

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

Franciane Pereira Brant

**POTENCIAL DO CLORETO DE SÓDIO PURO E COMERCIAL NA
CONSERVAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DE PEÇAS
ANATÔMICAS E NO CONTROLE MICROBIOLÓGICO**

**Diamantina
2023**

Franciane Pereira Brant

**POTENCIAL DO CLORETO DE SÓDIO PURO E COMERCIAL NA
CONSERVAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DE PEÇAS
ANATÔMICAS E NO CONTROLE MICROBIOLÓGICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, área de concentração em Prevenção e Terapia das Doenças, como requisito para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Roberta Barbizan Petinari
Coorientadora: Prof. Dra. Cleide Aparecida Bomfeti

**Diamantina
2023**

Catálogo na fonte - Sisbi/UFVJM

B821 Brant, Franciane Pereira
2023 Potencial do Cloreto de Sódio Puro e Comercial na
 Conservação Morfológica e Morfométrica de Peças Anatômicas e
 no Controle Microbiológico [manuscrito] / Franciane Pereira
 Brant. -- Diamantina, 2023.
 90 p. : il.

Orientador: Prof. Roberta Barbizan Petinari.
Coorientador: Prof. Cleide Aparecida Bomfeti.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) --
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri,
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Diamantina,
2023.

1. Solução supersaturada de NaCl. 2. Fungos. 3. Bactérias.
4. Morfologia. 5. Morfometria. I. Petinari, Roberta Barbizan
. II. Bomfeti, Cleide Aparecida . III. Universidade Federal
dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. IV. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFVJM com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Este produto é resultado do trabalho conjunto entre o bibliotecário Rodrigo Martins Cruz/CRB6-
2886
e a equipe do setor Portal/Diretoria de Comunicação Social da UFVJM


FRANCIANE PEREIRA BRANT

**POTENCIAL DO CLORETO DE SÓDIO PURO E COMERCIAL NA CONSERVAÇÃO
MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DE PEÇAS ANATÔMICAS
E NO CONTROLE MICROBIOLÓGICO**


Dissertação apresentada ao Mestrado em Ciências da Saúde, nível de Mestrado como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof.^a Dra.^a Roberta Barbizan Petinari
Coorientadora: Prof.^a Dra.^a Cleide Aparecida Bomfeti


Data da aprovação: 17/02/2023

Documento assinado digitalmente
 ROBERTA BARBIZAN PETINARI
Data: 22/03/2023 14:18:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof.^a Dr.^a ROBERTA BARBIZAN PETINARI - UFVJM

Documento assinado digitalmente
 CLEIDE APARECIDA BOMFETI
Data: 21/03/2023 13:00:07-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a CLEIDE APARECIDA BOMFETI - UFVJM

Documento assinado digitalmente
 CAIO CESAR DE SOUZA ALVES
Data: 20/03/2023 10:21:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.Dr. CAIO CESAR DE SOUZA ALVES - UFVJM

Documento assinado digitalmente
 ERNANI ALOYSIO AMARAL
Data: 16/03/2023 11:09:23-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.Dr. ERNANI ALOYSIO AMARAL - UFVJM

Diamantina

Aos meus pais pelo amor, toda gratidão.
Às minhas irmãs e irmão pelo apoio e carinho incondicionais,
Aos meus sobrinhos por serem minha manifestação de amor.
Aos amigos pelo apoio e compreensão.

AGRADECIMENTOS

A Deus e à Nossa Senhora por sempre se fazerem presentes nesta minha jornada aqui na terra.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, à coordenação, aos docentes por todo aprendizado, em especial ao Dr. Marco Fabrício Dias Peixoto, por todo empenho nas negociações e liberação dos ratos de descarte para serem reutilizados nesta pesquisa.

Aos colegas discentes do programa, em especial à Ramona Ramalho de Souza Pereira, pela ajuda na etapa inicial do experimento, higiene, marcação e identificação dos ratos.

Ao Diretor do Curso de Medicina da UFMG, Humberto José Alves, e ao Técnico de Anatomia e Necropsia, José Eustáquio Pereira Barboza, pelo empréstimo das peças anatômicas humanas.

À Faculdade de Medicina do Mucuri (FAMMUC), na pessoa do Diretor Prof. Dr. João Victor Leite Dias e ao Vice-diretor, Prof. Dr. Patrick Wander Endlich por todo suporte oferecido e condições necessárias para a realização da pesquisa. João, obrigada pelas contribuições na estatística;

Ao Prof. Dr. Ernani Aloysio Amaral, que tenho como exemplo de profissional, obrigada por todas as contribuições.

Aos colegas de trabalho da FAMMUC, em especial, Layde Sierau, Tiago Barbosa, Tássio Almeida pelas contribuições no trabalho;

À colega de trabalho, amiga e companheira de apto, Dauriene, tenho aprendido muito com você, obrigada por tudo, Dauris!

Aos meus queridos amigos e colegas de trabalho, que hoje estão no Campus Diamantina/UFVJM, Fabrício de Oliveira, pela grande ajuda na etapa inicial do experimento, você foi imprescindível amigo; à Maysa Farias pelas contribuições ao ler o projeto, ainda quando era um esboço.

Ao Técnico Fidelis por cuidar dos ratos e ajudar na etapa de eutanásia;

À orientadora, Dra. Roberta Barbizan Petinari por toda autonomia concedida, pela confiança, muito obrigada pela parceria;

À coorientadora, Dra. Cleide Aparecida Bomfeti, primeiramente pela amizade que construímos, pelo apoio, pelas conversas, pela atenção. Foi muito especial, enriquecedor e gratificante trabalhar e conviver com uma pessoa tão maravilhosa como você, obrigada por tudo!

À Grazielle Marinho de Oliveira, por toda parceria na execução das análises microbiológicas, por toda dedicação, responsabilidade, comprometimento, cuidado e zelo pelo trabalho. Uma amizade e admiração que levo para a vida!

À banca examinadora por ter aceitado o convite e pelas contribuições neste estudo.

A todos que contribuíram de forma direta e indireta para a realização deste trabalho!

“A graça da morte, seu desastrado encanto, é por causa da vida”.

(Adélia Prado, 2013)

RESUMO

Introdução: A solução aquosa de formol 10% é utilizada como método de fixação e de preservação de peças anatômicas, possui baixo custo e alta velocidade de penetração tecidual, porém é muito tóxica, prejudicando a saúde dos manipuladores, além do prejuízo ao meio ambiente ao ser descartada. **Objetivo:** Comparar o potencial do NaCl puro (P.A.) e comercial utilizados no preparo da solução salina 30% na conservação de peças anatômicas. **Metodologia:** Utilizaram-se 72 carcaças de ratos Wistar previamente higienizadas e submetidas a análises morfológicas macroscópicas (coloração dérmica, rigidez articular e muscular, presença de manchas, odor de putrefação e sinais de autólise tecidual) e morfométricas (massa corporal, comprimentos nasoanal e nasocaudal) antes da fixação. Em seguida, os animais foram fixados e submersos em formol 10% por 7 dias, lavados em água corrente por 24 horas e distribuídos nos respectivos grupos por um período de 120 dias. Formaram-se três grupos: Salina P.A. 30% (SP), Salina Comercial 30% (SC) e Formol 10% (Fo) com dois tratamentos cada (animais expostos sobre a bancada por 1 hora a cada 30 dias durante 120 dias: T1 e animais não expostos até o final do experimento por 120 dias: T2). As soluções conservantes passaram por análises organolépticas (coloração, alteração de viscosidade e odor de putrefação) e microbiológicas no intervalo de 0, 40, 80 e 120 dias com posterior identificação dos microrganismos. Para a análise estatística intragrupo utilizou o teste de Wilcoxon e intergrupos a ANOVA-type. **Resultados:** Ambos os grupos salínicos (P.A. 30% e Comercial 30%) apresentaram mais manchas, coloração dérmica mais escurecida e uma intensidade de rigidez articular e muscular menores do que os grupos do formol, independente dos animais serem expostos ou não. Nenhum grupo apresentou peças com odor de putrefação, já os grupos salínicos apresentaram algumas peças com sinais de autólise tecidual, sendo SPT1 com 41,67%, SPT2 com 8,33% e SCT2 com 41,67%. Quanto à morfometria, as carcaças dos ratos Wistar tenderam a ficar mais pesadas e com encurtamento no comprimento nasoanal e nasocaudal em todos os grupos. Com relação às soluções houve variação na coloração entre os grupos salínicos, de translúcida a amarelo claro a marrom. As soluções dos grupos do formol mantiveram a coloração próxima ao translúcido. Nenhuma solução apresentou odor de putrefação ou alteração da viscosidade. Quanto às análises microbiológicas, foram encontrados 7 fungos e 11 bactérias. Após 120 dias restaram 3 morfotipos de fungos (F1: *Cladosporium cladosporioides*; F6: *Penicillium brevicompactum* e F8: não identificado) e 2 bactérias (B1: *Bacillus megaterium* e B8: *Bacillus subtilis*). Os morfotipos que se mantiveram em cada grupo após os 120 dias foram

em SPT1: F1, F6 e B8; em SPT2: F1, F6 e F8; em SCT1: F1; em SCT2: F1 e B1; em FoT1 e FoT2: F1. **Conclusão:** No geral, os grupos salínicos apresentaram resultados satisfatórios, apesar de variações tanto na conservação das peças, quanto na eliminação de microrganismos. Os grupos da salina comercial 30% apresentaram resultados morfológicos discretamente melhores do que a salina P.A. 30%. Ao que tudo indica, a qualidade de preservação parece depender mais da qualidade e do tempo de fixação em formalina do que com o tipo de NaCl utilizado no preparo da solução.

Palavras-Chave: Solução supersaturada de NaCl. Fungos. Bactérias. Morfologia.
Morfometria

ABSTRACT

Introduction: The 10% formaldehyde aqueous solution is used as a method of fixation and preservation of anatomical parts, has low cost and high speed of tissue penetration, but is very toxic, damaging the health of handlers, besides the damage to the environment when discarded.

