



CONFECÇÕES DE LÂMINAS HISTOLÓGICAS COM A SUBSTITUIÇÃO DO XILOL.

**Henrique S. CUNHA¹; Georgia M. MAGALHÃES²; Paulo E. B. MARTINELL³; Jessica ALENCAR⁴;
Maiara F. F. MARTINS⁵.**

RESUMO

A pesquisa objetivou investigar a substituição do xilol, um solvente orgânico, pelo óleo de girassol na preparação de lâminas histológicas, em razão da alta toxicidade e volatilidade do xilol ao passo que o óleo de girassol foi considerado como uma alternativa mais segura e sustentável. A partir da substituição esperava-se um ambiente de trabalho mais seguro, redução do impacto ambiental e diminuição do custo em manejo de resíduo, já que após uso o óleo de girassol seria transformado em sabão. Na metodologia aplicada foram utilizadas amostras de mastocitomas caninos fixados em formol, preparando 40 lâminas na quais foram divididas em quatro grupos em que o processamento seria em xilol ou óleo de girassol e a coloração com Hematoxilina e Eosina ou azul de toluidina. Após análise cega pelos patologistas, as lâminas processadas com xilol foram as que mostraram melhor qualidade na observação de estruturas celulares, detalhamento e qualidade de coloração. Apesar do óleo de girassol ter sido descartado como uma possibilidade de substituição, a busca por alternativas seguras e sustentáveis ao uso de xilol devem continuar.

Palavras Chave:

Câncer; Caninos; Histopatologia; xileno

1. INTRODUÇÃO

Dentre as neoplasias cutâneas nos animais domésticos o mastocitoma é uma das mais frequentes do cão, com incidência de até 21% dos tumores cutâneos caninos e acometem esses animais com idade média de 8 a 9 anos. Assim como em todas as neoplasias, o mastocitoma só pode ser diagnosticado por meio de exames histopatológicos, mesmo porque suas características macroscópicas são muito variadas como pápulas, nódulos, placas, massas, tumefações e cistos. O diagnóstico precoce favorece o prognóstico do tumor pois há mais chances de tratamentos. O tratamento também é bem sucedido com uma ampla margem cirúrgica que também pode ser averiguada na histopatologia com a embebição em tinta Nankin. (VAIL, 1996).

O método diagnóstico mais utilizado para saber se realmente é uma neoplasia e se esta é benigna ou maligna, é o exame histopatológico. Nessa técnica utilizam-se produtos que tornam as estruturas celulares passíveis de visualização e assim a interpretação morfológica confere o diagnóstico da lesão (MOYA-SALAZAR e ROJAS-ZUMARAN, 2018). O composto mais utilizado

¹ Bolsista, discente, Medicina Veterinária, IFSULDEMINAS campus Muzambinho email: Henriquecunha53@gmail.com

² Orientadora, docente, Medicina veterinária, IFSULDEMINAS campus Muzambinho email: Georgia.magalhaes@muz.ifsuldeminas.edu.br

³ Voluntário, Médico Veterinário patologista colaborador, IFSULDEMINAS campus Muzambinho email: pebmartinelli@gmail.com

⁴ Voluntário, discente, IFSULDEMINAS campus Muzambinho email: jessica-jessica.alencar@alunos.ifsuldeminas.edu.br

⁵ Voluntário, programa de aprimoramento em Medicina Veterinária IFSULDEMINAS campus Muzambinho email: maiara-franca@hotmail.com

para este fim é o xileno ou xilol, um líquido incolor e insolúvel em água, o qual é tóxico e cancerígeno para o trabalhador e pode causar danos ao meio ambiente (COSTA et al. 2007).

No organismo humano o sistema nervoso central é acometido em função da lipossolubilidade do xileno na membrana neuronal, perturbando a ação de proteínas essenciais para a função neuronal normal (KANDYAL et al., 2010). O contato prolongado também afeta o fígado, os rins, o olfato, sendo que a irritação do nariz ocorre na dose de 200 ppm após 3-5 minutos e respingos no olho podem danificar a superfície da córnea (FAY, et. al. 2007). O xileno também age nas células de defesa causando dano lisossomal e citotoxicidade (SALIMI et. al. 2017).

O dano ao meio ambiente também é uma problemática que tange o uso comercial do xileno e mesmo que seja descartado e gerenciado de acordo com as concentrações consideradas seguras previstas por lei, ele ainda poderá causar danos ambientais, e se o dano for provado, a instituição, pública ou privada, deverá pagar indenizações (MACHADO, 1982).

