

ISSN: 2319-0124

PREPARAÇÕES DE LÂMINAS HISTOLÓGICAS COM DESCALCIFICADORES ÁCIDOS, QUÍMICOS E QUELANTES EM OSSOS DE ANIMAIS DOMÉSTICOS, UM ESTUDO COMPARATIVO E DESCRITIVO.

Letícia M. SILVA¹; Isadora V. B. SOUZA²; Poliana F. CARDOSO³; Geórgia M. MAGALHÃES⁴.

RESUMO

O tecido ósseo é um tecido conjuntivo especializado, caracterizado pela dureza proporcionada pela mineralização da matriz extracelular e por isso, é necessária uma descalcificação prévia antes do processamento histopatológico. Os ácidos podem provocar efeitos indesejáveis nas amostras devido à sua afinidade tintorial, e à fraca basofilia nuclear, podendo comprometer resultados e diagnósticos. O trabalho teve como objetivo avaliar quais métodos de descalcificação óssea são mais rápidos nas diferentes espécies animais. Para isso, utilizou-se 12 fragmentos ósseos de costelas de cada espécie animal (ovina, suína e canina), os quais possuíam medida aproximada de 3mm de comprimento. Os fragmentos ósseos foram descongelados e colocados em recipientes com formol 10% por 24 horas. Após esse período os fragmentos foram passados para os descalcificadores: ácido tricloroacético, EDTA e ácido nítrico. O tempo final de descalcificação medido por uma introdução de agulha no fragmento ósseo foi de 36 horas, concluindo que são descalcificadores eficientes caso haja pressa na análise histológica do tecido.

Palavras-chave: Descalcificar; Histologia; Osteologia.

1. INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é um tecido conjuntivo especializado, caracterizado pela dureza proporcionada pela mineralização da matriz extracelular. A rigidez deste tecido é fundamentada para gerar proteção e sustentação ao organismo, sendo esta a principal característica atribuída ao mesmo (BEU et al. 2017).

Os ácidos podem provocar efeitos indesejáveis nas amostras devido à sua afinidade tintorial, e à fraca basofilia nuclear, podendo comprometer resultados e diagnósticos. Quanto maior for o tempo do processo de descalcificação e mais ácida for a substância, maiores serão as chances de um resultado comprometido (ANÁGUA, 2013).

¹ Bolsista PIBIC/CNPq, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: leticiamariasivla88@gmail.com

² Bolsista PIBIC/CNPq, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: villasboas.isa@gmail.com

³ Técnica laboratorista, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: Polyanaa.cardoso@muz.ifsuldeminas.edu.br

⁴ Professora Orientadora, IFSULDEMINAS - Campus Muzambinho. E-mail: Georgia.magalhaes@muz.ifsuldeminas.edu.br

Devido a matriz do tecido ósseo ser mineralizada, o corte de material ósseo para análise histopatológica se torna difícil em micrômetros comuns. Por esta questão, algumas técnicas especializadas são utilizadas para o estudo deste tecido. Uma técnica utilizada neste tecido, é a obtenção da matriz óssea, podendo fazer uma análise minuciosa na mesma. Obtendo fatias do tecido, preparadas através do desgaste (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

O objetivo deste estudo foi comparar duas soluções ácidas e uma quelante em diferentes tempos para padronizar um protocolo que viabilize a rapidez nas leituras de lâminas histológicas nas diferentes espécies animais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo possui aprovação no Comitê de Ética em Animais (CEUA) com o protocolo CEUA nº 4310170921. A fim de atingir os objetivos propostos pela pesquisa, utilizou-se 12 fragmentos ósseos de costelas, os quais possuíam medida aproximada de 3mm de comprimento, de cada espécie animal (suína, caprina e canina). Os fragmentos foram obtidos com a realização de necropsias no curso de Medicina Veterinária. Separados os fragmentos ósseos de cada espécie, foram dispostos em recipientes com formol 10% por 24 horas com a finalidade de fixação. Passadas as 24 horas mencionadas, iniciou-se a etapa seguinte, de forma que foram avaliados três descalcificadores para cada espécie: ácido tricloroacético e ácido nítrico como descalcificadores ácidos e EDTA como descalcificador quelante. Após o tempo estabelecido, os fragmentos foram retirados dos descalcificadores, utilizando-se uma agulha para verificar se o tecido ósseo alcançou a consistência amolecida objetivada.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