Objective: Compare the potential of pure (P.A.) and commercial NaCl used in the preparation of the 30% saline solution in the preservation of anatomical specimens. **Methodology:** 72 carcasses of Wistar rats were used, previously cleaned and submitted to morphological macroscopic (dermal coloration, joint and muscle stiffness, presence of stains, putrefaction odor and signs of tissue autolysis) and morphometric (body mass, nasoanal and nasocaudal lengths) analyses before fixation. Then the animals were fixed and submerged in 10% formalin for 7 days, washed in running water for 24 hours and distributed in their respective groups for a period of 120 days. Three groups were formed: Saline P.A. 30% (SP), Commercial Saline 30% (SC) and Formol 10% (Fo) with two treatments each (animals exposed on the bench for 1 hour every 30 days for 120 days: T1 and animals not exposed until the end of the experiment for 120 days: T2). The preservative solutions underwent organoleptic (color, change in viscosity, and putrefaction odor) and microbiological analyses at 0, 40, 80, and 120 days with subsequent identification of microorganisms. Wilcoxon's test was used for intragroup statistical analysis and intergroup ANOVA-type test was used. **Results:** Both saline groups (P.A. 30% and Commercial 30%) showed more spots, darker dermal coloration and a lower intensity of joint and muscle stiffness than the formalin groups, regardless of whether the animals were exposed or not. No group presented parts with an odor of putrefaction, whereas the saline groups presented some parts with signs of tissue autolysis, being SPT1 with 41.67%, SPT2 with 8.33%, and SCT2 with 41.67%. As for morphometry, the carcasses of the Wistar rats tended to be heavier and with shortening in the nasoanal and nasocaudal lengths in all groups. Regarding the solutions, there was a variation in coloration among the saline groups, from translucent to light yellow to brown. The solutions of the formaldehyde groups maintained a coloration close to translucent. No solution presented an odor of putrefaction or alteration in viscosity. As for the microbiological analyses, 7 fungi and 11 bacteria were found. After 120 days, 3 fungal morphotypes remained (F1: *Cladosporium cladosporioides*; F6: *Penicillium brevicompactum* and F8: unidentified) and 2 bacteria (B1: *Bacillus megaterium* and B8: *Bacillus subtilis*). The morphotypes that remained in each group after 120 days were in SPT1: F1, F6 and B8; in SPT2: F1, F6 and F8; in SCT1: F1; in SCT2: F1 and B1; in FoT1 and FoT2: F1. **Conclusion:** Overall,

the saline groups showed satisfactory results, despite variations in both the preservation of the pieces and the elimination of microorganisms. The 30% commercial saline groups showed slightly better morphological results than the 30% P.A. saline. It seems that the preservation quality seems to depend more on the quality and time of fixation in formalin than on the type of NaCl used to prepare the solution.

Keywords: Supersaturated NaCl solution. Fungi. Bacteria. Morphology. Morphometry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Linha de tempo do desenho experimental.....	35
Figura 2 –	Fluxograma com todas as etapas.....	36
Figura 3 –	Etapa de eutanásia, higienização e formação dos grupos.....	38
Figura 4 –	Identificação dos animais em cada grupo.....	40
Figura 5 –	Realização das medidas morfométricas dos ratos Wistar.....	41
Figura 6 –	Fixação manual de formol 10% em ratos Wistar.....	42
Figura 7 –	Preparo das soluções conservantes.....	43
Figura 8 –	Exposição do tratamento 1 de cada grupo.....	44
Figura 9 –	Etapas das análises microbiológicas.....	46
Figura 10 –	Coleta das amostras, incubação das placas e classificação dos microrganismos.....	47
Figura 11 –	Repicagem das amostras de bactérias e fungos para obtenção de linhagens puras e posterior identificação das espécies.....	48
Figura 12 –	Conservação dos ratos Wistar após 120 dias.....	56
Figura 13 –	Soluções conservantes antes e após os 120 dias.....	63
Gráfico 1 –	Massa corporal em função dos tempos 1 e 2	52
Gráfico 2 –	Comprimento nasoanal em função dos tempos 1 e 2.....	53
Gráfico 3 –	Comprimento nasocaudal em função dos tempos 1 e 2.....	54
Quadro 1 –	Lista de espécies fúngicas e as concentrações encontradas no Laboratório de Anatomia.....	25
Quadro 2 –	Composição de soluções salinas e processos de embalsamamento na literatura.....	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Especificação dos grupos, quantidade de animais por solução (ou recipiente) e por grupo.....	39
Tabela 2 –	Resultados do teste de Wilcoxon para amostras pareadas.....	50
Tabela 3 –	Percentil da avaliação morfológica inicial e final (após os 120 dias).....	57
Tabela 4 –	Resumo da comparação morfológica das peças após os 120 dias de conservação.....	58
Tabela 5 –	Morfotipos bacterianos e fúngicos encontrados no intervalo de tempo de 0, 40, 80 e 120 dias em cada grupo.....	59
Tabela 6 –	Quantidade de UFC de bactérias e fungos e a frequência de aparecimento em 0, 40, 80 e 120 dias em cada grupo.....	61
Tabela 7 –	Identificação da espécie do morfotipo isolado e a virulência.....	62
Tabela 8 –	Propriedades organolépticas das soluções após 120 dias.....	64
Tabela 9 –	Preços dos produtos químicos referentes a dezembro de 2022.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA - type	Análise de Variância – type
ASSC	Solução Aquosa de Cloreto de Sódio
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CIPq	Biotério do Centro Integrado de Pesquisa
CNA	Comprimento Nasoanal
CNC	Comprimento Nasocaudal
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
EPI	Equipamento de Proteção Individual
FAMMUC	Faculdade de Medicina do Mucuri
Fo	Formol 10%
FT1	Formol 10% + Animais Expostos
FoT2	Formol 10% + Animais Não- Expostos
LEB	Laboratório de Estudos Biológicos
NaCl	Cloreto de Sódio
M1	Massa corporal inicial
M2	Massa corporal final
PCA	Plate Count Agar
s/p	Sem Presença
SC	Salina Comercial 30%
SCAS	Solução Aquosa de Cloreto de Sódio
SCT1	Salina Comercial 30% + Animais Expostos
SCT2	Salina Comercial 30% + Animais Não-Expostos
SNC	Sistemas Nervoso Central
SP	Salina P.A. 30%
SPT1	Salina P.A 30% + Animais Expostos
SPT2	Salina P.A 30% + Animais Não- Expostos
SSS	Solução Salina Saturada
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UFVJM	Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

LISTA DE SÍMBOLOS

H₂O	Água
Cm	Centímetros
g	Gramma
g/L	Gramma por Litro
GL	Graus Gay-Lussac
°C	Graus Celsius
L	Litro
µg	Micrograma
mg/m³	Miligrama por Metro Cúbico
mL	Mililitro
%	Porcentagem
Kg	Quilo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 REFERENCIAL TEÓRICO	21
2.1 O formol na conservação de peças anatômicas, implicações na saúde humana e do meio ambiente.....	21
2.2 Fixação de peças anatômicas.....	22
2.3 Aspectos gerais dos fungos e das bactérias.....	23
2.4 Contaminação microbiológica em peças anatômicas formolizadas	24
2.5 O uso do cloreto de sódio na conservação de peças anatômicas.....	26
3 OBJETIVOS	33
3.1 Objetivo geral.....	33
3.2 Objetivos específicos.....	33
4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	34
4.1 Delineamento do estudo.....	34
4.1.1 Local de realização da pesquisa	36
4.2 Amostras.....	36
4.3 Critérios de inclusão da amostra.....	37
4.4 Critérios de exclusão da amostra.....	37
4.5 Aspectos éticos.....	37
4.6 Descrição dos procedimentos.....	37
4.6.1 Eutanásia e higienização	37
4.6.2 Identificação dos animais e composição dos grupos.....	38
4.6.3 Análises morfométrica e morfológica macroscópica das carcaças de ratos Wistar...	40
4.6.4 Etapa de fixação em formol 10%.....	41
4.6.5 Preparo das soluções e a etapa de conservação dos animais.....	42
4.6.6 Análise das propriedades organolépticas das soluções conservantes.....	44
4.6.7 Análises microbiológicas.....	44
4.6.7.1 Coleta das amostras.....	44
4.6.7.2 Classificação dos morfotipos bacterianos e fúngicos encontrados nas soluções.....	45

4.7 Análise estatística.....	48
5 RESULTADOS.....	50
5.1 Análises morfométricas intragrupo das peças anatômicas.....	50
5.2 Análises morfométricas intergrupos das peças anatômicas.....	52
5.3 Descrição das análises morfológicas intra e intergrupos das peças anatômicas.....	54
5.4 Análises microbiológicas das soluções conservantes.....	58
5.5 Propriedades organolépticas das soluções.....	62
6 DISCUSSÃO.....	65
6.1 Conservação das peças anatômicas.....	65
6.2 Microrganismos encontrados nas soluções conservantes.....	67
6.3 Aspectos das soluções conservantes após 120 dias.....	73
6.4 Custo da salina P.A. 30% versus a salina comercial 30%.....	73
6.5 Limitações do trabalho.....	74
7 CONCLUSÕES.....	75
REFERÊNCIAS	76
ANEXO A.....	86
ANEXO B.....	88

1 INTRODUÇÃO

A solução de formol a 10% é utilizada como método de fixação e de preservação de peças anatômicas, impedindo a proliferação de microrganismos e a degradação dos tecidos. Porém, é uma solução muito tóxica e de alto potencial carcinogênico, prejudicando a saúde de manipuladores, como técnicos de laboratório, docentes e discentes, além do prejuízo ao meio ambiente ao ser descartado no sistema de esgoto (HAYASHI *et al.*, 2014; FERREIRA *et al.*, 2017; SCHEEPERS, 2018; SILVA, 2018). No estudo de Silva (2010), sobre biossegurança no descarte do formol em laboratórios de anatomia, constatou-se que, mesmo sabendo a forma correta de descarte desse material, que, no caso, é o armazenamento em recipientes seguros e posterior incineração, mais de 85% dos entrevistados disseram descartá-lo em pia comum, o que é extremamente tóxico e nocivo à vida aquática.

O manuseio habitual e prolongado do formaldeído causa efeitos deletérios à saúde, como problemas pulmonares, irritação de mucosas, dermatites alérgicas, além do alto potencial carcinógeno, mutagênico e teratogênico (VERONEZ *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2016).

Conforme Silva (2018), uma alternativa para a substituição do formol como conservante seria a utilização da solução salina 30%, método de conservação muito comum em laboratórios de anatomia animal nos cursos de veterinária em aulas práticas de dissecação, estudo da anatomia e de treinamentos cirúrgicos. Oliveira (2014) relata que a solução de cloreto de sódio a 30% consegue manter o meio isento de microrganismos e conservar as peças com qualidade.

A substituição da formalina por solução salina ainda é pouco utilizada nos laboratórios de anatomia humana, provavelmente pela escassez de publicações quanto à qualidade morfológica e segurança microbiológica dos espécimes e dos riscos aos profissionais que os manipulam. Assim, este trabalho propõe verificar se o NaCl comercial (sal de cozinha comum) apresentaria a mesma efetividade que o NaCl puro (P.A.) na conservação de peças cadavéricas, dado o baixo custo financeiro e a facilidade de aquisição, o que tornaria ainda mais economicamente acessível o custo de manutenção nos laboratórios de anatomia. O estudo busca responder se o tipo de sal utilizado interfere na conservação das peças, se há comprometimento morfológico das estruturas anatômicas, qual o tempo necessário de troca da solução, se há viabilidade de aplicá-la em peças humanas e se é possível garantir a biossegurança da equipe que manipula esse material durante as atividades acadêmicas de pesquisa, ensino e extensão que envolvam a anatomia humana.

