

Tópico de Interesse Geral

Uso da glicerina para a substituição do formaldeído na conservação de peças anatômicas¹

Rafael Garcia Karam², Fabio Sergio Cury^{3*}, Carlos Eduardo Ambrósio⁴
e Celina Almeida Furlanetto Mançanares²

ABSTRACT- Karam R.G., Cury F.S., Ambrósio C.E. & Mançanares C.A.F. 2016. [**Glycerin can replace formaldehyde for anatomic conservation.**] Uso da glicerina para a substituição do formaldeído na conservação de peças anatômicas. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 36(7):671-675. Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Av. Orlando Marques de Paiva 87, Bloco 17, Piso Superior, Cidade Universitária, São Paulo, SP 05508 270, Brazil. E-mail: fcury@usp.br

The formalization is the main form of body and anatomic conservation, mainly due to its low cost. The technique is based on the use of formaldehyde (5-20%) as fixative and preservative. However there are several negative factors on their use, unpleasant smell, browning, weight gain and stiffness of parts and serious environmental problems if disposed of incorrectly, and is a product classified by the International Agency for Research on Cancer as highly carcinogenic. There are several options to replace formaldehyde and glycerination is one of them, whose which will be treated in this work. Glycerin dehydrates the cell and acts as antifungal and antibacterial, and has many advantages compared to formaldehyde. But its cost is still high and this explains their limited use in the anatomy lab. This work aims to show the advantages of using glycerin in relation to formaldehyde and propose a possible replacement of this carcinogen to preserve the health of students, staff and teachers within the laboratory, and allows a more pleasant environment for learning.

INDEX TERMS: Glycerination, formalization, anatomy practical class.

RESUMO.- A formalização é a principal forma de conservação de corpos e peças anatômicas, devido principalmente ao seu baixo custo. A técnica baseia-se na utilização do formaldeído (5-20%) como fixador e conservador. Entretanto existem vários fatores negativos à sua utilização, como odor desagradável, escurecimento, aumento de peso e rigidez das peças e sérios problemas ambientais quando descartada de forma incorreta, além de ser um produto classificado pela Agência Internacional de Pesquisas em Câncer como altamente cancerígeno. Existem várias opções para

substituir o formaldeído, a glicerinação é uma delas, cujo será tratada neste trabalho. A glicerina atua como antifúngico e bactericida, além de ter muitas vantagens em relação ao formol, tratando-se de odor, textura e coloração, além de não ser prejudicial a saúde. Porém o seu custo ainda é elevado e isso explica sua pouca utilização em laboratórios de anatomia. Este trabalho tem como objetivo mostrar as vantagens do uso da glicerina em relação ao formol e propor uma possível substituição deste produto cancerígeno para preservar a saúde dos alunos, funcionários e professores dentro do laboratório, além de permitir um ambiente mais agradável para o aprendizado.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Glicerinação, formalização, anatomia, aula prática.

INTRODUÇÃO

A preocupação com a saúde tratando-se de ambientes insalubres é extremamente importante, isso se enquadra perfeitamente dentro dos laboratórios de anatomia. O formaldeído é um produto químico com um pH entre 2,8 e

¹ Recebido em 24 de fevereiro de 2016.

Aceito para publicação em 3 de maio de 2016.

² Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos (UNIFEB-OB), Rua General Osório 433, São João da Boa Vista, SP 13870-431, Brasil.

³ Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), Av. Orlando Marques de Paiva, 87, Bloco 17, Piso Superior, Cidade Universitária, São Paulo, SP 05508 270, Brasil. *Autor para correspondência: fcury@usp.br

⁴ Departamento de Medicina Veterinária, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), USP, Av. Duque de Caxias Norte 225, Pirassununga, SP 13635-000, Brasil.

