis da graduação e por me ensinar que os dias ruins são passageiros, e que os dias bons virão.

À prof. Dra. Luciana Calábria e ao prof. Dr. Fabrício Singaretti por terem aceitado participar da banca examinadora deste trabalho, contribuindo assim para a finalização do mesmo.

Aos amigos que fiz ao longo de toda a vida e durante a graduação. Meu agradecimento especial à Amanda Andrade, que me acompanha desde o ensino médio, e mesmo distante tem se feito tão presente e companheira.

Ao meu amor, Erick, pelo companheirismo, paciência, carinho e compreensão ao longo desta jornada.

RESUMO

A técnica de manutenção de peças anatômicas mais empregada nos laboratórios de anatomia é a solução de formaldeído, entretanto, se faz necessário sua substituição devido sua alta toxicidade. O presente estudo avaliou a viabilidade do uso de técnicas de manutenção de peças anatômicas para a criação de um novo protocolo de baixo custo e toxicidade. Vinte e quatro corações de galinha frescos foram submetidos a quatro métodos diferentes de manutenção (n=6, cada), incluindo formaldeído simples e a associação de formaldeído 10% com álcool etílico, solução salina 30% ou glicerina 98%, onde suas características morfológicas e morfométricas foram avaliadas antes e após 3 e 6 meses. Os resultados revelaram que as peças mantidas em solução de formaldeído 10% apresentaram alterações muito discretas nas características, enquanto alterações mais significativas foram observadas nas peças mantidas em álcool etílico 70% e em solução salina 30%, apresentando resultados satisfatórios no que diz respeito à qualidade das peças anatômicas produzidas. As peças glicerinadas foram as que mais apresentaram diferenças significativas. Estes resultados, associados ao custo financeiro de cada técnica, sugerem que a manutenção em solução salina 30% pode ser considerada como a melhor técnica de substituição ao uso do formaldeído.

Palavras-chave: Formolização; Toxicidade; Anatomia.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	6
OBJETIVO	8
MATERIAL E MÉTODOS	9
1. Obtenção e preparação das peças anatômicas	9
2. Técnicas de fixação e manutenção	10
3. Análise Financeira	11
4. Análises Estatísticas	11
RESULTADOS	12
DISCUSSÃO	18
REFERÊNCIAS	22

INTRODUÇÃO

A Anatomia é a ciência que estuda macro e microscopicamente a constituição e o desenvolvimento dos seres organizados, sendo imprescindível para o conhecimento e compreensão do corpo humano como um todo, na importância e interação de todas suas estruturas e características de cada um de seus órgãos ou partes (DANGELO; FATINI, 2007). Ela possui uma importância fundamental, especialmente na área da saúde, pois proporciona uma melhor compreensão dos processos fisiológicos, patológicos e neuronais que acontecem no corpo, a partir do conhecimento de suas estruturas. Além disso, conhecer e compreender o nosso corpo é um fator essencial para que possamos entender e, até detectar algum tipo de patologia por meio de alterações anatômicas. Do ponto de vista comparativo, o estudo da anatomia auxilia, ainda, na compreensão de aspectos evolutivos estruturais e funcionais dos organismos (COSTA *et al.*, 2012).

Nas Universidades, a anatomia é componente curricular básico dos currículos de cursos nas áreas da saúde e biológicas, e seu ensino é essencial para a formação destes profissionais, sendo a disponibilidade de um laboratório de anatomia completo e adequado para os cursos dessas áreas fundamental, por se tratar de uma disciplina de conteúdo teórico-prático. As aulas de anatomia são, normalmente, divididas em aulas teóricas, com o uso de recursos audiovisuais, e práticas, com o uso de peças anatômicas cadavéricas previamente dissecadas e formolizadas, além de peças anatômicas sintéticas. Devido a sua característica visual, as aulas práticas em laboratório aproximam e familiarizam o estudante com as estruturas estudadas nas aulas teóricas, auxiliando na construção do raciocínio e na consolidação do aprendizado (AVERSI-FERREIRA *et al.*, 2009).

Atualmente, os laboratórios de anatomia contam com uma grande variedade de técnicas que auxiliam na preservação dos tecidos animais para estudo (KIMURA; CARVALHO, 2010),

entretanto, a presença constante de produtos químicos altamente tóxicos e insalubres, como o formaldeído, e o alto custo associado a algumas destas técnicas, podem inviabilizar seu uso.

Segundo Fox *et al.* (1985), Greer *et al.* (1991) e Rodrigues (2010), a técnica de conservação mais empregada nos laboratórios de anatomia de universidades brasileiras é a manutenção em solução de formaldeído a 10%, por apresentar um bom custo benefício, além de durabilidade das peças. O formaldeído é um produto químico com pH entre 2,8 e 4, líquido à temperatura ambiente e que apresenta propriedades antifúngicas e bactericidas (VERONEZ *et al.*, 2010). Embora amplamente utilizado, possui uma alta toxicidade, que provoca irritação no bulbo ocular, nas vias aéreas superiores, desconforto respiratório, além de promover escurecimento, aumento do peso e rigidez das peças (KRUG *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2016), sendo, ainda, classificado pela Agência Internacional de Pesquisas em Câncer como cancerígeno (IARC, 1995). Além disso, este produto é considerado um importante poluente ambiental e seus resíduos apresentam baixa biodegradabilidade (OLIVEIRA *et al.*, 2004; PEREIRA, 2007), sendo que seu descarte pode causar sérios distúrbios para o tratamento biológico de águas residuais, além de causar dano à vida aquática. Se depositado em solo, pode ser lixiviado para águas subterrâneas. Para emissão no ar, sua meia-vida é de menos de 24 horas (PEREIRA; ZAIAT, 2008), aumentando para 24-168 horas em águas de superfície e 48-336 horas em águas subterrâneas (WHO, 2001). Portanto, águas residuárias contendo formaldeído necessitam de tratamento prévio ou grande diluição, para que atinjam concentrações não prejudiciais (OLIVEIRA, 2001; PEREIRA; ZAIAT, 2008).