A hipótese do trabalho é de que o tipo de NaCl utilizado para o preparo da solução salina 30% interfere no controle biológico de microrganismos, na conservação e qualidade morfológica e morfométrica das peças.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O formol na conservação de peças anatômicas, implicações na saúde humana e no meio ambiente

A solução de formalina a 10% é uma das mais utilizadas para a fixação de tecidos e de cadáveres desde 1893, sem muitas modificações até hoje (BRENNER, 2014). O formol é utilizado no processo de fixação dos cadáveres, por impedir a autólise celular e preservar estruturas teciduais e morfológicas (PANZACCHI *et al.*, 2019). A fixação por formol estabiliza as proteínas pela desnaturação da estrutura secundária, terciária ou quaternária, formando ligações covalentes ou ligações cruzadas entre as moléculas dos fixadores e as proteínas, paralisando o processo de destruição celular (THAVARAJAH *et al.*, 2012).

Os cadáveres embalsamados com formol a 10% ainda são amplamente utilizados na educação médica. Isso porque a formolização é uma técnica simples e de baixo custo que possibilita a penetração da substância nos tecidos de modo a preservá-los, além de inibir a proliferação da maioria dos microrganismos decompositores e patogênicos. As peças imersas, porém, tendem a escurecer, a apresentar maior massa, devido ao encharcamento, e podem tornar-se friáveis, com perda de consistência e de flexibilidade. Embora, a fixação garanta um uso duradouro, há outras desvantagens como o cheiro irritante das mucosas, descoloração tecidual e rigidez (GUO *et al.*, 2012; KUMAR *et al.*, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2014; BRENNER, 2014; BILGE; CELIK, 2017).

O formaldeído é uma substância volátil que causa irritação nos olhos, membranas mucosas, ressecamento e dor de garganta, sensação de formigamento no nariz, distúrbios menstruais e problemas na gravidez. É um composto relacionado a vários tipos de câncer como o nasal, pulmonar e possíveis associações com o cerebral e a leucemia (RAHARYANINGSIH; AZIZAH, 2017; LEAL, 2018; KANG *et al.*, 2021).

É um composto largamente conhecido no meio científico por apresentar elevado potencial carcinogênico, mutagênico e teratogênico devido a exposição ao longo do tempo (OLIVEIRA *et al.*, 2004; PEREIRA, 2007; HAYASHI *et al.*, 2014; BONO *et al.*, 2016; CHENG *et al.*, 2016). Segundo Ferreira *et al.* (2017), esses aspectos têm levado às universidades em todo o mundo a buscar alternativas para substituí-lo.

A exposição a essa substância pelos profissionais de laboratório de anatomia precisa ser avaliada com mais afinco pelos órgãos competentes de saúde ocupacional (IARC, 2012).

Pois, apesar de ser um excelente fixador, desinfetante e antisséptico, apresenta riscos para a saúde pública e ao meio ambiente (GUO *et al.*, 2012; BRENNER, 2014). É também considerado um importante poluente ambiental e seus resíduos apresentam baixa biodegradabilidade. O descarte inadequado pode causar sérios distúrbios para o tratamento biológico de águas residuais, além de causar danos à vida aquática (OLIVEIRA *et al.*, 2004; PEREIRA, 2007).

Desde 2016, o Comitê Europeu de Substâncias Perigosas estabeleceu um novo limite de exposição ocupacional ao formaldeído, de 0,37 mg/m³, classificado como carcinógeno humano 1B. Além da necessidade de diminuir a exposição, há também a necessidade de adaptações técnicas, como a modificação de protocolos de fixação e preservação dos cadáveres. Aliado a isso, é preciso realizar mudanças estruturais que vão desde a instalação de exaustores de ar, a um sistema de ventilação adequado nos laboratórios de anatomia (WASCHKE *et al.*, 2019).

Waschke *et al.* (2019) recomendaram aos Institutos de Anatomia da Alemanha a redução da concentração de formaldeído no processo de perfusão intra-arterial de corpos humanos, doados para dissecação, para até 4% com um volume total de 150 mL/Kg de massa corporal, como suficientes para o embalsamamento. E nos tanques de imersão, uma concentração de formol de 2%.

O uso indiscriminado do formol deve ser evitado, devendo ser empregado apenas como veículo fixante, deixando o papel de conservação e manutenção para outras substâncias (PEREIRA, 2014).

2.2 Fixação de peças anatômicas

Boas práticas de fixação e conservação são necessárias para impedir a decomposição do material e a proliferação de microrganismos, sobretudo, os patógenos (RODRIGUES, 2010; NETO; COLOMBO, 2015). As soluções à base de formol garantem a desinfecção, interrompem a autólise, estabilizam o tecido por alterações moleculares, além de evitarem a putrefação e a contaminação (BALTA *et al.*, 2015).

O formaldeído como fixador é utilizado, normalmente, sozinho ou com outros aditivos, como fenol, glicerina e metanol. As soluções com adição desses compostos têm a finalidade de reduzir ao máximo a quantidade de formol utilizada e corrigir deficiências relacionadas à baixa atividade antifúngica e a rigidez de tecidos e articulações (RODRIGUES,

2010; SRI-INDRASUTDHI; UEAPATTANAKIT; SOMMATAS, 2015).

Além da glicerina, o álcool etílico e o fenol, há a plastinação que, assim como os demais, auxilia na preservação tecidual para fins de estudo anatômico (SANTOS *et al.*, 2017), impedindo a colonização por fungos ou por qualquer outro microrganismo (RODRIGUES, 2010). O problema dessa técnica, quando comparada ao formol, está no alto custo, o que inviabiliza financeiramente a troca por substâncias menos tóxicas e agressivas à saúde humana e ao meio ambiente (KIMURA; CARVALHO, 2010).

Um acentuado enrijecimento tecidual é observado em fixadores à base de formaldeído. Em peitos de frango fixados por 45 dias nesta solução, os mesmos enrijeceram cerca de sete vezes mais (GUASTALLI *et al.*, 2007). A fixação por álcool etílico também leva ao aumento da rigidez tecidual, cerca de cinco vezes mais, durante os primeiros seis meses, e três vezes mais rígidos após um ano de imersão (NUNES *et al.*, 2011).

A utilização de álcool etílico no processo de fixação associado ao uso de salina 30% na conservação de cadáveres de cães, mostrou-se eficaz. Ocorreu baixa contagem de microrganismos dos gêneros *Bacillus*, *E. coli* e *Pseudomonas*. Não houve contaminação visual aparente nos tanques de conservação, além da ausência de odor desagradável ou de putrefação (PEREIRA *et al.*, 2019).

A falta de informações que classifique, liste e compare diferentes técnicas de embalsamamento é um problema, pois não há padrões experimentais reconhecidos internacionalmente. O que há é um esforço por parte dos anatomistas em estabelecer técnicas de preservação próximas ao *in vivo*, que preserve por um longo período e reduza os riscos à saúde dos manipuladores. São vários e diferentes métodos que podem ser utilizados na preservação anatômica, esta dependerá da finalidade a que se deseja (BALTA *et al.*, 2015).

2.3 Aspectos gerais dos fungos e das bactérias

Os fungos estão presentes em toda parte e nos mais variados ambientes devido à presença de esporos que são facilmente dispersos pelo ar (SOUZA, 2012). Os saprófitas desempenham um importante papel na decomposição primária de substratos nos diversos ecossistemas (NAZIM *et al.*, 2012). Alguns deles são parasitas em humanos e animais (SAMSON *et al.*, 2004).

Os fungos pertencem ao Reino Fungi e estão organizados em cinco filos, Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota e Zygomycota (MADIGAN *et*

al., 2016). Eles são eucariontes, heterotróficos, grande parte aeróbicos e uma minoria anaeróbicos estritos e facultativos. Eles são aclorofilados, uni ou multicelulares, reproduzem sexuada e ou assexuadamente. Possuem uma parede celular rígida, devido à presença de celulose, glicanas, mananas ou quitina. E a principal forma de reserva é o glicogênio (VIEIRA; QUEIROZ, 2012).

Já as bactérias pertencem ao Domínio Bacteria, são procariontes, presentes em todos os tipos de ambientes, desde o solo, o ar, a água doce ou salgada, ou em associações harmônicas ou desarmônicas com outros seres vivos. Podem ser heterotróficas (a maioria) ou autotróficas (químico ou fotossintetizantes) e, quanto a utilização do oxigênio, podem ser aeróbicas, anaeróbicas, anaeróbicas facultativas e microaerófilas (TORTORA; FUNKE; CASE, 2016).

2.4 Contaminação microbiológica em peças anatômicas formolizadas

A conservação em formalina é um método que impede a proliferação de bactérias, fungos e degradação tecidual (HAYASHI, 2014), embora não seja raro encontrar fungos e mais raramente bactérias nessa solução (NETO; COLOMBO, 2015; SILVA, 2017).

Os principais fatores que levam à contaminação fúngica no Laboratório de Anatomia são a umidade do ambiente, a concentração de esporos no ar e o tempo de inoculação. A presença desses microrganismos em cadáveres humanos e a exposição habitual ao formol potencializam, a longo prazo, os riscos à saúde humana (SRI-INDRASUTDHI; UEAPATTANAKIT; SOMMATAS, 2015).

Em laboratórios de anatomia, a contaminação por fungos nas peças anatômicas pode levar ao desenvolvimento de quadros alérgicos em decorrência da exposição a esporos suspensos no ar (NETO; COLOMBO, 2015). A intensa e prolongada exposição a esporos de determinados fungos pode alterar e desregular o sistema imunológico, respiratório e comprometer o sistema nervoso central (SNC) (JOHANNING *et al.*, 1996).

Os fungos transportados pelo ar estão ligados a infecções do sistema respiratório. Por exemplo, a rinossinusite crônica polipoide pode ser causada por *Bipolaris spicifera* (BUZINA *et al.*, 2003), enquanto que o *Aspergillus fumigatus* está associado a sintomas respiratórios em pacientes com asma (FAIRS *et al.*, 2013).

Kalanjati *et al.* (2012) sugerem que a concentração de formalina para prevenir o crescimento de fungos não deva ser inferior a 4% (5 a 7,5%).

No estudo de Przybysz e Scolin (2009), sobre o poder fungicida do formol, foram identificados os gêneros *Scopulariopsis*, *Exserohilum*, *Stemphium* e fungos saprófitos em tanques de cadáveres imersos em formalina. Não foi observada a presença de espécies patogênicas.

Já Neto e Colombo (2015) isolaram os fungos *Aspergillus* spp., *Aureobasidium* spp., *Cladosporium* spp. e *Penicillium* spp. em peças anatômicas conservadas em formol que podem comprometer o sistema respiratório.

No estudo de Sri-Indrasutdhi, Ueapattanakit e Sommatas (2015), investigando a contaminação fúngica em cadáveres humanos por fungos aéreos, observaram a presença de 17 espécies. Dentre as mais comuns estavam as de *Penicillium* (*Penicillium calidicanium*, *P. oxalicum*, *P. verruculosum* e *Penicillium* sp.), *Aspergillus* (*Aspergillus japonicus*, *A. niger*), *Trichoderma atroviride* e *Cladosporium colocasiae*, sendo essas duas últimas em maior abundância. A tabela abaixo mostra todos os microrganismos presentes nos cadáveres conservados em formol da referida pesquisa, alguns deles não foram possíveis a identificação.