Swamy et al. (2015) avaliaram em 40 amostras a capacidade de limpeza e a natureza biodegradável de quatro óleos vegetais: cenoura, azeite, pinho e rosa em comparação com xileno. Os critérios para avaliação de resultados foram: propriedades físicas dos óleos, características de tecido avaliado, arquitetura celular e qualidade da coloração. Os resultados mostraram que os quatro óleos possuem potencial de limpeza semelhante ao do xileno, sendo que o óleo de pinho foi superior em suas propriedades físicas e de clareamento. Em um ano, nenhuma diferença significativa na qualidade da coloração ocorreu, conferindo um bom resultado na substituição do xileno por óleos vegetais.

2. METODOLOGIA

O projeto foi submetido e aprovado pelo CEUA, com protocolo número 2689060721. Foram utilizadas 10 amostras de mastocitomas caninos fixadas em formol 10% para confecção de 40 lâminas, sendo que 20 amostras foram processadas em xilol (grupo controle) e 20 em óleo de girassol extra virgem (grupo tratado). As colorações que foram utilizadas para a confecção das lâminas foram Hematoxilina e Eosina e azul de toluidina. O tamanho das amostras, segundo o poder do teste estatístico, foi de 0,8 x 1,6 cm. As amostras foram distribuídas em grupos:

Grupo A: 10 lâminas confeccionadas com xilol e coradas em Hematoxilina e Eosina;

Grupo B: 10 lâminas confeccionadas com xilol e coradas em Azul de toluidina;

Grupo C: 10 lâminas confeccionadas com óleo de girassol e coradas em Hematoxilina e Eosina;

Grupo D: 10 lâminas confeccionadas com óleo de girassol e coradas em Azul de toluidina.

A leitura das lâminas foi realizada por três patologistas e os resultados foram compilados de acordo com as características adaptadas de Sermadi Wajjid et. al 2014, classificando esses critérios em: Bom, regular e ruim, de acordo com os tópicos: Características celulares (Arquitetura celular

contraste celular, condensação de cromatina e membrana nuclear) e Características de coloração (Qualidade de coloração, relação núcleo/citoplasma, brilho e visibilidade de detalhes). O resultado final foi obtido pela média dos resultados, para evitar o viés de concordância interobservador e intra-observador.

Quanto à confecção do sabão, o uso de EPI'S como óculos de proteção e luvas de látex foram usados. Os passos para a confecção foram: Misturar de 3 litros óleo vegetal com 2 litros de água morna num balde plástico; Adição de 500 gramas de soda cáustica com posterior homogeneização; Adição de ½ litro álcool com posterior homogeneização; Adição de essência misturando todos os ingredientes por dez minutos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A média dos resultados das leituras de lâminas processadas em óleo de girassol estão representadas no quadro 2. Não houve nitidez e nem detalhamento nas lâminas processadas em óleo de girassol tanto nas colorações de azul de Toluidina (Figura 1) quanto na coloração de Hematoxilina e Eosina (Figura 2). Já as lâminas processadas no xilol obtiveram uma melhor qualidade na visualização de mastócitos (Figura 3) e na detecção de detalhes como núcleo e citoplasma (Figura 4). Nosso estudo corrobora com esses autores que relatam que o xileno possui alto fator de solvência, fornecendo excelentes resultados pois permite o máximo de retirada de álcool dos tecidos, tornando-os translúcidos para uma eficiente infiltração pela parafina (DA ROCHA CAZARI et al., 2013), assim as lâminas mantêm a arquitetura celular e qualidade tecidual. Embora sabe-se que, o xileno é altamente tóxico para quem trabalha com estes compostos, sendo a exposição ocupacional a principal forma de altos níveis de exposição e em 75% dos casos, os trabalhadores apresentam problemas de saúde (COSTA et al. 2007), neste estudo não foi possível a eliminação deste composto tóxico.