4, sendo líquido a temperatura ambiente, e apresentando propriedades antifúngicas e bactericidas (Veronez et al. 2010). O produto é classificado pela Agência Internacional de Pesquisas em Câncer como cancerígeno (IARC, 1995) precisa ser substituído para preservar a saúde de todos que frequentam os laboratórios, pois além de ser um produto prejudicial ao meio ambiente, possui vários fatores negativos, como: odor desagradável, escurecimento, aumento do peso e rigidez das peças (Krug et al. 2011).

O formaldeído tem sido descrito também como cancerígeno pelo Programa Nacional de Toxicologia dos Estados Unidos (NTP, 2010).

Segundo Viegas et al. (2010), mais de 90% do formaldeído inalado em humanos é absorvido no trato respiratório superior, sendo assim, é possível ainda que o produto químico penetre ainda pela via dérmica, classificando-o como um produto carcinogênico em humanos.

Segundo estudos citados por Carvalho (2009), o formaldeído apresenta efeitos destrutivos em tecidos do corpo humano e também no próprio DNA, sendo assim, o seu uso além de causar lacrimação, irritação das mucosas nasais, queimação da garganta e desestimular o estudo da anatomia, também causa sérios riscos à saúde de quem está próximo ao produto químico.

Atualmente possuímos uma variedade de técnicas abrangente para a preservação de peças anatômicas para estudo (Kimura & Carvalho 2010). Segundo Fox et al. (1985), Greer et al. (1991) e Rodrigues (2010) as técnicas de conservação como o formaldeído e a glicerinação são as mais utilizadas nos laboratórios de anatomia.

O nome glicerina foi dado comercialmente a um produto que diz respeito à substância glicerol, possuindo pureza acima de 95%. O glicerol é um composto orgânico pertencente à função álcool, de forma líquida a temperatura ambiente (25°C), higroscópico, inodoro, viscoso e de sabor adocicado (Silva 2008).

A glicerina tem a capacidade de desidratação celular, atuando como fungicida e bactericida. A técnica de glicerinação proporciona melhor preservação das peças anatômicas com diversas vantagens como: a leveza que as mesmas adquirem no processo de conservação, a morfologia é preservada o mais próximo da forma original e a coloração, facilitando a identificação de várias estruturas de difícil visu-

alização. Além disso, a glicerina é uma substância inodora, não irrita as mucosas, não é carcinogênica e não possui um risco de contaminação ambiental tão elevado em comparação ao formol (An et al. 2012, Krug et al. 2011).

Como desvantagem esta técnica mostra um custo consideravelmente elevado, dados mostram um custo de no mínimo R\$ 0,52 o litro de formol, enquanto a glicerina mostra no mínimo um valor de R\$ 5,36 o litro, sendo esse o principal fator de ainda não ter sido padronizada em todas as universidades e laboratórios de anatomia (Krug et al. 2011).

A glicerina semipurificada pode ser uma alternativa para os elevados custos de aquisição da glicerina pura, sendo ela proveniente da produção de biodiesel, visto que é um produto prejudicial ao meio ambiente quando descartado de forma incorreta (Carvalho et al. 2013).

Segundo Cury (2013), o uso do formaldeído pode ou não ser completamente descartado, já que as técnicas de glicerinação podem ser executadas tanto em peças frescas quanto em peças já formalizadas a 10% para serem dissecadas antes do procedimento.

O objetivo deste trabalho é apresentar diferentes formas de conservação de peças anatômicas, afim de substituir o formaldeído, facilitando o aprendizado e não causando danos à saúde de alunos e funcionários que frequentam os laboratórios.

REVISÃO

Apresentaremos uma revisão mostrando alguns protocolos de glicerinação que são utilizados atualmente substituindo a rotina de formaldeído (Quadro 1).

Protocolo 1

Uma das técnicas de glicerinação utilizadas é a de Torres (2004), cujo autor utilizou órgãos pré-fixados em formol (10%) mantendo-os por 30 dias em uma solução contendo uma mistura de 50% de glicerina e 50% de peróxido de hidrogênio (5%). É recomendada uma manutenção de seis em seis meses, retornando as peças em uma nova solução de glicerina com peróxido de hidrogênio nas mesmas concentrações da primeira solução mantendo-as imersas por sete dias antes de utiliza-las novamente.