Além da formolização, outras técnicas vêm sendo desenvolvidas para conservação de peças anatômicas, objetivando redução de custo e toxicidade. Dentre estas técnicas, destacam-se a glicerinação, a manutenção em ácido acético 70% e em solução salina hipertônica (NaCl 30%). A glicerinação é um método que utiliza o glicerol (95% de pureza), um composto que tem a capacidade de promover desidratação celular, atuando como fungicida e bactericida (AN *et al.*,

2012; KRUG *et al.*, 2011). Por ser uma substância inodora, de baixo nível de contaminação ambiental e não cancerígena, a técnica de glicerinação impõe menos riscos em comparação ao formaldeído, entretanto, sua maior desvantagem está relacionada ao custo elevado, sendo, aproximadamente dez vezes mais cara que o formaldeído (KRUG *et al.*, 2011).

O uso do álcool a 70% é comum em laboratórios de zoologia, utilizado, especialmente, para manutenção de peças anatômicas de tamanho reduzido. Embora não tenha altos níveis de toxicidade, o álcool é uma solução altamente volátil, sendo necessária sua reposição periódica, inviabilizando a manutenção de peças de dimensões maiores, por exigir tanques hermeticamente fechados, levando à custos elevados (PEREIRA, 2014). Já a solução de NaCl 30% é pouco volátil, apresenta baixo custo e tem sido considerada efetiva com relação à preservação de peças anatômicas, não sendo observadas alterações nas características das peças anatômicas e contaminação por microrganismos (OLIVEIRA, 2014; LIMA, 2017).

Embora estes métodos de conservação e manutenção de peças cadavéricas tenham sido, previamente, descritos na literatura, não há estudos avaliando os efeitos destas técnicas sobre peças anatômicas frescas padronizadas. Neste sentido, a avaliação da viabilidade de diferentes técnicas de conservação e manutenção de peças anatômicas cadavéricas é essencial para o desenvolvimento de uma metodologia que visa a redução no uso da solução de formaldeído, diminuição na toxicidade e custos associados aos laboratórios de anatomia.

OBJETIVO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a viabilidade do uso de técnicas de conservação de peças anatômicas cadavéricas frescas e posterior manutenção no Laboratório de Anatomia e Fisiologia Humana (LANAF/ICENP/UFU), para a criação implementação de um novo

protocolo de manutenção de baixo custo e toxicidade, que possa ser aplicado em laboratórios de anatomia desta e de outras instituições, visando melhores condições de trabalho para os profissionais e estudantes que as manuseiam, sendo essencial para manter laboratórios de anatomia salubres e com qualidade.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no LANAF/ICENP/UFU no período de Abril a Outubro de 2018.

1. Obtenção e preparação das peças anatômicas

O coração de galinha foi escolhido como material base, devido à facilidade de obtenção do material fresco, tamanho reduzido e semelhança tecidual com peças cadavéricas humanas que são, comumente, utilizadas em laboratórios de anatomia. Sendo assim, foram utilizados 24 corações de galinha frescos obtidos de estabelecimento comercial do município de Ituiutaba-MG.

Após a obtenção, as peças foram levadas ao LANAF/ICENP/UFU, lavadas e descritas com relação às características morfológicas, coloração e textura. Em seguida, as peças foram fotografadas, pesadas em balança analítica de precisão e mensuradas utilizando paquímetro digital. Foram realizadas mensurações de comprimento, medido do ápice à base do coração, entre as artérias aorta e pulmonar, e de largura, medida na altura do sulco coronário, entre átrios e ventrículos. As peças foram, então, submetidas a quatro diferentes métodos de fixação e conservação.

As peças anatômicas foram reavaliadas com relação às características morfológicas, coloração, textura, pesagem e morfometria, 3 e 6 meses após a aplicação das técnicas, para observação da influência de cada técnica na qualidade das peças anatômicas.

2. Técnicas de fixação e manutenção

Neste estudo foram avaliados os seguintes protocolos de conservação e manutenção de peças anatômicas cadavéricas, sendo utilizadas seis peças anatômicas para cada método:

- I) Formolização Simples (**FS**, n=6): Após a lavagem, as peças foram colocadas em embalagens individuais, contendo solução 50 mL de formaldeído 10%, onde permaneceram durante todo o período experimental.
- II) Formolização Simples + Álcool 70% (**FAIc**, n=6): Após a lavagem, as peças foram colocadas em embalagens individuais, contendo 50 mL de solução de formaldeído 10%, onde permaneceram por 10 dias para a fixação. Após este período, as peças foram retiradas da solução, lavadas para a retirada dos resíduos de formaldeído, e transferidas para frascos contendo 50 mL de solução de álcool etílico 70%, onde permaneceram até o final do período experimental.
- III) Formolização Simples + Solução Salina 30% (**FSal**, n=6): Após a lavagem, as peças foram colocadas em embalagens individuais, contendo solução de formaldeído 10%, onde permaneceram por 10 dias para a fixação. Após este período, as peças foram retiradas da solução, lavadas para a retirada dos resíduos de formaldeído, e transferidas para frascos contendo 50 mL de solução salina (NaCl) na concentração de 30% (OLIVEIRA, 2014), onde permaneceram até o final do período experimental.