De acordo com o projeto inicial a atuação de cada um destes descalcificadores teria que passar por verificação segundo o decorrer do tempo: 12, 24, 36 e 48 horas após a imersão dos fragmentos nos recipientes com as substâncias, no entanto foi possível concluir pela descalcificação antes do período final estipulado - tal conclusão deu-se porque, ao verificar os fragmentos passadas 36 horas, observou-se que o nível buscado estava próximo, portanto a checagem passou a ocorrer em intervalos mais curtos. O processo de descalcificação teve início no dia 9 de agosto de 2022 às 18:00, sendo a avaliação encerrada no dia 11 de agosto de 2022 às 12:00, totalizando 36 horas.

Os resultados obtidos foram das espécies animais: cão, ovino e suíno. Todos foram submetidos aos mesmos descalcificadores, pelo mesmo tempo. Sendo observados em um tempo médio de 12 horas em 12 horas até o amolecimento ósseo.

Ossos cão, ovino e suíno: tiveram o início da descalcificação no dia 9 de agosto às 18:00 horas, sendo colocados em média 3 fragmentos de ossos por frasco com cerca de 100 ml.

O tempo final foi de 36 horas para todas as espécies animais estudadas, já CARVALHO et al. (2008) relatou um tempo de 135 dias para descalcificar uma mandíbula humana com EDTA. Já FERNANDES et al. (2007) não encontrou diferenças entre soluções descalcificantes e relata a importância de fixação óssea por mais de 48 horas. Em contrapartida (CAPUTO; GITIRANA; MANSO, 2017), diz que o tempo de descalcificação, depende do tipo do descalcificador, tamanho das peças a serem descalcificadas. Dorigan Neto (2012), mostra que após a fixação os ossos são colocados em solução descalcificadora, onde permanecem durante o período das 7 horas até 16 horas, onde são retirados da solução, lavados por cinco minutos em água corrente e, então, são submetidas a processamento histológico.

5. CONCLUSÕES

Podemos concluir, até o momento, que todos os descalcificadores são eficientes para uma rápida descalcificação do tecido, sendo assim levam a menores danos no mesmo. Como adendo, não houve diferenças consideráveis em relação à espécie à qual pertence cada fragmento ósseo.

REFERÊNCIAS

ANÁGUA, Marli. Estudo preliminar- Descalcificação de tecido ósseo de origem animal em microondas. Revista Lusófona de Ciência e Medicina Veterinária, Lisboa, v. 1, n. 6, p. 30-33, jun. 2013

BEU, C.C.L.; GUEDES, N.I.K.O; DE QUADROS, Â.A.G. Tecido conjuntivo, 2017. Disponível em: . Acesso em: 03 de mar. 2017. Disponível em: https://projetos.unioeste.br/projetos/microscopio/index.php?option=com_phocagallery&view=category&id=39&Itemid=119

CAPUTO, Luzia Fatima Gonçalves; GITIRANA, Lycia de Brito; MANSO, Pedro Paulo de Abreu. Técnicas Histológicas: conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde. São Paulo:., 2017. 100p.

DORIGAN NETO, Abel. **Caderno de referência 3**: técnicas de histopatologia. técnicas de Histopatologia. 2012. Disponível em: https://bvsm.sau.de.gov.br/bvs/publicacoes/tecnico_citopatologia_caderno_referencia_3.pdf. Acesso em: 22 ago. 2022.

FERNANDES, M. et al. Avaliação microscópica qualitativa do tempo de fixação e dos meios de descalcificação do periodonto de ratos. Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, jun. de 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1806-83242007000200007>. Acesso em: 22 ago.

2022.

JUNQUEIRA, Luiz J.C; CARNEIRO, José. Histologia básica. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 535 p..