Protocolo 2

Dias et al. (2008) apresenta outra técnica, onde afirma que a glicerina (50%) associada ao cloreto de sódio (30%), mostra

Quadro 1. Protocolos apresentados

Autor/ano	Solução fixadora	Manutenção	Pontos (+, -)
Torres (2004)	50% glicerina + 50% peróxido de hidrogênio (5%)	Sim	Peso (-) Muito Claras (-)
Dias et al. (2008)	Glicerina (50%) + Cloreto de sódio (30%)	Não	Peso (-) Muito Claras (-)
Gigek et al. (2009)	Glicerina + Álcool Etilico na proporção de 1:2	Não	Clareza (+) leveza (+) odor (+) reparo (-)
Silva et al. (2009)	Glicerina P.A.	Não	Escuras (-)
Hammer et al. (2012)	Etanol + Glicerina ocupando 5% do volume	Não	Não secas (-)
Carvalho et al. (2013)	Glicerina Semipurificada (80,5%) + Álcool Etilico (100%) na proporção de 1:2	Não	Clareza (+) leve (+) inodoro (+) frequência de reparo (-)
Cury (2013)	Glicerina P.A.	Não	Maleáveis (+) cor (+) resistência (+) secas (+) inodoros (+) leveza (+) tempo de reparo (-)

maior eficiência na conservação das peças anatômicas, não deixando ocorrer ações de bactérias ou fungos nas mesmas. Ressalta ainda que mesmo sem qualquer concentração de glicerina o cloreto de sódio continua mostrando eficiência na conservação das peças e que qualquer concentração de glicerina mesmo a 50% não mostra eficiência se não estiver associada ao cloreto.

Protocolo 3

Gigek et al. (2009) utilizou uma técnica de glicerinação baseada principalmente em três etapas: desidratação, clareamento e fixação secagem. Na primeira etapa as peças foram mergulhadas em uma solução com álcool etílico 70% durante o período de uma semana. Na fase de clareamento as peças anatômicas foram mergulhadas em água oxigenada 3% durante uma semana. No terceiro e último período as peças foram colocadas em uma solução de glicerina e álcool etílico respeitando sempre a solução de 1:2 respectivamente. A técnica resultou em clareza das peças, resultando em uma melhor identificação das estruturas anatômicas.

Protocolo 4

Outro protocolo publicado por Silva et al. (2011), mostra uma técnica de glicerinação conhecida como técnica de Giacomini Silva, porém os resultados obtidos não foram muito satisfatórios devido as peças anatômicas ficarem muito escuras, na descrição do protocolo as peças são mantidas em álcool (95%) por cinco dias, depois elas são retiradas e voltam novamente para um novo álcool (95%) por mais cinco dias e logo após deixadas em glicerina P.A até criarem um peso notável, movendo-se pouco no fundo do recipiente, podendo então retirar-las para o escorrimento.

Protocolo 5

Hammer et al. (2012) em seu trabalho com a conservação de corpos humanos, utilizou uma solução constituída por etanol e glicerina, sendo a segunda ocupando 5% do volume. A solução é injetada a uma razão de 0,7L/kg do peso corporal, no caso de corpos obesos a quantidade de etanol é aumentada (1L/kg de peso corporal), e a glicerina passa a corresponder de 2 a 3% da solução. Para pessoas com baixo peso corporal, a dose de glicerina ministrada na solução aumenta para 10% do volume total. A via de administração é a artéria femoral.

Protocolo 6

Carvalho et al. (2013) utilizou em seu protocolo a glicerina semipurificada (80,5%) proveniente da produção do biodiesel em usinas. As peças foram fixadas primeiramente em formaldeído 10% por um período de dois dias, depois foram desidratadas em uma solução de álcool etílico 70% por mais dois dias e por fim foram colocadas em uma solução de 1:2 de glicerina semipurificada e álcool etílico 100% por quinze dias, após esse processo as peças apresentaram-se mais flexíveis, leves e inodoras.