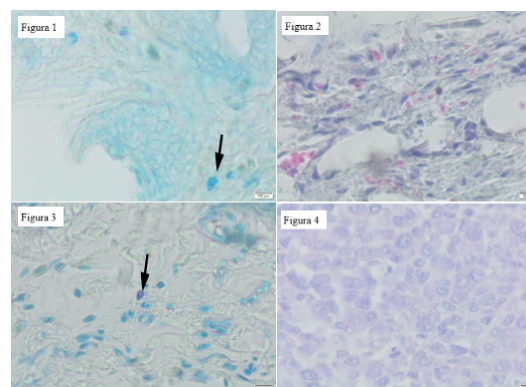


Figura 1: Fotomicrografia de mastocitoma processado em óleo de girassol e corado em Azul de Toluidina. Notar que não houve nitidez das células e pouca visualização dos mastócitos (seta). Aumento de 400x. Figura 2: Fotomicrografia de mastocitoma processado em óleo de girassol e corado em Hematoxilina e Eosina. Notar pouco contraste nas células. Aumento de 400x. Figura 3: Fotomicrografia de mastocitoma processado em xilol e corado em Azul de Toluidina. Notar melhor nitidez dos mastócitos (seta). Aumento de 400x. Figura 4: Fotomicrografia de mastocitoma processado em xilol e corado em Hematoxilina e Eosina. Notar melhor visualização de detalhes como núcleo e citoplasma. Aumento de 400x.

Quadro 2 - Resultados da média das observações em relação às lâminas processadas

Características celulares	Óleo de girassol	Xilol	Características de coloração	Óleo de girassol	Xilol
Arquitetura celular	Ruim	Bom	Qualidade da coloração	Regular	Bom
Contraste celular	Ruim	Regular	Relação Núcleo/Citoplasma	Ruim	Regular
Condensação de cromatina	Ruim	Bom	Brilho	Ruim	Bom
Membrana nuclear	Regular	Regular	Visibilidade de detalhes	Ruim	Ruim

4. CONCLUSÕES

A comparação dos processamentos demonstrou uma qualidade muito superior nas lâminas processadas em xilol. Apesar de ser usado para produção de sabão, as lâminas preparadas em óleo não possuíam durabilidade e se mantiveram ruins por 3 meses. Acredita-se que novos óleos devam ser testados a fim de encontrar uma opção que possua boa qualidade e reduza a agressão ambiental.

5. REFERÊNCIAS

- COSTA, Karina N. S.; PINHEIRO, Irapuan O.; CALAZANS, Glícia T.; NASCIMENTO, Márcia. Avaliação dos riscos associados ao uso do xilol em laboratórios de anatomia patológica e citologia. **Revista brasileira de saúde ocupacional**, v. 32, n.116, 2007
- DA ROCHA CAZARI, Vânia; PEREIRA, Talita; ROMERA, Antônio; BRANDÃO, Marilda; FILHO, Carlos; FAVARETO, Ana Paula. Redução do uso do xilol na técnica de coloração hematoxilina e eosina. In: **Colloquium Vitae**. p. 135-148, 2013
- FAY, Mike; RISHER, John; WILSON, Jewell. **Toxicological profile for xylene**. 2007.
- KANDYALA, Reena; RAGHAVENDRA, Sumant; RAJASEKHARAN, Saraswath. Xylene: An overview of its health hazards and preventive measures. **Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP**, v. 14, n. 1, p. 1, 2010.
- SALIMI, Ahmad; TALATAPPE, Behnaz; POURAHMAD, Jalal. Xylene induces oxidative stress and mitochondria damage in isolated human lymphocytes. **Toxicological research**, v. 33, n. 3, p. 233-238, 2017.
- SERMADI, Wajid; PRABHU Sudeendra; ACHARYA Swetha; JAVALI, Sb. Comparing the efficacy of coconut oil and xylene as a clearing agent in the histopathology laboratory. **Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP**, v. 18, n. Suppl 1, p. S49, 2014.
- SWAMY, Sugunakar; NANDAN, Surapaneni; KULKARNI, Pavan; RAO, Thokala; PALAKURTHY. Bio-friendly alternatives for xylene—Carrot oil, olive oil, pine oil, rose oil. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 9, n. 11, p. ZC16, 2015.
- MACHADO, Paulo. **Direito ambiental brasileiro**. Malheiros Editores, 1982.
- MOYA-SALAZAR, Jeel J.; ROJAS-ZUMARAN. Environmental Performance of Xylene, Hydrochloric Acid and Ammonia Solution During Pap Stain for Diagnosing Cervical Cancer. **Journal of Health and Pollution**, v. 6, n.11, p.58–65, 2016.
- VAIL, D.M. Mast cell tumors. In: WITHROW, S.J.; MACEWEN, E.G. (Eds.). **Small animal clinical oncology**. 2.ed. Philadelphia: WB Saunders, 1996. 589p. Cap.16, p.192-210.