Quadro 1 – Lista de espécies fúngicas e as concentrações encontradas no Laboratório de Anatomia

Código do Isolado	Nome científico	Concentração (CFU/m ³)
ASP00740	<i>Alternaria solani</i>	$7,8 \times 10^5$
ASP00754	<i>Aspergillus japonicus</i>	$5,3 \times 10^6$
ASP00766	<i>Aspergillus niger</i>	$6,3 \times 10^6$
ASP00586	<i>Cladosporium colocasiae</i>	$9,1 \times 10^6$
ASP00735	<i>Diaporthe</i> sp.	$5,7 \times 10^4$
ASP00745	<i>Hyphodermella corrugata</i>	$5,6 \times 10^3$
ASP00761	<i>Hypocrea lixii</i>	$5,2 \times 10^4$
ASP00744	<i>Penicillium calidicanium</i>	$8,8 \times 10^4$
ASP00749	<i>Penicillium oxalicum</i>	$4,5 \times 10^5$
ASP00743	<i>Penicillium</i> sp.	$3,8 \times 10^5$
ASP00768	<i>Penicillium verruculosum</i>	$5,0 \times 10^4$
ASP00741	<i>Peniophora</i> sp.	$8,6 \times 10^3$
ASP00584	<i>Phlebiopsis gigantea</i>	$6,4 \times 10^5$
ASP00772	<i>Pseudocercospora pallida</i>	$7,6 \times 10^4$
ASP00748	<i>Trichoderma atroviride</i>	$9,4 \times 10^6$
ASP00736	Não identificado	$1,42 \times 10^5$
ASP00737	Não identificado	$2,63 \times 10^5$

Fonte: SRI-INDRASUTDHI; UEAPATTANAKIT; SOMMATAS (2015).

No estudo de Silva (2017), os fungos filamentosos isolados de cadáveres do Laboratório de Anatomia do Centro de Formação de Professores da Universidade Federal de Campina Grande, foram dos gêneros *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Stemphylium* e a levedura *Candida albicans*.

2.5 O uso do cloreto de sódio na conservação de peças anatômicas

O sal de cozinha é utilizado como conservante alimentar desde a antiguidade devido às características desidratantes que levam à eliminação de água do interior das células por processos osmóticos. Tal propriedade, confere-lhe qualidades antissépticas, inviabilizando o crescimento de microrganismos e, por consequência, evitando a deterioração tecidual. Além de não apresentar toxicidade (SANTOS, 2016).

O alto teor desse sal retido nos tecidos impede uma dessecação significativa, promove uma excelente preservação dos cadáveres, com mínima distorção estrutural dos tecidos, da flexibilidade, além de manter a cor natural. Além disso, o sal comum é prontamente disponível e economicamente acessível (COLEMAN; KOGAN, 1998).

A solução de NaCl 30% seria uma alternativa para a redução do uso de formalina. É pouco volátil, apresenta baixo custo e tem sido considerada efetiva na conservação de peças anatômicas, não sendo observadas alterações nas características do material preservado e nem contaminação significativa por microrganismos (OLIVEIRA, 2014; LIMA, 2017). O cloreto de sódio é uma substância química natural, presente na água do mar, na proporção de 35 g de NaCl por L de água (DÍAZ *et al.*, 2000). Ademais, é de fácil eliminação, atóxica, de baixo custo e de fácil aquisição (HAYASHI *et al.*, 2014; LOMBARDERO *et al.*, 2017; GUARANÁ *et al.*, 2021).

O uso de solução salina 30% na manutenção de peças cadavéricas em laboratórios de anatomia ainda é incipiente, entretanto, os estudos têm indicado a técnica como satisfatória quanto à qualidade, custo e salubridade na conservação de espécimes anatômicos de ruminantes, carnívoros, equinos, suínos e aves previamente fixados em formol (OLIVEIRA, 2014). A solução salina mostrou-se eficaz na preservação tecidual, além de ser atóxica e não inflamável, sendo um produto de baixo custo, o que possibilita o uso como conservante em laboratórios de anatomia (SILVA, 2018).

Conforme experimento de Brun *et al.* (2002) o pericárdio canino foi utilizado com

sucesso como membrana biológica para reparo de músculos retos abdominais em ratos Wistar após ter sido mantido por 90 dias em solução aquosa supersaturada de NaCl a 1,5 g/mL. O meio de armazenamento não apresentou contaminação por bactérias e fungos e manteve as características estruturais do tecido. Em outro estudo de Brun *et al.* (2004), a solução salina apresentou resultados semelhantes à glicerina a 98% na conservação de centro frênico canino, com características antissépticas.

A solução salina a 30% mostrou-se capaz de substituir o formol por vários critérios como apresentar baixo custo financeiro, facilidade de aquisição de substrato, não possuir componentes tóxicos aos manipuladores, apresentar um descarte seguro e sem poluição ao meio ambiente (OLIVEIRA, 2014). Por esses motivos, torna-se uma alternativa tangível na conservação de cadáveres. No estudo de Hayashi *et al.* (2014), foi relatado o uso da solução salina como um conservante eficiente em embalsamentos de cadáveres para treinamentos de habilidades cirúrgicas, além de apresentar ações bactericida e fungicida, conferindo segurança química e biológica aos médicos cirurgiões, eliminando o risco de contágio com microrganismos patogênicos durante esses procedimentos, porém são necessários mais estudos quanto ao uso (ou sobre o uso) prolongado dessa solução com finalidade de conservação.

Segundo Silva (2018), a substituição do formol por solução salina melhoraria as condições de trabalho de toda a equipe, tornaria o laboratório de anatomia salubre e sem prejuízos ao meio ambiente ao efetuar o descarte na rede de esgoto. De acordo Rocha (2016), o tempo de fixação da peça para a conservação e eliminação de microrganismos parece estar relacionada à finalidade de uso do material, seja para práticas de técnicas cirúrgicas e ou atividade de ensino. Neste caso, o fixador utilizado foi o álcool etílico e o agente conservante, a solução salina 30%. A conservação foi mais efetiva até o período de 30 dias. E a flexibilidade tecidual manteve-se próxima ao *in natura*.

E por fim, Guaraná *et al.* (2021) realizaram um levantamento de estudos sobre a conservação anatômica utilizando a solução salina como agente conservante, conforme mostrado no Quadro 2.

Quadro 2 – Composição das soluções salinas, processos de embalsamamento, armazenamento e resultados na literatura

Estudos	Composição da solução	Modelo/processo de embalsamamento	Armazenar	Resultados
Oliveira, 2014.	Diferentes concentrações de formaldeído (0,612%–10%), com solução de cloreto de sódio a 30% (cloreto de sódio e água).	Cão. Não descrito.	Os cadáveres foram armazenados em tanques com a solução.	Observou-se por 5 anos e não houve contaminação visual ou deterioração em nenhum espécime. Também não foi observado odor de putrefação, nem alterações na cor ou maciez.
Hayashi <i>et al.</i> , 2014.	Cloreto de sódio 20 kg (saturado)/Álcool isopropílico: 4,0 L/Formaldeído (20%): 1 L/Glicerina: 0,5 L/Fenol: 0,2 L/Água: 19,3 L.	Humano. Infusão do fluido de embalsamamento via artéria femoral canulada ou artéria carótida comum conectada a uma bomba Porti boy durante um dia inteiro.	Os cadáveres foram colocados em um saco plástico selado e armazenados à temperatura ambiente.	A salina apresentou efeito antibiótico suficiente para a manipulação dos cadáveres em práticas de habilidades cirúrgicas. Tecidos com alta qualidade e articulações flexíveis, possibilitaram a realização de 21 tipos de procedimentos.
Lombardero <i>et al.</i> , 2017.	Cloreto de sódio e água da torneira (ponto de saturação de NaCl de 35,89 g/ 100 ml–1 de água a 20°C).	Cão. Infusão via canulada dos grandes vasos (artéria carótida comum, veia jugular externa, veia femoral), após sangria dos animais, utilizando bomba peristáltica, realizando perfusão de solução de lavagem e perfusão com SSS, lavando o sangue e recirculando o SSS por várias horas.	Os cadáveres foram mantidos em câmara frigorífica ou imersos em banho de SSS.	A perfusão e imersão em solução salina saturada foi um bom método alternativo para a preservação prolongada de espécimes utilizados no ensino prático de anatomia veterinária macroscópica. Manteve a aparência e a consistência semelhantes ao material fresco.

Burns <i>et al.</i> , 2018.	Cloreto de Sódio (saturado): 20 kg/Álcool isopropílico: 4,0 L/Formaldeído (37%): 0,5 L/Glicerol: 0,5 L / Fenol (90%): 0,2 L/Água da torneira: 29,8 L.	Humano. Infusão via artéria femoral canulada no triângulo de Scarpa a um fluxo de aproximadamente 1 L por hora. A maioria dos cadáveres requer injeção pontual de 1–5 L de fluido de embalsamamento adicional.	Os cadáveres foram armazenados em sacos plásticos a 4°C.	A solução salina saturada preservou com sucesso os cadáveres com excelente flexibilidade articular. Foram bem avaliados quanto à rigidez, odor e fidelidade visual e tátil do tecido, sendo adequado para o treinamento de habilidades cirúrgicas, inclusive, superiores aos cadáveres conservados em solução de formaldeído e de álcool-glicol.
Gosomji <i>et al.</i> , 2018.	Grupo A: Solução estoque salina 9,5 L/Álcool isopropílico: 2,5 L/Formaldeído (5%): 0,5 L/Glicerina: 0,5 L / Fenol: 0,2 kg/Grupo B: Solução estoque salina 9 L/Álcool isopropílico: 2,5 L/Formaldeído (10%): 1 L/Glicerina: 0,5 L/Fenol: 0,2 kg.	Cabra. Infusão através da incisão do fluido de embalsamamento na artéria carótida comum usando uma máquina de bomba peristáltica (LongerPump®, BT100-2J) até que o fluido fosse observado saindo das extremidades.	Os cadáveres foram mantidos em geladeira a 4°C.	A solução salina saturada manteve a integridade do tecido sem distorção de cor, forma e textura de músculos. Os grupos salínicos apresentaram melhor amplitude de movimento.