IV) Formolização Simples + Glicerinação (FGli, n=6): Após a lavagem, as peças foram colocadas em embalagens individuais, contendo 50 mL de solução de formaldeído 10%, onde permaneceram por 10 dias para a fixação. Após este período, as peças foram retiradas da solução, lavadas para a retirada dos resíduos de formaldeído e passaram pelo processo de glicerinação, no qual as peças foram desidratadas em solução com álcool etílico 70% durante o período de sete dias seguido de clareamento em solução de peróxido de hidrogênio 3% durante sete dias, finalizando em solução de glicerina 98% e álcool etílico absoluto, na proporção 1:2 por 15 dias. Após este período, as peças submersas foram retiradas e colocadas em um escorredor por oito horas para que o excesso de glicerina saísse naturalmente, sendo, em seguida, mantidas em caixas fechadas sem nenhum tipo de líquido (GIGEK *et al.*, 2009).

3. Análise Financeira

O custo dos protocolos aplicados neste estudo também foi avaliado a fim de comparar a relação custo *vs* benefício das diferentes técnicas de manutenção. A quantidade utilizada de cada solução foi calculada e os custos das mesmas foram analisados de acordo com os valores disponíveis no Painel de Preços do Governo Federal (<http://paineldeprecos.planejamento.gov.br/analise-materiais>). A pesquisa foi realizada a partir de compras feitas pela Universidade Federal de Uberlândia no ano de 2018.

4. Análises Estatísticas

Para cada tratamento, os dados obtidos nos parâmetros de comprimento, largura e peso foram considerados normais (teste de Kolomogorov) e homogêneos (teste de Levene) e foram comparados por meio de análise de variância de uma via (*One-Way* ANOVA, $p < 0,05$), seguido do teste de Tukey ($p < 0,05$) quando encontradas diferenças estatísticas.

A partir dos dados obtidos foi, ainda, calculada a porcentagem de variação no comprimento, largura e peso dos corações após 3 meses e 6 meses de manutenção, a fim de avaliar a variação destes parâmetros em cada período. Os dados de variação foram considerados normais (teste de Kolomogorov) e homogêneos (teste de Levene) e foram submetidos à análise de variância de uma via (*One-Way* ANOVA), seguido do teste de Tukey ($p < 0,05$) quando encontradas diferenças estatísticas. Todas as análises estatísticas foram realizadas por meio do programa estatístico SigmaStat 3.5.

RESULTADOS

As características morfológicas obtidas na avaliação de diferentes protocolos de conservação dos corações são apresentadas na Figura 1. Já as avaliações morfométricas, considerando comprimento, largura, peso e aspecto morfológico estão apresentados no Quadro 1 e nas Figuras 2, 3 e 4.

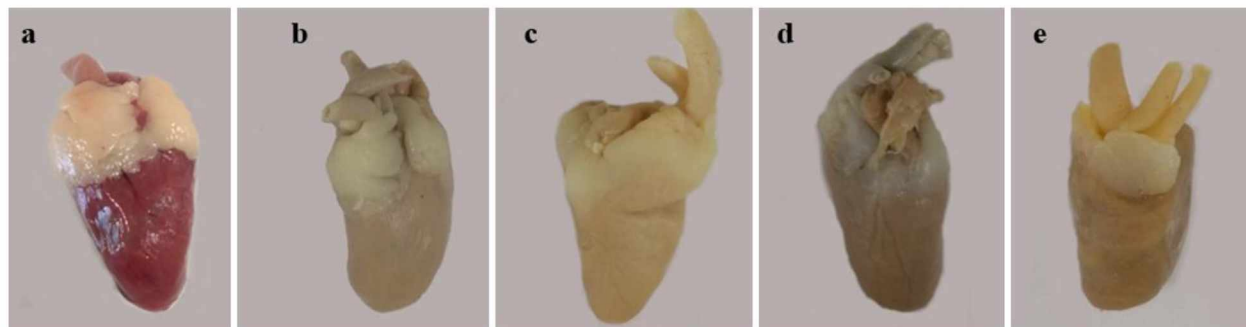


Figura 1: Corações submetidos a diferentes técnicas de conservação: **(a)** coração fresco in natura; **(b)** formolização simples (FS); **(c)** formolização simples + álcool 70% (FAlc); **(d)** formolização simples + solução salina 30% (FSal); **(e)** formolização simples + glicerinação (FGli). Fonte: A autora.

Quadro 1: Efeitos obtidos na avaliação de diferentes protocolos de fixação e conservação de peças anatômicas

	COMPRIMENTO		LARGURA		PESO		MORFOLOGIA
	3 meses	6 meses	3 meses	6 meses	3 meses	6 meses	
Fs	(=)	(=)	(=)	(=)	(=)	(-)	Coloração amarelada; odor desagradável
FAlc	(=)	(=)	(=)	(=)	(-)	(-)	Coloração amarelada; odor característico
FSal	(=)	(=)	(-)	(-)	(+)	(+)	Coloração levemente escura; inodoro
FGli	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	Coloração escura; textura “plastificada”; inodoro.

FS- formolização simples; **FAlc-** formolização simples + álcool 70%; **FSal-** formolização simples + solução salina 30%; **FGli-** formolização simples + glicerinação; (-) redução; (+) aumento; (=) ausência de alteração. Fonte: Elaborado pela autora.

Os corações submetidos à FS não apresentaram alterações significativas em seu comprimento e largura após 3 e 6 meses (comprimento: $F=0,342$; $p=0,718$; largura: $F=-0,434$, $p=0,659$) de manutenção, mas apresentaram redução no seu peso após 6 meses ($F=33,903$;

$p < 0,001$) (Quadro 1) e exibiram coloração amarelada e odor desagradável (Fig 1.b), comparado ao coração fresco (Fig 1.a).