Protocolo 7

Cury (2013) utilizou um protocolo que consta nos seguintes passos: lavagem das peças que eram preservadas no formol a 10% com água, por um período de 48 horas, para uma retirada total do formol presente nas peças e em seguida devem ser levadas para secar a sombra. Posteriormente as peças devem ser submersas em peróxido de hidrogênio a 10% por 48 horas em um recipiente fechado e após esse processo devem novamente ser retiradas, lavadas em água e secas de maneira natural à sombra. Após isso, as peças devem ficar submersas em álcool absoluto (99%) em um recipiente fechado, sendo mensurada semanalmente a concentração do álcool com um alcoômetro até que essa concentração chegue a 65%. Este processo demora no mínimo três meses, podendo demorar até três meses e meio para ser concluído. A permanên-

cia no álcool faz com que as peças fiquem desidratadas quase por completo, processo essencial para o sucesso da técnica. Por fim, as peças devem ficar submersas em glicerina P.A. durante dois meses. A glicerina, por sua vez, tem a função de reidratar as peças que foram alteradas pelo álcool e trazer novamente a cor que foi removida pelo peróxido de hidrogênio, agindo como um reparador dos danos causados pelas substâncias anteriores, após esse período, as peças banhadas em glicerina devem ser retiradas do mesmo local e deixadas em um escorredor por um período mínimo de oito horas, até que todo o excesso de glicerina seja retirado. Após completamente secas, as peças passam a ser armazenadas, em recipientes de plástico, sem a necessidade de ficarem imersas em nenhum tipo de solução.

PERSPECTIVAS

Os resultados da técnica de Torres (2004) mostram as peças altamente claras, devido a permanência de 30 dias em solução contendo peróxido de hidrogênio, diferente dos resultados de Cury (2013), onde as peças passam pelo processo de clareamento em peróxido de hidrogênio (água oxigenada) por apenas 2 dias, e antes da permanência em glicerina P.A passam pela desidratação em álcool absoluto, além das peças não precisarem de manutenção, é mais viável financeiramente, embora leve um tempo maior para ser completada. Porém, nesta técnica as peças não passaram por um processo de desidratação em álcool absoluto, o que as mantém com um peso maior por ainda conter água.

Apesar de apresentar um protocolo diferente, os resultados de Dias et al. (2008) foram os mesmos de Torres (2004).

Os protocolos de Gigek et al. (2009) e Carvalho et al. (2013) mostraram resultados semelhantes aos resultados obtidos por Cury (2013), resultando em um material mais claro, leve, inodoro e de aspecto estético semelhante as peças a fresco, porém devido aos diferentes métodos utilizados, a manutenção de suas peças pode ser mais frequente devido a desidratação em álcool 70% ao invés de álcool absoluto.

Os resultados obtidos por Silva et al. (2011) não foram considerados satisfatórios devido as peças ficarem muito escuras dificultando a visualização das estruturas. Portanto, outras técnicas citadas devem ser adotadas.

O protocolo sugerido por Hammer et al. (2012) apresentaram-se satisfatórios, mantendo a qualidade dos tecidos humanos pós morte.

Segundo Cury (2013), ao passarem pela etapa do peróxido de hidrogênio, as peças mostram-se mais claras e consideravelmente rígidas como à conservação em formol. Após a permanência em álcool absoluto, a leveza e rigidez dos órgãos aumentaram drasticamente, devido à perda de água, demonstrando-se ainda quase tão claras quanto ao passarem pelo peróxido de hidrogênio e bem ressecadas.