Kathapillai, 2019.	Cloreto de Sódio 4 kg/Formaldeído (20%) 0,25 L/Glicerina 0,25 L/Álcool Isopropílico 1,0 L/Fenol 0,5 L/Água 5,0 L.	Humano. Injeção de solução salina através da artéria femoral no cadáver por 6 h cada.	Não descrito.	O embalsamamento por solução salina foi o mais adequado após o método por solução de Thiel [®] , que é o padrão ouro em termos de conservação para treinamento de práticas cirúrgicas. A salina foi um método aceitável em termos de odor, incisão/sutura, aparência, amplitude de movimentos e manobrabilidade durante o treinamento de habilidades cirúrgicas.
Rocha <i>et al.</i> , 2019.	Solução de cloreto de sódio a 30% (cloreto de sódio e água). Fixação em álcool etílico com glicerol a 5%.	Cão. Fixação em álcool etílico com glicerol a 5% via artéria carótida comum, na vazão de 120 ml/kg. Lavagem do líquido excedente acumulado nas cavidades torácica e abdominal com água por 5 dias consecutivos e colocação em tanques de álcool etílico.	Os cadáveres foram armazenados em tanques de ASSC 30% por 120 dias seguidos do período de fixação.	O cadáver foi utilizado ao longo do semestre letivo (4 meses) para treinamento de diversas técnicas cirúrgicas e proporcionou boa maciez e maleabilidade tecidual, além de reduzir os custos e proporcionar repetibilidade do exercício.

Watanabe <i>et al.</i> , 2019.	Cloreto de sódio 20 kg (saturado)/Álcool isopropílico: 4,0 L/Formaldeído (20%): 1 L/Glicerina: 0,5 L/Fenol: 0,2 L/Água: 19,3 L.	Humano. Infusão do fluido de embalsamamento via artéria femoral canulada ou artéria carótida comum conectada à máquina de embalsamamento Porti-Boy Mark IV durante um dia inteiro.	Os cadáveres foram colocados em um saco plástico selado e armazenados à temperatura ambiente.	O método de solução salina saturada tem um custo relativamente baixo de preparação e armazenamento e quase nenhum odor As texturas da mucosa oral e da pele foram semelhantes às de indivíduos vivos. A estrutura dos tecidos ósseos estava bem preservada e a dureza era realista, sugerindo que esses cadáveres pudessem fornecer um novo modelo para o treinamento de habilidades cirúrgicas orais na extração óssea.
Beger <i>et al.</i> , 2020.	Cloreto de sódio 20 kg (saturado)/Álcool isopropílico: 4,0 L/Formaldeído (20%): 1 L/Glicerina: 0,5 L/Fenol: 0,2 L/Água: 19,3 L.	Rato. Fixação por cateter. Remoção das paredes abdominal e torácica com tesoura cirúrgica. Inserção do cateter no ventrículo esquerdo. Infusão de solução fisiológica e solução fixadora pelo mesmo cateter.	Os cadáveres foram armazenados em tanques SSS por 2 meses em temperatura ambiente.	A cor, aparência, consistência, odor, rigidez dos cadáveres fixados em salina e Thiel são mais adequados para fins de treinamento e desenvolvimento de novos procedimentos cirúrgicos.

Guaraná <i>et al.</i> , 2021.	A solução foi preparada com cloreto de sódio moído (Sal Aliança) e água, utilizando a proporção de 1 kg de sal para cada 2,8 L de água.	Suíno (bexiga urinária e intestino delgado -jejuno). Fixação em álcool etílico 99,8% e conservados em solução hipersaturada de cloreto de sódio a 30%.	As vísceras foram conservadas em recipientes com salina 30% em temperatura ambiente por 7, 14 e 21 dias.	Aparência realista, ausência de odor e características morfológicas viáveis durante a realização das técnicas operatórias. A conservação das vísceras fixados em 99,8% em álcool etílico por 30 dias e mantidos em salina 30% em diferentes períodos demonstrou ser um método viável de preservação para treinamento de habilidades cirúrgicas.
-------------------------------	---	--	--	--

Fonte: GUARANÁ *et al.*, 2021. Adaptado.

Abreviação: ASSC, Solução Aquosa de Cloreto de Sódio; SCAS, Solução Aquosa de Cloreto de Sódio; SSS, solução salina saturada.

Nota*: A solução de Thiel (composta de ácido bórico, etilenoglicol, nitrato de potássio, clorometilfenol, sulfato de sódio e formaldeído) é bastante utilizada para a fixação de cadáveres com a finalidade de treinamento de práticas cirúrgicas (GROSCURTH *et al.*, 2001).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Comparar o potencial do NaCl puro (P.A.) e comercial utilizados no preparo da solução salina 30% na conservação de peças cadavéricas.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar o grau de conservação das carcaças de ratos Wistar em soluções salinas, pura e comercial a 30%, quanto a aspectos morfológicos macroscópicos e morfométricos;
- Avaliar aspectos organolépticos da solução salina após o período de conservação das peças anatômicas;
- Verificar a eficiência das soluções salinas 30% no controle biológico de fungos e bactérias, quando comparadas ao formol 10%;

4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

4.1 Delineamento do estudo

O estudo foi realizado com animais de descarte, carcaças de ratos Wistar, doados pelo Biotério do Centro Integrado de Pesquisa (CIPq) da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM).

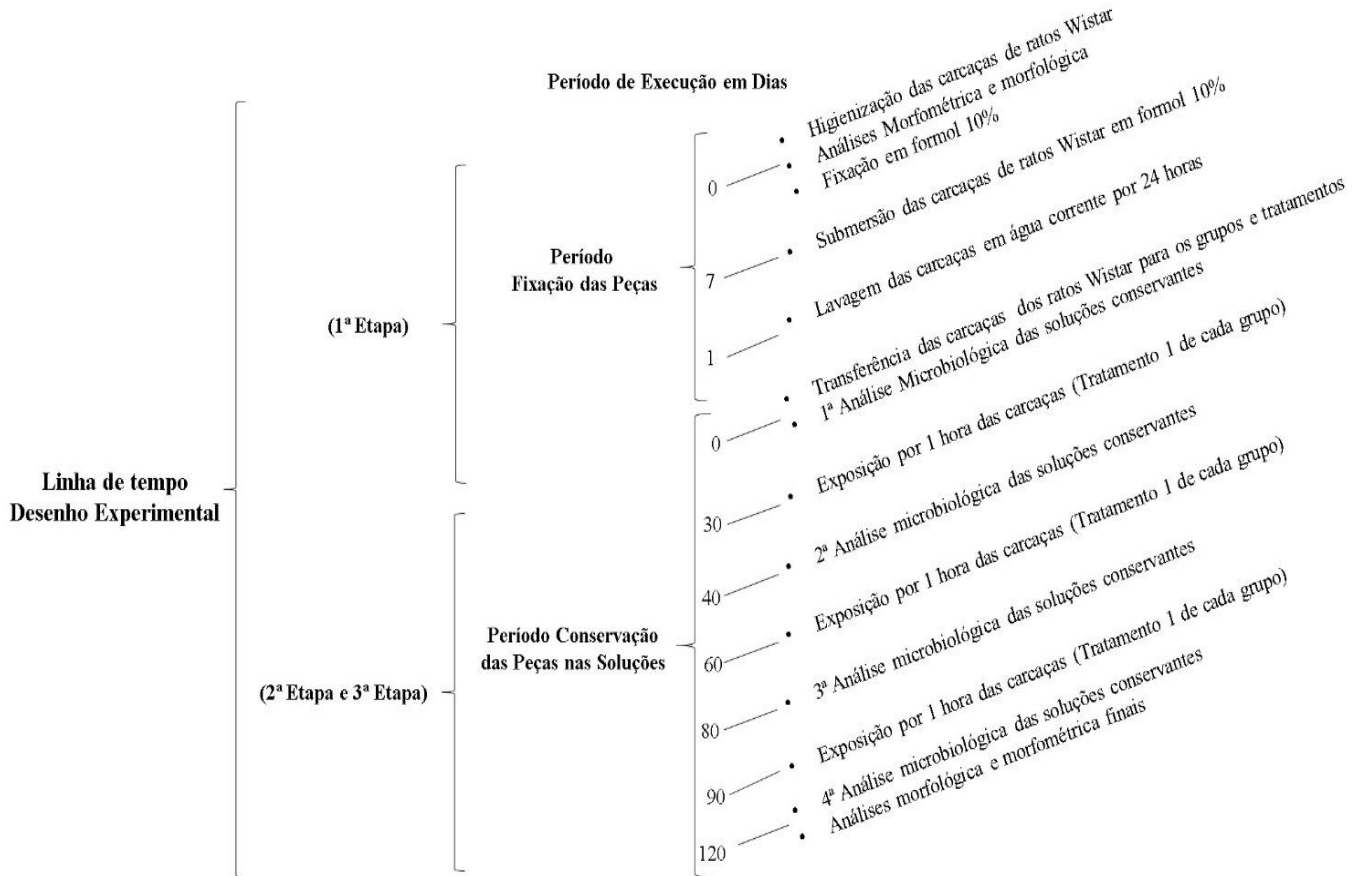
O trabalho foi executado no período de 07 de julho/2021 a 18 de setembro/2022. Os animais foram originários do projeto intitulado **“Efeitos do Treinamento Aeróbio Intervalado de Alta Intensidade sobre a Perda Óssea Alveolar e Inflamação e Parâmetros Cardiometabólicos em Ratos Wistar com Doença Periodontal Induzida por Ligadura”** sob o registro do parecer da CEUA nº 016-2020. A reutilização desses animais foi possível, uma vez que não foram submetidos a nenhum tipo de medicação ou procedimentos invasivos que inviabilizassem o uso nesta pesquisa.

O presente estudo consistiu em três etapas:

Etapa 1: higienização dos ratos Wistar, análises morfológicas macroscópicas e morfométricas iniciais. Todos esses procedimentos foram realizados após a eutanásia dos animais, seguido da fixação em formol 10% e submersão por sete dias nessa solução, conforme a linha de tempo representada na Figura 1.

Etapa 2: preparo das soluções conservantes e distribuição das carcaças dos ratos Wistar nos respectivos grupos de estudo, seguida imediatamente da 1ª análise microbiológica das soluções em 0 dias de conservação, Figura 1.