Já os corações submetidos ao tratamento FAlc apresentaram redução significativa no peso após 3 e 6 meses ($F=122,211$, $p < 0,001$) de manutenção, sem alterações significativas no comprimento ($F=2,934$, $p=0,099$) e na largura ($F=3,538$, $p=0,069$) (Quadro 1). As peças apresentaram coloração um pouco mais clara do que as peças submetidas à fixação e manutenção em FS, porém, sem odor desagradável (Fig 1.c). Também foi observada uma redução significativa da solução conservante devido à evaporação do álcool.

Os corações fixados em formaldeído e mantidos em solução salina a 30% (FSal) não apresentaram alterações significativas em seu comprimento após 3 e 6 meses ($F=2,520$, $p=0,130$), mas apresentaram redução na largura (3 meses: $F=15,624$, $p < 0,001$; 6 meses: $F=15,624$, $p=0,023$) e aumento no peso (3 meses: $F=37,689$, $p < 0,001$; 6 meses: $F=37,689$, $p=0,003$) com relação às peças frescas, sendo o aumento de peso entre 3 e 6 meses também significativo ($F=37,689$, $p=0,006$) (Quadro 1). Os corações apresentaram-se inodoros e de coloração levemente mais escurecida que os corações mantidos em FS (Fig 1.d).

O processo de FGLi nos corações promoveu redução significativa no comprimento, largura e peso após 3 (comprimento: $F=12,426$; $p=0,009$; largura: $F=27,325$, $p < 0,001$; peso: $F=56,542$, $p < 0,001$) e 6 meses de manutenção (comprimento: $F=12,426$; $p=0,009$; largura: $F=27,325$, $p < 0,001$; peso: $F=56,542$, $p < 0,001$) (Quadro 1), apresentando textura “plastificada”, coloração escura e gordura com aspecto transparente (Fig 1.e).

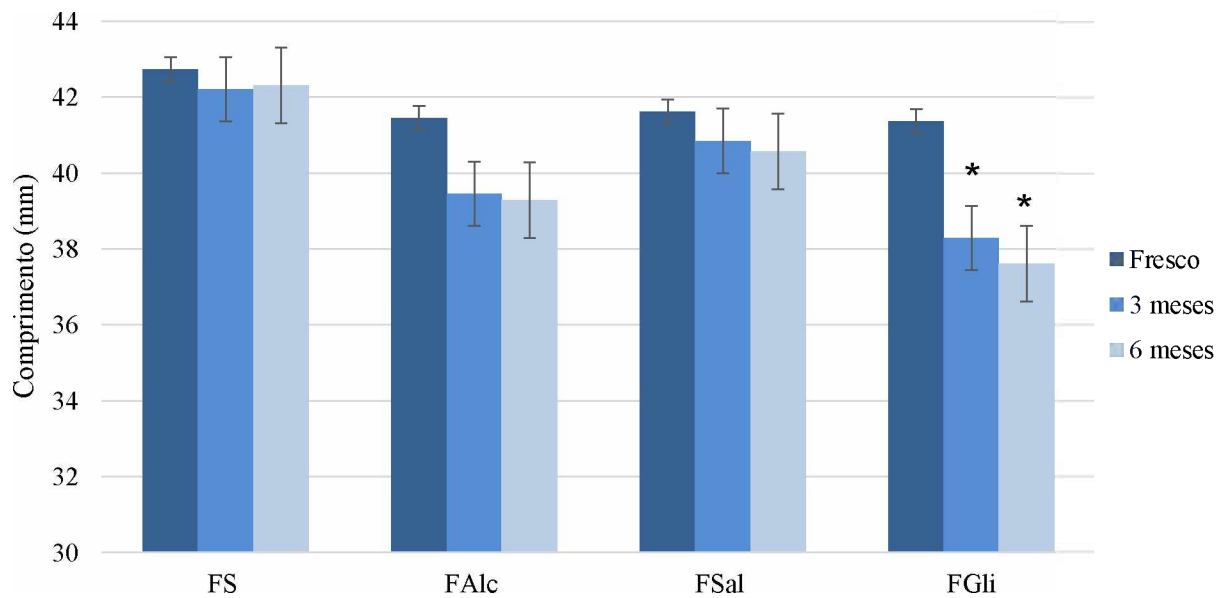


Figura 2: Comprimento (mm) dos corações de galinha submetidos a diferentes métodos de manutenção (FS- formolização simples; FAIc- formolização simples + álcool 70%; FSaI- formolização simples + solução salina 30%; FGli- formolização simples + glicerinação). As medidas são apresentadas para corações frescos e após 3 e 6 meses de manutenção. Asterisco (*) indica diferença significativa ($p < 0,05$) entre diferentes tempos de manutenção dentro do mesmo tratamento. Fonte: Elaborada pela autora.