Ao fim desta técnica, as peças se mostraram mais maleáveis e de tonalidade menos opaca comparadas a peças conservadas em formol, tornando-as mais próximas de peças originais, Cury (2013) afirma também que nenhum tipo de queda de resistência das peças é observado ao final da técnica, já que as mesmas mantêm-se firmes, secas e de aspecto semelhante a um "emborrachado", facilitando o

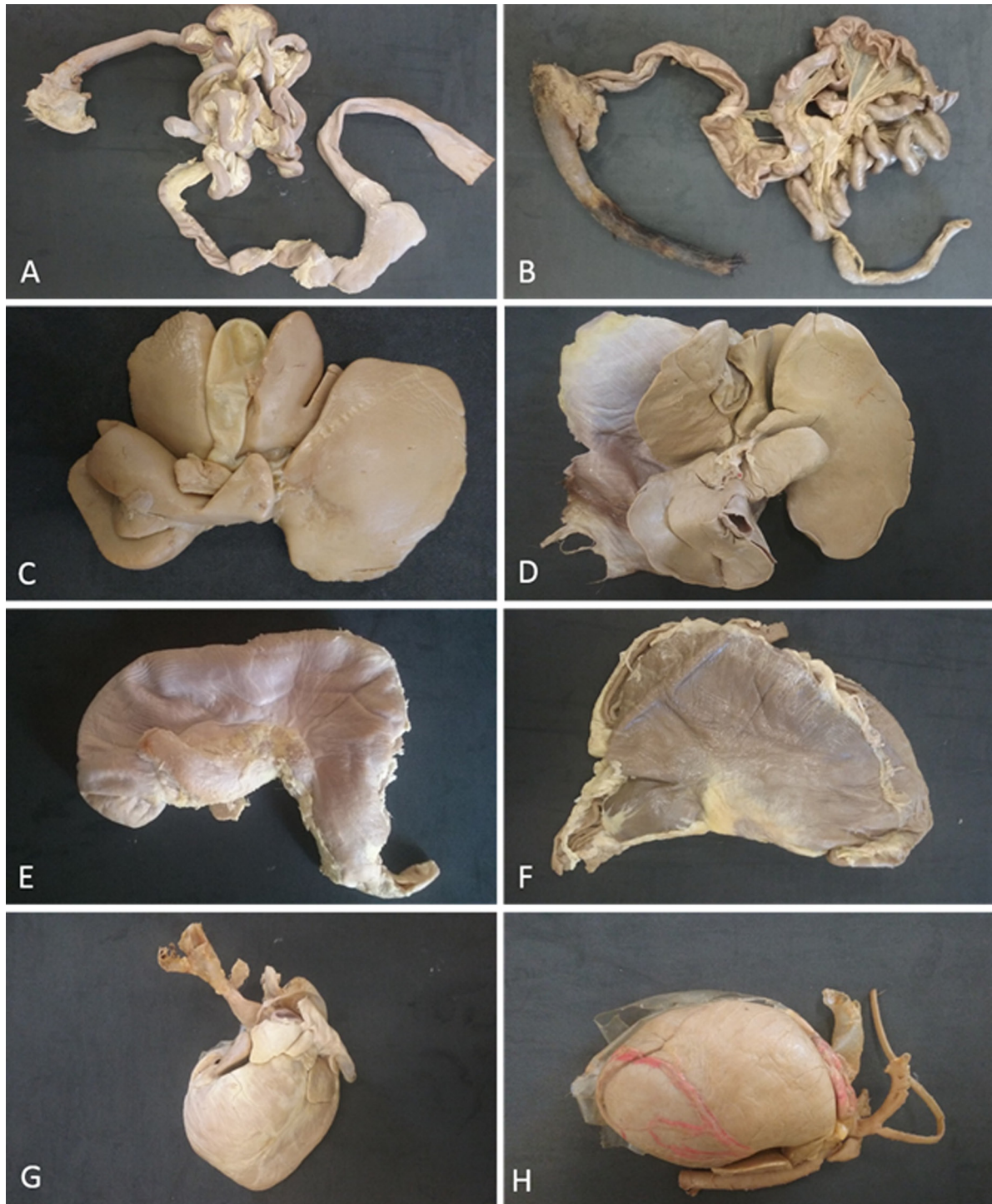


Fig.1. (A) Intestino de cão após passagem por peróxido de hidrogênio a 10%. (B) Intestino de cão após passagem pela glicerina P.A. (C) Fígado de cão após passagem por peróxido de hidrogênio a 10%. (D) Fígado de cão após passagem pela glicerina P.A. (E) Estômago de suíno após passagem por peróxido de hidrogênio a 10%. (F) Estômago de suíno após passagem pela glicerina P.A. (G) Coração de cão após passagem por peróxido de hidrogênio a 10%. (H) Coração de cão após passagem pela glicerina P.A. Todas as figuras passaram pelo protocolo de glicerinação utilizado por Cury (2013).

manuseio durante as aulas, também não demonstram odor forte, mantendo-se sempre inodoros, diferente da conservação por formaldeído e outros conservantes. Outro conveniente deste protocolo é o fato das peças ficarem armazenadas a seco, sem a necessidade de ficarem imersas em qualquer solução.

CONCLUSÕES

A técnica de preparação utilizando glicerina, com base nas descrições e os métodos utilizados em vários contextos, tem beneficiado a duração das peças anatômicas, nas quais se pode observar um efeito de durabilidade prolongada, sendo armazenadas por um longo período (Muñetón Gómez & Ortiz 2013).

Com este breve estudo, pode-se concluir que a glicerinação é uma técnica muito eficiente para a conservação de peças anatômicas, principalmente para fins de estudo em aulas práticas, apresentando uma melhor didática por não apresentar riscos à saúde.

Conclui-se também que por hora a técnica apresentada por Cury (2013), apesar de exigir maior tempo de execução, apresenta uma relação de custo e benefício melhor do que as outras técnicas citadas, pois a durabilidade é maior, assim como raramente há necessidade de manutenção, além das peças permanecerem completamente a seco após o término da técnica.

As fotos apresentadas na Figura 1 são parte do processo de glicerinação realizado por Cury (2013), sendo que todas possuem anos sem manutenção e não apresentaram nenhum efeito irritante ou algo que desestimulasse a sua manipulação.

Nenhum dos problemas causados pelo uso do formaldeído citados anteriormente foram observados com o uso da glicerina.