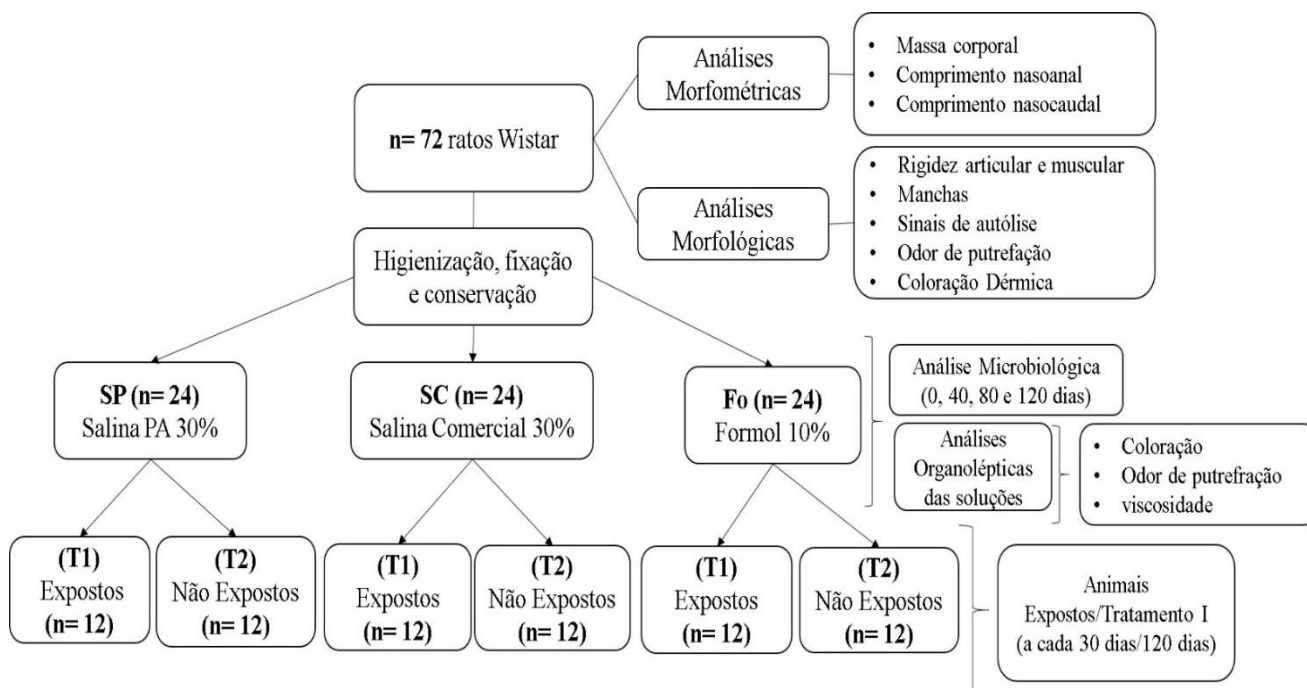
Etapa 3: análises microbiológicas subsequentes (2ª, 3ª e 4ª) foram realizadas em 40, 80 e 120 dias respectivamente, além das análises organolépticas das soluções e análises morfológicas e morfométricas finais dos ratos Wistar após os 120 dias, conforme a Figura 1.

Figura 1 – Linha de tempo do desenho experimental

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

A Figura 2, representa o desenho experimental, com todas as etapas, número de animais, formação dos grupos, as análises morfométricas e morfológicas dos ratos Wistar, microbiológicas e organolépticas das soluções e o tempo de realização de cada uma delas com os respectivos tempos de execução. Todas essas etapas serão melhor detalhadas em tópicos subsequentes.

Figura 2 – Fluxograma com todas as etapas



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

4.1.1 Local de realização da pesquisa

O início da etapa 1 da pesquisa foi realizada no Laboratório de Estudos Biológicos (LEB), Campus Diamantina/UFVJM. No dia seguinte, as carcaças dos ratos Wistar foram transferidas para o Campus Mucuri/UFVJM, Teófilo Otoni – MG, onde foi finalizada a etapa 1 e executadas as etapas 2 e 3 nos Laboratórios de Anatomia Molhada e de Análises Biomoleculares de forma concomitante. Todo o experimento foi realizado em temperatura ambiente em torno de 27 °C ($\pm 6,5$).

4.2 Amostras

Utilizaram-se 72 carcaças de ratos da linhagem Wistar, *Rattus norvegicus*, adultos, de ambos os sexos, sendo 45 machos e 27 fêmeas, com massa corporal média de 351g.

4.3 Critérios de inclusão da amostra

- Ratos Wistar, adultos, de ambos os sexos, com idade entre 6 a 12 meses;
- Animais de descarte de outros experimentos e ou de biotérios de criação com a especificação dos procedimentos e medicamentos administrados aos animais.

4.4 Critérios de exclusão da amostra

- Animais com mais de 6 horas de eutanasiados, resfriados por mais de 24 horas ou congelados;
- Animais que tenham passado por algum tipo de processo de conservação;
- Animais com algum grau de processo de decomposição.

4.5 Aspectos éticos

O estudo foi submetido à Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, aprovado conforme o parecer nº 04-2021 R (ANEXO A).

4.6 Descrição dos procedimentos

4.6.1 Eutanásia e higienização

Os animais foram eutanasiados, higienizados com água e sabão neutro e em seguida, agrupados de forma aleatória. Como as fêmeas eram em menor quantidade, foram alocadas de modo que cada subgrupo tivesse pelo menos um exemplar, Figura 3.

Figura 3 – Etapa de Eutanásia, Higienização e formação dos grupos



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

A) higiene dos ratos Wistar imediatamente à eutanásia; B) separação aleatória dos animais para formação dos grupos para posterior análise morfométricas e morfológicas iniciais.

4.6.2 Identificação dos animais e composição dos grupos

Formaram-se três grupos com dois tratamentos em cada um deles, contendo 12 carcaças de ratos Wistar, acomodados em três recipientes/tratamento hermeticamente fechados com capacidade de cinco litros. Em cada um, foram alocados quatro espécimes e os recipientes foram identificados como solução 1, 2 e 3 (S1, S2 e S3), vide Tabela 1.

Os grupos formados foram SPT1: salina P.A. 30% + animais expostos; SPT2: salina P.A. 30% + animais não-expostos; SCT1: salina comercial 30% + animais expostos; SCT2: salina comercial 30% + animais não-expostos; FoT1: formol 10% + animais expostos; FoT2: formol 10% + animais não-expostos, conforme especificado na Tabela 1.

Tabela 1 – Especificação dos grupos, quantidade de animais por solução (ou recipiente) e por grupo

Grupos	Tratamentos/soluções (T1 e T2)	Número de Animais/Recipiente	Número de Animais/Subgrupo
SPT1 + Animais exposto	SPT1S1	04	12
	SPT1S2	04	
	SPT1S3	04	
SPT2 + Animais Não Expostos	SPT2S1	04	12
	SPT2S2	04	
	SPT2S3	04	
SCT1 + Animais Expostos	SCT1S1	04	12
	SCT1S2	04	
	SCT1S3	04	
SCT2 + Animais Não Expostos	SCT2S1	04	12
	SCT2S2	04	
	SCT2S3	04	
FoT1 + Animais Expostos	FoT1S1	04	12
	FoT1S2	04	
	FoT1S3	04	
FoT2 + Animais Não Expostos	FoT2S1	04	12
	FoT2S2	04	
	FoT2S3	04	

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Para a identificação do grupo, da solução e dos animais, utilizou-se um barbante circundando o pescoço de cada animal, com uma ponta livre, onde foram feitas as marcações com tintas no sentido de fora para dentro, representando respectivamente o grupo, o animal e a solução, conforme mostrado pela Figura 4.

Figura 4 – Identificação dos animais em cada grupo



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

A: Representação em cores identificando o grupo, animal e solução. Em “a”: identificações dos grupos em cores diferentes (SPT1: amarelo; SPT2: rosa; SCT1: azul; SCT2: vermelho; FoT1: lilás; FoT2: verde). Em “b”: o número de traços em preto identifica o animal em 1, 2, 3 e 4. Em “c”, o número de traços em verde identifica a solução conservante em 1, 2 e 3. As imagens em **A**, **B**, **C**, **D**, **E** e **F** são exemplares de cada grupo.

4.6.3 Análises morfométricas e morfológicas macroscópicas das carcaças de ratos Wistar

As análises morfométricas e morfológicas foram realizadas de forma comparativa no início (na pré-fixação) e no final do experimento (após os 120 dias) intra e intergrupos por um único avaliador (FIGURA 5).

Os ratos Wistar foram avaliados de forma adaptada, conforme critérios de publicações anteriores utilizadas por Hayashi *et al.* (2014, 2016), Bilge e Çelik (2017) e Beger *et al.* (2020).

Os parâmetros morfométricos avaliados foram:

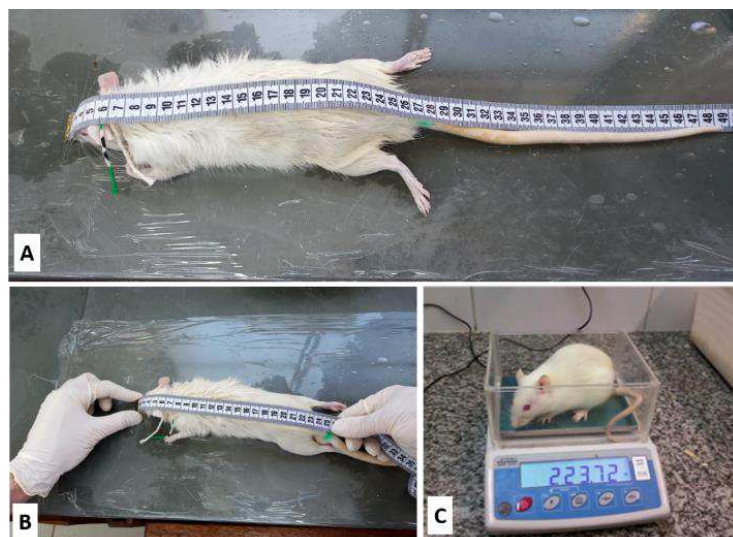
- **Massa corporal (g) (M):** aferido em balança semi-analítica (modelo EVEN, capacidade 3200g, bivolt);
- **Comprimento Nasoanal (cm) (CNA):** do focinho ao ânus, mensurado com fita milimetrada;
- **Comprimento Nasocaudal (cm) (CNC):** do focinho ao limite final do rabo, mensurado com fita milimetrada;

Os parâmetros morfológicos macroscópicos avaliados foram:

- **Coloração dérmica:** realizada por percepção visual, considerando o aspecto normal, como sendo uma pele pálida de um animal recém eutanasiado (sim ou não);
- **Presença de manchas arroxeadas** como sendo o escurecimento da peça (sim ou não);

- **Sinais de autólise:** neste caso, aspecto de derretimento do tecido (sim ou não).
- **Odor das peças:** realizada por percepção olfativa, observando a presença de cheiro característico de putrefação (sim ou não);
- **Rigidez articular:** realizada por percepção tátil pela indução de movimentação articular de abdução/adução e flexão/extensão dos membros superiores e inferiores, havendo algum tipo de resistência ao movimento considerou-se presença de rigidez (sim ou não);
- **Rigidez muscular:** realizada por percepção tátil pela pressão sobre músculos de membros superiores e inferiores e região abdominal. A pressão foi realizada com o auxílio do dedo indicador, caso houvesse deformação tecidual, considerava-se sem presença de rigidez muscular (não) e sem deformação tecidual ou presença de rigidez (sim).

Figura 5 – Realização das medidas morfométricas dos ratos Wistar



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

A: medida do comprimento nasocaudal; B: comprimento nasoanal; C: pesagem do animal.