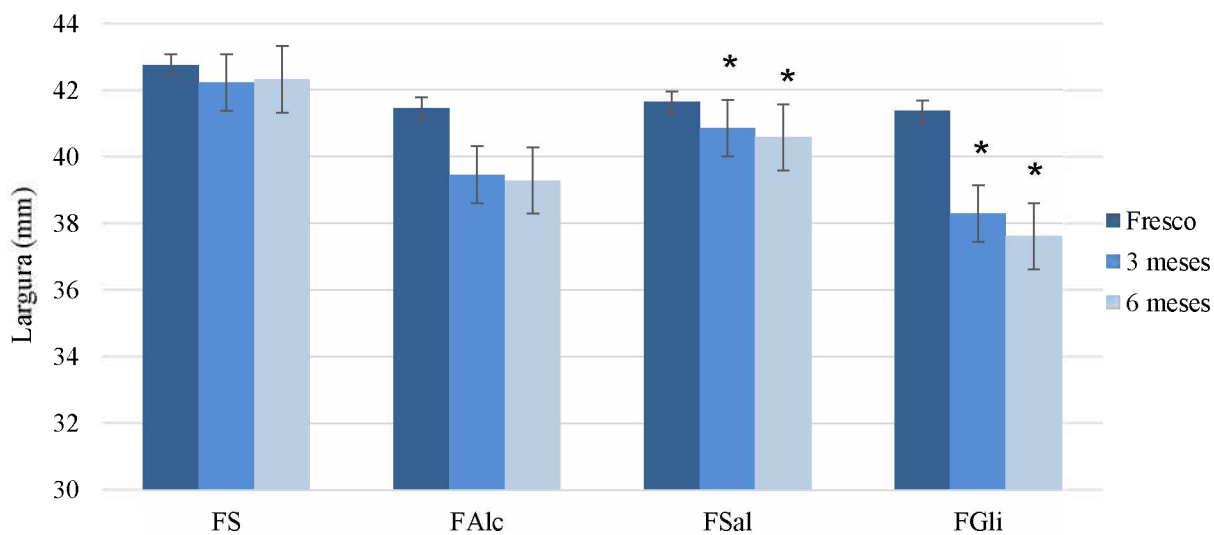


Figura 3: Largura (mm) dos corações de galinha submetidos a diferentes métodos de manutenção (FS- formolização simples; FAIc- formolização simples + álcool 70%; FSaI- formolização simples + solução salina 30%; FGli- formolização simples + glicerinação). As medidas são apresentadas para corações frescos e após 3 e 6 meses de manutenção. Asterisco (*) indica diferença significativa ($p < 0,05$) entre diferentes tempos de manutenção dentro do mesmo tratamento. Fonte: Elaborada pela autora.

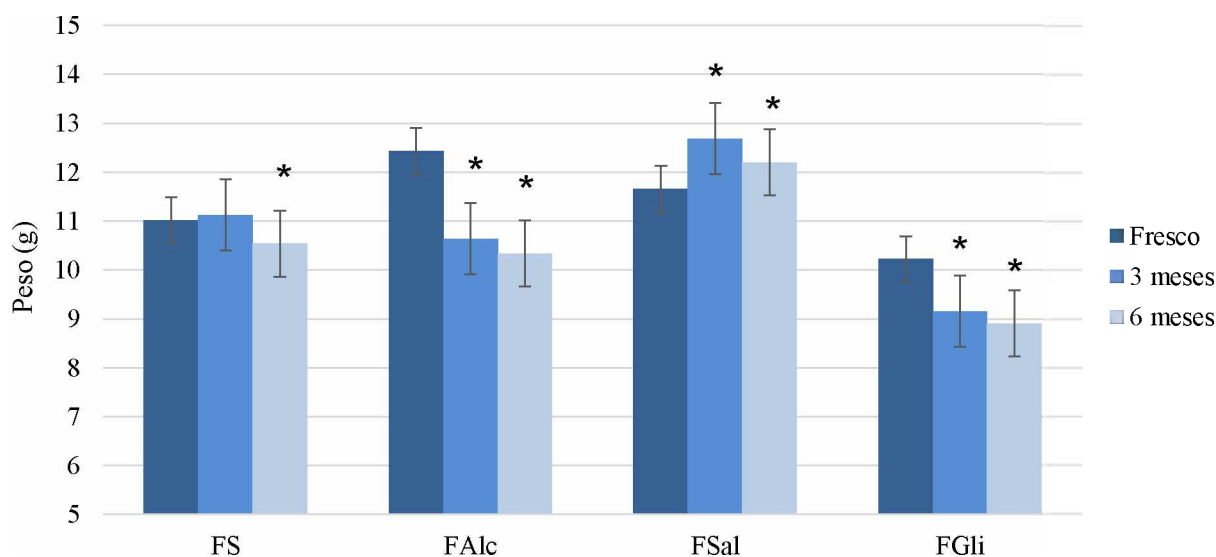


Figura 4: Peso (g) dos corações de galinha submetidos a diferentes métodos de manutenção (FS- formolização simples; FAlc- formolização simples + álcool 70%; FSal- formolização simples + solução salina 30%; FGli- formolização simples + glicerinação). As medidas são apresentadas para corações frescos e após 3 e 6 meses de manutenção. Asterisco (*) indica diferença significativa ($p < 0,05$) entre diferentes tempos de manutenção dentro do mesmo tratamento. Fonte: Elaborada pela autora.

A porcentagem de variação no comprimento, largura e peso após 3 e 6 meses de manutenção, dentro de cada tratamento, são apresentados na Tabela 1. Não foram encontradas diferenças significativas no comprimento, entre os tratamentos, após três meses de manutenção ($F=2,377$; $p=0,100$). Com relação à largura dos corações, foi observada redução significativa diferença significativa na largura dos corações submetidos à FGli quando comparados aos mantidos em FS ($F=4,106$; $p=0,20$). No que diz respeito ao peso das peças, foi observada uma grande variação entre os tratamentos, sendo que os corações submetidos à FAlc apresentaram a maior redução de peso (15,14%), seguido dos corações submetidos à FGli (10,32%). Os corações

submetidos à FSal e FS apresentaram aumento no peso (8,82% e 1,09%, respectivamente, sendo observada diferença estatística entre todos os tratamentos ($F=120,09$, $p<0,001$).