REFERÊNCIAS

- An X., Yue B., Lee J.H., Lin C. & Han S.H. 2012. Arterial anatomy of the gracilis muscle as determined by latex injection and glycerin transparency. *Clin. Anat.* 25:231-234.
- Carvalho K.S. 2009. Influência do formol utilizado para conservação de cadáveres na obtenção de DNA nuclear em tecido muscular. Dissertação de Mestrado em Odontologia Legal e Deontologia, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade de Campinas, Piracicaba, SP. 66p.
- Carvalho Y.K., Zavarize K.C., Medeiros L.S. & Bombonato P.P. 2013. Avaliação do uso da glicerina proveniente da produção de biodiesel na conservação de peças anatômicas. *Pesq. Vet. Bras.* 33(1):115-118.
- Cury F.S., Censoni J.B. & Ambrósio C.E. 2013. Técnicas anatômicas no ensino da prática de anatomia animal. *Pesq. Vet. Bras.* 33(5):688-696.
- Dias I.C.G., Sant'Ana A.P.F., Saddi L.G.C., Zani F.L. & Oliveira F.S. 2008. Utilização da glicerina, em diferentes concentrações, associadas ou não ao cloreto de sódio, na conservação de tecidos de ovinos. Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, PR, p.1-6. (Resumo). Disponível em <<https://www.researchgate.net/publication/242765163>>
- Fox C.H., Johnson F.B., Whithing J. & Roller P.P. 1985. Formaldehyde fixation. *J. Histochem. Cytochem.* 33:843-853.
- Gigek T., Oliveira J.E.M., Neto A.C.A., Carvalho W.L., Pereira F.V. & Almeida A.H. 2009. Estudo Analítico da Técnica de Glicerinação Empregada para Conservação de Peças Anatômicas de Bovinos. *Anais V Simpósio de Ciências da Unesp, Dracena, SP*, p.1-3. (Resumo). Disponível em <http://www2.dracena.unesp.br/eventos/sicud_2009/anais/veterinaria/043_2009.pdf>
- Greer C.E., Peterson S.L., Kiviat N.B. & Manos M.M. 1991. PCR amplification from paraffin-embedded tissues: Effects of fixative and fixation time. *Am. J. Clin. Pathol.* 95:117-124.
- Hammer N., Löffler S., Feja C., Sandrock M., Schmidt W., Bechmann I. & Steinke H. 2012. Ethanol-glycerin fixation with thymol conservation: A potential alternative to formaldehyde and phenol embalming. *Anat.Sci. Educ.* 5:225-233.
- Iarc 1995. International Agency for Research on Cancer: summaries and evaluations, formaldehyde. Disponível em <<http://www.inchem.org>>
- Kimura A.K.E. & Carvalho W.L. 2010. Estudo da relação custo x benefício no emprego da técnica de glicerinação em comparação com a utilização da conservação por formol. Trabalho de Conclusão de Curso de Extensão em Higiene Ocupacional, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, SP. 30p.
- Krug L., Pappen F., Zimmermann F., Dezen D., Rauber L., Semmelmann C., Roman L.I. & Barreta M.H. 2011. Conservação de Peças Anatômicas com Glicerina Loira. Instituto Federal Catarinense, Concórdia, SC, p.1-6. (Resumo) Disponível em <http://mic.ifc-concordia.edu.br/wp-content/uploads/2011/09/MIC109_Conserva%C3%A7%C3%A3o_de_pe%C3%A7as_anat%C3%B4micas_com_glicerina_loira.pdf>
- Muñeton Gómez C.A. & Ortiz J.A. 2013. Preparación en glicerina: una técnica para la conservación prolongada de cuerpos en anatomía veterinaria. *Rev. Med. Vet.* 26:115-122.
- NTP 2010. Final Report on Carcinogens: Background Document for Formaldehyde. National Toxicology Program, Department of Health and Human Services, Research Triangle Park, NC, USA. 512p.
- Rodrigues H. 2010. Técnicas Anatômicas. 4ª ed. GM Gráfica e Editora, Vitória, ES. 269p.
- Silva E.M., Dias G., Tavares M., Marques T. & Furtado J.M. 2008. Estudo Analítico da Técnica de Glicerinação Empregada Para Conservação de Peças Anatômicas. *UniFOA*, p.66-69.
- Silva N.A., Galvão A.P.O., Fraga K.B., Oliveira R.G., Barbosa R.F., Campina R.C.F., Santos T.R. & Magalhães C.P. 2011. Comparative study between two techniques using a glycerin in the conservation of central nervous system. *J. Morph. Scie.* 28(4):280-282.
- Torres J.R.P. 2004. Conservação de peças anatômicas em glicerina. Portal de Periódicos UEM, Universidade Estadual de Maringá.
- Viegas S., Ladeira C., Nunes C., Malta-Vacas J., Gomes M., Brito M., Mendonça P. & Prista J. 2010. Genotoxic effects in occupational exposure to formaldehyde: a study in anatomy and pathology laboratories and formaldehyde-resins production. *J. Occup. Med. Toxicol.* 5(1):25.
- Veronez D.A.L., Farias E.L.P., Fraga R., Freitas R.S., Petersen M.L. & Silveira J.R.P. 2010. Potencial de risco para a saúde ocupacional de docentes, pesquisadores e técnicos de anatomia expostos ao formaldeído. *Revta Gest. Integr. em Saúde do Trab. e Meio Amb.* 5(2):1-13.