4.6.4 Etapa de fixação em formol a 10%

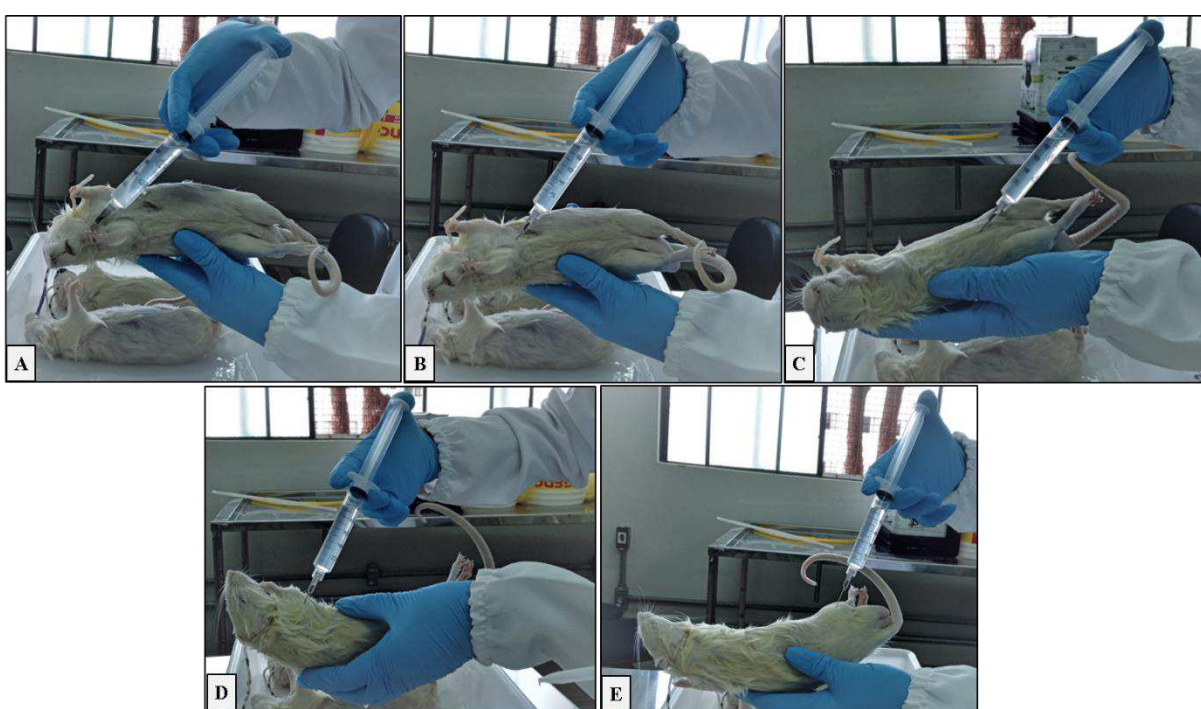
O processo de fixação foi realizado manualmente com o auxílio de uma seringa de 20 mL com solução de formol 10% (100 mL de formol/ 900 mL H₂O destilada). A água utilizada foi autoclavada por 20 minutos a 121° C, antes da adição do formol (autoclave Phoenix-Luferco®, modelo AV-137).

A formalina 10% foi injetada nas cavidades torácica, peritoneal, bucal em direção ao crânio e intramuscular (membros superiores e inferiores), como ilustrado na Figura 6.

Conforme Rodrigues (2010), a quantidade injetada correspondeu a 10% da massa corporal do animal.

Após a formolização, os animais foram transferidos para o Campus Mucuri, Teófilo Otoni. As carcaças ficaram submersas em formol 10% por mais sete dias a temperatura ambiente. Decorrido esse período, foram lavadas em água corrente por 24 horas ininterruptas (SANTANA, 2018) e direcionadas aos respectivos grupos previamente definidos e identificados.

Figura 6 – Fixação manual de formol 10% em ratos Wistar



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Em A: aplicação na cavidade bucal em direção ao crânio; B: aplicação na cavidade torácica; C: aplicação na cavidade peritoneal; D e E: aplicação nos membros superiores e membros inferiores respectivamente.

4.6.5 Preparo das soluções e a etapa de conservação dos animais

A solução de Formol 10% foi preparada seguindo os mesmos critérios utilizados na etapa de fixação, conforme item 4.6.4.

A solução Salina P.A. 30% foi preparada pela dissolução de 300 g de NaCl (P.A./ACS Anidrol) em 1000 mL de água destilada. E a solução Salina Comercial 30% pela dissolução de 307,5 g de NaCl (Sal marinho da marca Miramar, cuja composição em 1g

corresponde a 390 mg de Sódio e 25µg de Iodo) em água destilada. Após o preparo, ambas as soluções foram autoclavadas a 121°C por 20 minutos (autoclave Phoenix-Luferco®, modelo AV-137).

Todas as soluções foram armazenadas em temperatura ambiente em recipientes plásticos transparentes com tampa, identificadas e vedadas com papel filme, conforme a Figura 7.

Figura 7 – Preparo das soluções conservantes

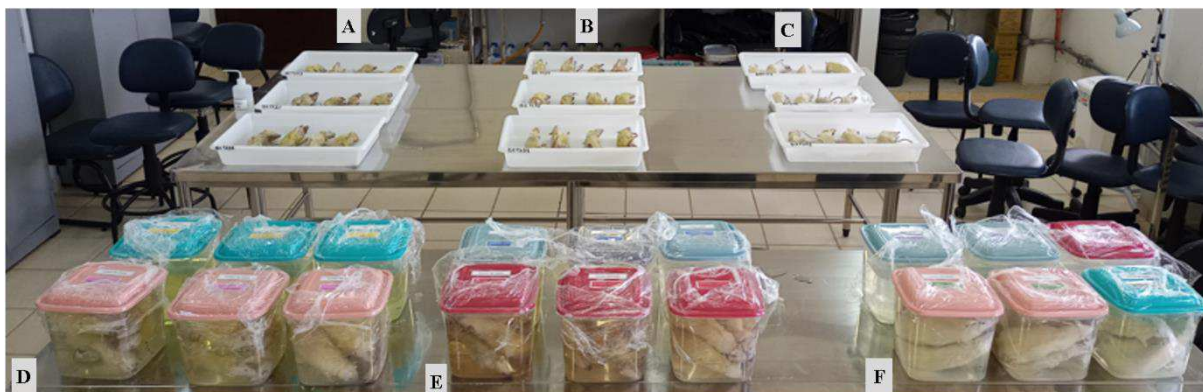


Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Soluções preparadas, identificadas e armazenadas em recipientes plásticos transparentes e acondicionadas em temperatura ambiente no Laboratório de Anatomia Molhada da FAMMUC/UFVJM.

Após a etapa de fixação, os animais foram lavados em água corrente por 24 horas ininterruptas e em seguida transferidos aos recipientes correspondentes. Decorridos 30 dias, os animais do Tratamento 1 de cada subgrupo, foram expostos por uma hora sobre a bancada do Laboratório de Anatomia Molhada da FAMMUC, de forma a mimetizar as aulas práticas. Em seguida, foram devolvidos aos recipientes correspondentes. Esse procedimento foi realizado a cada 30 dias durante o período de 120 dias. Já os animais dos grupos não-expostos permaneceram isolados nos recipientes até o final do experimento, Figura 8.

Figura 8 – Exposição do tratamento 1 de cada grupo



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Em **A**: SPT1 (Solução Salina P.A.30% + animais expostos); **B**: SCT1 (Solução Comercial 30% + animais expostos); **C**: FoT1 (Solução de formol 10% + animais expostos); **D**: SPT2 (Solução Salina P.A.30% + animais não expostos); **E**: SCT2 (Solução Salina Comercial 30% + animais não expostos); **F**: FoT2 (Solução de Formol + animais não expostos)

4.6.6 Análise das propriedades organolépticas das soluções conservantes

As análises organolépticas das soluções foram realizadas por um único avaliador por meio da percepção visual e olfativa, levando em consideração:

- Odor de putrefação (sim ou não);
- Coloração (translúcido, amarelo claro a amarelo escuro);
- Alteração de viscosidade (sim ou não).

4.6.7 Análises microbiológicas

Para investigar a presença de microrganismos nas soluções conservantes, realizaram-se os testes de contagem bacteriana e fúngica em placas de Petri no período de 0, 40, 80 e 120 dias. A cada análise, realizou-se a contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por mililitros, com posterior isolamento e identificação das espécies.

4.6.7.1 Coleta das amostras

O meio de cultura utilizado foi o Plate Count Agar (PCA). Para o preparo utilizou-se 23,5 g/1000 mL de água destilada, seguida de autoclavagem a 121 °C por 15 minutos

(autoclave Phoenix-Luferco®, modelo AV-137). Foram vertidos 20 mL de PCA em cada placa de Petri. Todo o procedimento foi realizado em capela de fluxo laminar (Thermo Scientific 1300 Series A2). Para cada análise, foram preparadas 55 placas, sendo 54 para as amostras e uma para controle de esterilidade da placa, conforme demonstrado na Figura 9.

As placas de Petri foram encaminhadas ao Laboratório de Anatomia Molhada, onde foram coletados 0,1 mL de cada solução onde estavam acondicionados os ratos. As amostras foram recolhidas em triplicata em cada recipiente. Com o auxílio de uma alça de Drigalski, a alíquota foi espalhada sobre a placa de Petri. Todo esse procedimento foi realizado próximo a uma chama para evitar contaminações externas. Em seguida, elas foram identificadas e incubadas no Laboratório de Análises Biomoleculares, à temperatura ambiente por 72 horas com acompanhamento diário. As UFCs de bactérias e fungos que surgiram foram quantificadas e classificadas conforme a morfologia macroscópica observada (SILVA *et al.*, 2011), conforme as Figuras 9 e 10.

As placas de Petri que apresentaram crescimento microbiológico foram separadas e mantidas em geladeira a 4° C para posterior repicagem e identificação.

4.6.7.2 Classificação dos morfotipos bacterianos e fúngicos encontrados nas soluções

A classificação dos morfotipos bacterianos e fúngicos foi realizada conforme as características relacionadas à cor, à forma e ao aspecto da colônia. Para diferenciar os achados uns dos outros, as bactérias foram classificadas numericamente conforme os achados em B1, B2, B3... e assim por diante. O mesmo procedimento foi realizado com os fungos (F1, F2, F3...), conforme a Figura 10.