A avaliação dos dados referente à variação no período entre 3 meses e 6 meses de manutenção demonstrou que não houve diferença significativa no comprimento entre os tratamentos ($F=0205$, $p=0,892$) e na largura ($F=0,793$, $p=0,512$). Com relação ao peso dos corações, foi observado que entre o terceiro e sexto mês de manutenção todos os corações sofreram perda de peso, sendo esta mais pronunciada nos corações mantidos em FS ($F=5,405$, $p=0,007$).

Tabela 1: Média da porcentagem de variação dos tratamentos realizados no período de 0 a 3 meses e 3 a 6 meses

	COMPRIMENTO		LARGURA		PESO	
	0-3 meses	3-6 meses	0-3 meses	3-6 meses	0-3 meses	3-6 meses
Fs	-1,32±1,86	0,047±1,05	1,67±3,32 a	-3,13±3,46	1,09±0,43 a	-5,33±0,34
FAlc	-5,07±2,04	-0,58±1,97	-1,03±2,128 ab	-3,57±1,76	15,14±1,41 c	-2,01±0,91
FSal	-1,80±1,33	-0,73±1,06	-7,13±2,28 ab	-5,13±1,68	8,82±1,16 b	-4,18±0,78
FGli	-7,57±2,25	-1,45±1,11	-8,64±1,62 b	-0,42±1,21	-10,32±0,63 d	-2,37±0,48

FS- formolização simples; **FAlc-** formolização simples + álcool 70%; **FSal-** formolização simples + solução salina 30%; **FGli-** formolização simples + glicerinação. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p<0,05$). Fonte: Elaborada pela autora.

Com relação ao custo das técnicas, para a fixação e manutenção das peças submetidas à FS foram gastos 82 mL de formaldeído P.A. com custo médio de R\$ 11,91/litro, sendo o custo total de R\$ 0,98.

Para o tratamento FAlc foram gastos 211,05 mL de álcool etílico P.A que possui custo médio de R\$ 9,76/litro, sendo gastos R\$ 2,06 para a manutenção que, juntamente com o custo da fixação em formalina, representou custo total de R\$3,04.

Para os corações mantidos em FSaI foram utilizados 90 g de NaCl P.A. que possui valor médio de R\$ 12,10/kg, com custo médio de R\$ 1,09 de manutenção que, somado ao valor do formaldeído utilizado na fixação das peças, totalizou custo de R\$ 2,07 para este protocolo.

Para FGli, foram gastos 9 mL de peróxido de hidrogênio P.A., que possui valor médio de R\$ 13,47/litro, 98 mL de glicerina P.A. que custa em média R\$ 20,26/litro e 411,05 mL de álcool etílico P.A., com custo médio de R\$ 9,76/litro. Ou seja, com a aplicação deste protocolo foi gasto, em média, R\$ 7,09 para a fixação e manutenção das peças.

DISCUSSÃO

A conservação de peças anatômicas visa o uso de substâncias que impedem a proliferação de microrganismos e, neste contexto, o formaldeído, que é uma substância química com efeito desinfetante, antisséptico e germicida, de baixo custo e pouca necessidade de manutenção, vem ganhando destaque como a substância mais utilizada na fixação e conservação de peças anatômicas humanas no Brasil (SILVA *et al*, 2016). Entretanto, a despeito destes benefícios, o formol possui cheiro desagradável, é tóxico e desencadeia reações adversas à saúde, tendo seu uso questionado e sua comercialização restrita. De fato, a Agência Internacional de Pesquisa do Câncer realizou diversos estudos para comprovar a carcinogenicidade do formaldeído, porém, somente em 2006, esse efeito foi comprovado, devido à reação do aldeído fórmico com ácido clorídrico que forma o bis (clorometil) éter, produto que é reconhecidamente cancerígeno (IARC, 2006; VIEIRA *et al.*, 2013). Neste contexto, o uso indiscriminado do formaldeído deve ser evitado, podendo ser empregado apenas como veículo fixante, deixando o papel de conservação e manutenção para outras substâncias (PEREIRA, 2014).

No presente estudo foi observado que, de fato, peças fixadas e mantidas em solução de formaldeído 10% apresentam alterações muito discretas nas suas características, tendo sido observado, apenas, uma pequena redução no peso e coloração amarelada. Entretanto, apesar de se mostrar um meio eficiente de manutenção, os aspectos negativos do uso do formaldeído, especialmente associados às condições insalubres para professores, técnicos e estudantes que trabalham nos laboratórios de anatomia, impõe a necessidade imediata da substituição deste meio de manutenção por meios alternativos.

Dentre os meios de manutenção avaliados, o que apresentou características mais próximas das peças mantidas em formaldeído foi o álcool etílico 70%. Os corações mantidos neste meio apresentaram manutenção do comprimento e largura, apresentando apenas uma redução significativa no peso. Este resultado corrobora com o estudo realizado por Pereira (2014), que também observou que peças conservadas em solução alcoólica mantêm sua estrutura próxima àquela do estado real apresentando leve descoloração e permanece por um longo tempo em perfeitas condições, indicando que este é um meio eficiente no que diz respeito à manutenção da qualidade das peças. Além disso, o álcool etílico é uma substância química que, ao contrário do formaldeído, não resulta em reação adversa aos olhos e mucosas, ou a qualquer outro órgão, e não é tão tóxico. No entanto, apesar do álcool etílico ser eficiente na conservação anatômica, não é tão utilizado quanto o formaldeído devido à alguns fatores, como desidratação intensa, deixando as peças com aspecto endurecido, além de ser uma substância de grande risco acidental devido sua característica inflamável (CURY, 2012). Além disso, devido ao caráter volátil, o álcool etílico evapora a medida que a peça é manuseada, fazendo-se necessária a sua reposição periodicamente, aumentando muito o custo deste meio. De fato, no presente estudo, foi necessária a reposição do álcool etílico após 6 meses de manutenção devido à evaporação. A volatilidade do álcool etílico gera um outro aspecto negativo à técnica, que se refere à limitação do tamanho das peças, devendo

ser de pequeno a médio porte. Caso seja aplicada a corpos de animais e/ou humanos inteiros, o tanque deve ser hermeticamente fechado para que o álcool etílico não evapore e os gastos com a manutenção aumentem (PEREIRA, 2014).

Apesar de promover alterações mais significativas nas peças comparando ao álcool etílico 70%, a manutenção em solução salina 30% também apresentou resultados satisfatórios no que diz respeito à qualidade das peças anatômicas produzidas. Os corações mantidos neste meio de conservação apresentaram pequena redução na largura e aumento no peso, sem alterações no comprimento das peças, mantendo-as com aparência bastante similar àquelas observadas nas peças mantidas em formaldeído, tendo como aspecto negativo o aumento no peso. O uso de solução salina 30% para a manutenção de peças cadavéricas em laboratórios de anatomia ainda é pouco disseminado, entretanto, estudos recentes indicam que esta técnica apresenta resultados satisfatórios na manutenção de espécimes anatômicos de ruminantes, carnívoros, equinos, suínos e aves previamente fixados em formaldeído 10%, no que diz respeito à qualidade, custo e salubridade (OLIVEIRA, 2014).

Dentre os protocolos de manutenção avaliados, a glicerinação foi o meio que mais apresentou diferenças comparando com as peças mantidas em formaldeído. Após o processo de glicerinação, as peças apresentaram significativa retração tecidual e se mostraram consideravelmente mais leves do que os mantidos em formaldeído, não demonstrando um odor forte e com um aspecto semelhante a um “emborrachado”, o que corrobora com os resultados descrito por Cury (2012) e Kimura e Carvalho (2010). De acordo com Pereira (2014), a desvantagem desse protocolo é que, em longo prazo, as peças glicerinas tendem a ficar escuras. De fato, apesar do pouco tempo de manutenção avaliado no presente estudo, foi possível observar este escurecimento, evidenciando a perda de qualidade. Além disso, peças submetidas à glicerinação requerem manutenção a cada 2 ou 3 anos, devendo ser novamente submersas em

glicerina e secas, o que aumenta os custos do uso da técnica, especialmente em peças de grandes dimensões.

O processo de glicerinação envolve várias etapas, incluindo fixação em formaldeído 10%, desidratação em álcool etílico 70%, clareamento em peróxido de hidrogênio 3% e a glicerinação propriamente dita em glicerina 98%. Existem inúmeros protocolos de glicerinação, desenvolvidos por diferentes autores, variando o tempo de duração de cada etapa, bem como a ordem do processo de desidratação e clareamento (GIGEK *et al.*, 2009; CARVALHO *et al.*, 2013; CURY *et al.*, 2013). Apesar das diferenças metodológicas, todos os autores apontam uma maior eficiência da glicerina em relação ao formaldeído simples, devido à diminuição de peso, odor e também por apresentar um ótimo aspecto estético, semelhante à morfologia original das peças. Entretanto, o presente estudo demonstrou que a técnica de glicerinação apresenta grande variação de características morfológicas, quando comparadas às peças frescas. Os corações submetidos à esta técnica de conservação apresentaram redução significativa de comprimento, largura e peso, além de promover uma aparência plastificada às peças, distante daquela observada nas peças submetidas às outras técnicas de manutenção.

Em relação ao custo dos protocolos de manutenção avaliados, a formolização simples foi a que apresentou menor custo, e a glicerinação apresentou o maior custo, sendo aproximadamente sete vezes mais cara comparada com o primeiro, inclusive com valor mais elevado que o descrito no estudo de Kimura e Carvalho (2010), no qual a técnica de glicerinação apresentou custo quatro vezes e meia maior que a formolização, e menor que o indicado por Krug *et al.* (2011) que descreve um custo dez vezes maior para esta técnica. Esta diferença de custo da técnica de glicerinação entre diferentes estudos pode estar associada às diferentes metodologias aplicadas e à variedade no preço dos produtos químicos utilizados na sua implementação.

Já a solução salina 30% apresentou o segundo menor custo, seguida da manutenção em álcool etílico 70%. Entretanto, além de ser mais barata, o uso da solução salina 30% possui necessidade de reposição da solução extremamente inferior ao álcool etílico, por não se tratar de uma substância volátil, reduzindo ainda mais o custo em longo prazo. Em comparação com a formolização, a solução salina 30% é aproximadamente duas vezes mais cara, o que difere do resultado apresentado por Wolff *et al.* (2008), que relata o custo desta solução sendo aproximadamente 10% do custo do formaldeído. É importante ressaltar que os custos aqui apresentados consideram não apenas o valor da solução de manutenção, mas também o formaldeído utilizado no processo de fixação, e, por esta razão, a manutenção em formaldeído sempre apresentará o custo mais baixo já que as peças são mantidas na própria solução fixadora.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo sugerem que, embora o formaldeído cause menos alterações nas características das peças com relação às frescas, outros métodos como o uso de solução salina e álcool etílico podem ser utilizados como solução conservante sem perda significativa na qualidade, sendo que o uso de solução salina 30% em peças previamente fixadas se mostrou o meio mais adequado para substituição do formaldeído 10%.

REFERÊNCIAS

AN, X. *et al.* Arterial anatomy of the gracilis muscle as determined. **Clinical Anatomy**, v. 25, n. 2, p.231-234, 2012.

- AVERSI-FERREIRA, T. A. *et al.* Practice of dissection as teaching methodology in anatomy for nursing education. **Brazilian Journal of Morphological Science**, v. 26, n. (3-4) p. 151-157, 2009.
- CARVALHO, Y. K. *et al.* Avaliação do uso da glicerina proveniente da produção de biodiesel na conservação de peças anatômicas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 1, p. 115-118, 2013.
- COSTA, G. B. F. *et al.* O Cadáver no Ensino da Anatomia Humana: uma Visão Metodológica e Bioética. **Revista Brasileira de Educação Médica**, v. 36, n. 3, p. 369-373, 2012.
- CURY, F. S. **Elaboração laboratorial padrão em anatomia animal e técnicas anatômicas**. 2012. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Departamento de Cirurgia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.
- CURY, F. S. *et al.* Técnicas anatômicas no ensino da prática de anatomia animal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 5, p. 688-696, 2013.
- DANGELO, J. G.; FATINI, C. A. **Anatomia Humana Sistêmica e Segmentar**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2007.
- FOX, C.H. *et al.* Formaldehyde fixation. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 33, n. 8, p. 845-853, 1985.
- GIGEK T. *et al.* Estudo analítico da técnica de glicerinação empregada para conservação de peças anatômicas de bovinos. *In*: Simpósio de Ciências da Unesp, 5., Dracena, SP. **Anais [...]**. Dracena: UNESP, 2009, p.1-3. Disponível em: <http://www.feis.unesp.br/Home/Eventos/encivi/iiiencivi-2009/estudo-analitico-da-tecnica....pdf>. Acesso em: 17 out. 2018.
- GREER, C.E. *et al.* PCR amplification from paraffin-embedded tissues: Effects of fixative and fixation time. **American Journal of Clinical Pathology**. v. 95, n. 2, p. 117-124, 1991.
- IARC. **Formaldehyde**. 1995. Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/iarc/vol62/formal.html>. Acesso em: 17 Out. 2018.
- IARC. **Formaldehyde**. 2006. Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/iarc/vol88/volume88.pdf>. Acesso em: 17 Out. 2018.
- KIMURA, K. E.; CARVALHO W. L. **Estudo da relação custo x benefício no emprego da técnica de glicerinação em comparação com a utilização da conservação por formol**. 2010. 30 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Extensão em Higiene Ocupacional), Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.
- KRUG L. *et al.* Conservação de Peças Anatômicas com Glicerina Loira. *In*: Mostra de Iniciação Científica, 1., Concórdia, SC. **Anais [...]**. Concórdia: IFC, 2011, p.1-6. Disponível em: <http://mic.concordia.ifc.edu.br/wp->

content/uploads/sites/30/2017/10/MIC109_Conserva%C3%A7%C3%A3o_de_pe%C3%A7as_anat%C3%B4micas_com_glicerina_loira.pdf. Acesso em: 17 Out. 2018.

- LIMA, S. C de. **Manutenção das peças em solução de NaCl a 30%: Uma nova forma de preservação de peças**. 2017. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas), Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, 2017.
- OLIVEIRA, S. V. W. B. de. **Avaliação da degradação e toxicidade de formaldeído em reator anaeróbio horizontal de leito fixo**. 2001. 112 f Dissertação de Mestrado (Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.
- OLIVEIRA, S. V. W. B. de. *et al.* Formaldehyde degradation in an anaerobic packed-bed bioreactor. **Water Research**, v. 38, n. 7, p. 1685-1694, 2004.
- OLIVEIRA, F. S. Assessing the effectiveness of 30% sodium chloride aqueous solution for the preservation of fixed anatomical specimens: a 5-year follow-up study. **Journal Anatomy**. v. 225, n. 1, p. 118-121, 2014.
- PEREIRA, N. S. **Degradação anaeróbia de formaldeído em reator operado em bateladas sequenciais contendo biomassa imobilizada**. 2007. 85 f. Tese de Mestrado (Engenharia Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.
- PEREIRA, N. S.; ZAIAT, M. Degradation of formaldehyde in anaerobic sequencing batch biofilm reactor (ASBBR). **Journal of Hazardous Materials**, v. 163, n. (2-3), p. 777-782, 2008.
- PEREIRA, P. A. P. **Técnica de preparação de peças anatômicas do sistema circulatório de craniados, com ênfase em mamíferos: Uma alternativa**. 2014. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.
- RODRIGUES, H. **Técnicas Anatômicas**. 4ª ed. Vitória: GM Gráfica e Editora, 2010.
- SILVA, G. R. da *et al.* Métodos de conservação de cadáveres humanos utilizados nas faculdades de medicina do Brasil. **Revista de Medicina**, v. 95, n. 4, p. 156-161, 2016.
- VERONEZ, D. A. L. *et al.* Potencial de risco para a saúde ocupacional de docentes, pesquisadores e técnicos de anatomia expostos ao formaldeído. **Revista de Gestão Integrada em Saúde do Trabalho e Meio Ambiente**. v. 5, n. 2, p. 1-14, 2010.
- VIEIRA, I. I. F. *et al.* Efeitos da utilização do formaldeído em laboratórios de anatomia. **Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança**, v. 11, n. 1, p. 97-105, 2013.
- WHO. **Formaldehyde**. 2001. Disponível em:
http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0014/123062/AQG2ndEd_5_8Formaldehyde.pdf. Acesso em: 17 Out. 2018.

WOLFF, K. D. *et al.* Thiel embalming technique: a valuable method for microvascular exercise and teaching of flap raising. **Microsurgery** v. 28, n. 4, p. 273–278, 2008.