Figura 9 – Etapas das análises microbiológicas

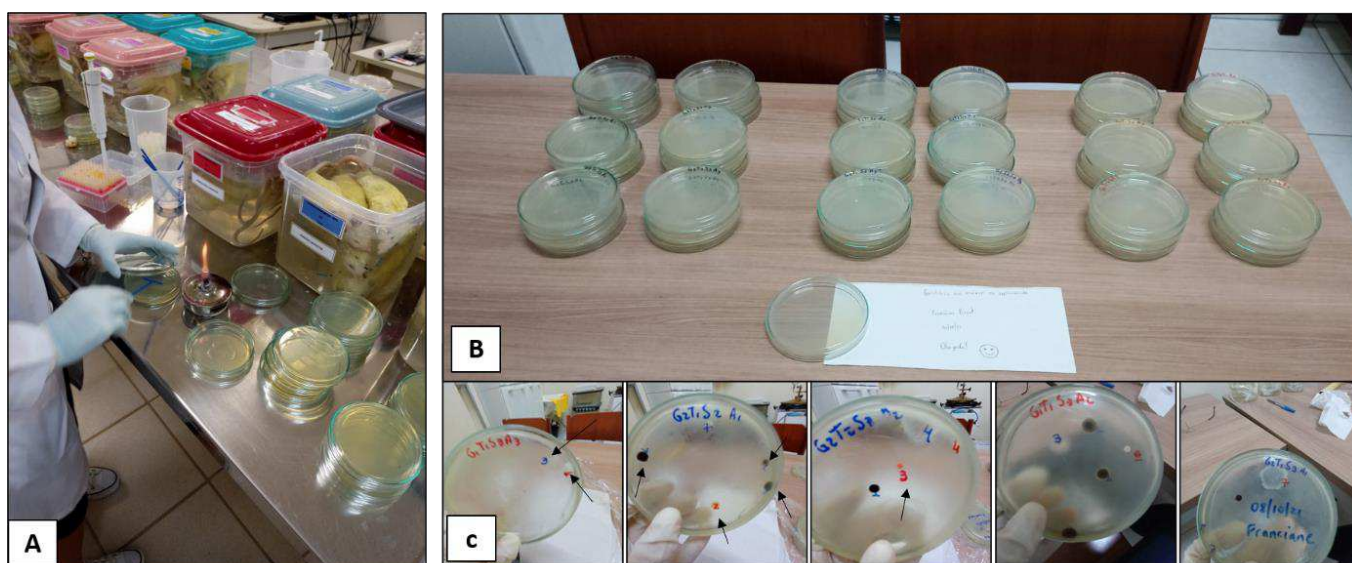


Fonte: Elaborada pela autora, 2023. Em A: abertura das placas estéreis na capela de fluxo laminar; B: o meio sendo vertido sobre as placas de Petri; C: organização das placas de Petri conforme as soluções; D: coleta em triplicata das amostras; F: identificação das placas.

O meio utilizado para repicagem, crescimento e isolamento dos microrganismos foi o PCA (23,5 g/1000 mL de água destilada), conforme a Figura 10.

A cada repicagem, os fungos e as bactérias foram identificados e mantidos em estufa (Thermo Scientific Heratherm) a 28° C para crescimento, conforme a Figura 11. Após a obtenção de amostras puras, elas foram enviadas ao Laboratório Controlbio, em São Paulo, para a identificação da espécie pelo método de Espectrometria de Massa MALDI-TOF.

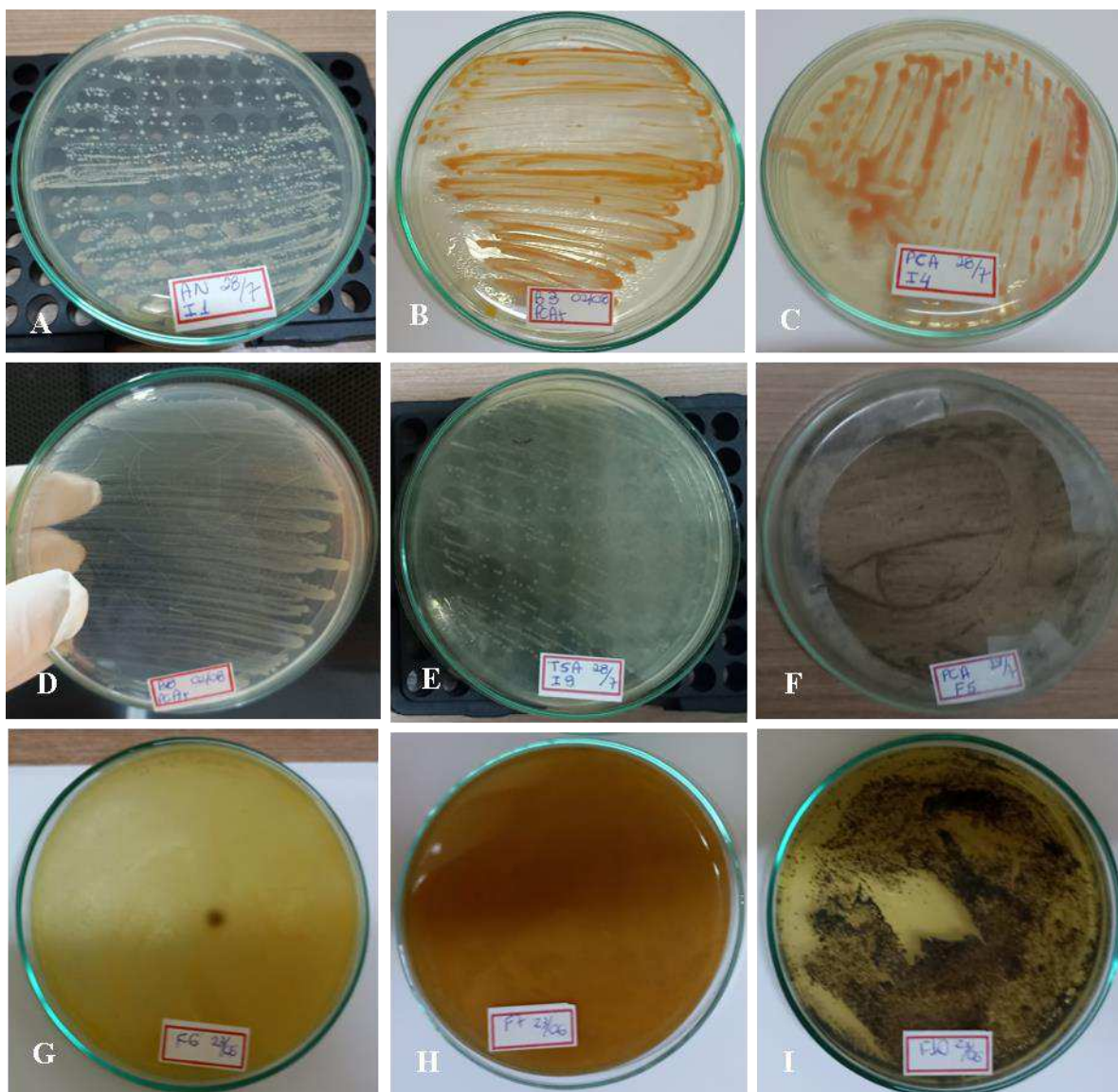
Figura 10 – Coleta das amostras, incubação das placas e classificação dos microrganismos



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

A: coleta das amostras em meio PCA; **B:** incubação das placas em Temperatura ambiente por 72h, da esquerda para a direita, estão os grupos de formol, salina P. A. 30%; salina comercial 30% e à frente delas, a placa controle contendo apenas o meio; **C:** marcação dos morfotipos, em vermelho representando os achados bacterianos, e em azul, os fúngicos.

Figura 11 – Repicagem das amostras de bactérias e fungos para obtenção de linhagens puras e posterior identificação das espécies



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Em **A**: isolado bacteriano (B1), em **B**: isolado bacteriano 3 (B3), em **C**: isolado bacteriano 4 (B4), em **D**: isolado bacteriano 8 (B8), em **E**: isolado bacteriano 9 (B9), em **F**: isolado fúngico 5 (F5), em **G**: isolado fúngico 6 (F6), em **H**: isolado fúngico 7 (F7), em **I**: isolado fúngico 10 (F10).

4.7 Análise estatística

Trata-se de uma pesquisa quali-quantitativa. Para os dados qualitativos (morfológicos das peças e organolépticos das soluções), realizou-se uma análise descritiva.

Para os dados quantitativos (morfométricos), verificou-se, primeiramente, os

pressupostos de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados apresentaram distribuição assimétrica e, a partir disso, adotou-se testes não paramétricos. Para a análise intragrupo, utilizou-se o teste de Wilcoxon para amostras pareadas (CONOVER, 1999) e o nível de significância adotado foi de 5%. O programa estatístico utilizado para essa análise foi o software JASP 0.16.4 (JASP Team, 2022).

Para a análise intergrupo, aplicou-se a estatística ANOVA-type (ATS) para dados não paramétricos de medidas repetidas. O nível de significância adotado foi de 5% e o programa estatístico utilizado foi o software R (R CORE Team, 2022) a partir do pacote nparLD (NOGUCHI *et al.*, 2022).

Para a análise dos dados microbiológicos realizou-se a descrição e a contagem total de UFC de bactérias e fungos presentes em cada grupo em função do tempo de 0, 40, 80 e 120 dias.

5 RESULTADOS

5.1 Análises morfométricas intragrupo das peças anatômicas

A partir das comparações das medianas, verificou-se que houve diferença estatística significativa em todos os intragrupos com relação à variável Massa Corporal (M1: inicial e M2: final), indicando aumento em M2 em função do tempo, sendo SPT1 ($p < 0,0001$), SPT2 ($p < 0,0001$), SCT1 ($p < 0,0001$), SCT2 ($p < 0,0001$), FoT1 ($p < 0,0001$), FoT2 ($p < 0,0001$), conforme descrito na Tabela 2.

Para a variável comprimento nasoanal (CNA1: inicial e CNA2: final), apenas os intragrupos SPT2 ($p = 0,005$), SCT1 ($p = 0,010$) e FoT2 ($p = 0,015$) apresentaram diferença estatística significativa, com diminuição de CNA2 em função do tempo, indicando encolhimento das peças. Enquanto que não houve diferença significativa nos intragrupos SPT1 ($p = 0,120$), SCT2 ($p = 0,74$) e FoT1 ($p = 0,17$). Estes grupos não apresentaram um encolhimento significativo das peças em função do tempo, (Tabela 2).

E por fim, para a variável comprimento nasocaudal (CNC1: inicial e CNC2: final) houve diferença estatística significativa em todos os intragrupos, resultando em diminuição de CNC2 em função do tempo, SPT1 ($p = 0,02$), SPT2 ($p = 0,002$), SCT1 ($p = 0,002$), SCT2 ($p = 0,004$), FoT1 ($p = 0,018$) e FoT2 ($p = 0,004$), conforme especificado na Tabela 2.

Assim, a partir da comparação das medianas, foi possível inferir que houve aumento da massa corporal para os grupos, além da diminuição dos comprimentos nasoanal e nasocaudal, ainda que não seja possível inferir diferenças estatisticamente significativas para o comprimento nasoanal dos grupos SCT2 e FoT1, conforme a Tabela 2.

Tabela 2 – Resultados do teste de Wilcoxon para amostras pareadas

Grupo	Variável	Mediana (IQR)		W	z	P-valor
		Início	Final			
SPT1	M1/ M2	372,84 (125,34)	381,60 (136,20)	0.000	-3.059	,0001
	CNA1/CNA2	23,50 (2,25)	22,75 (3,37)	36.000	1.599	,120
	CNC1/CNC2	44,03 (3,36)	41,50 (2,35)	78.000	3.059	,002

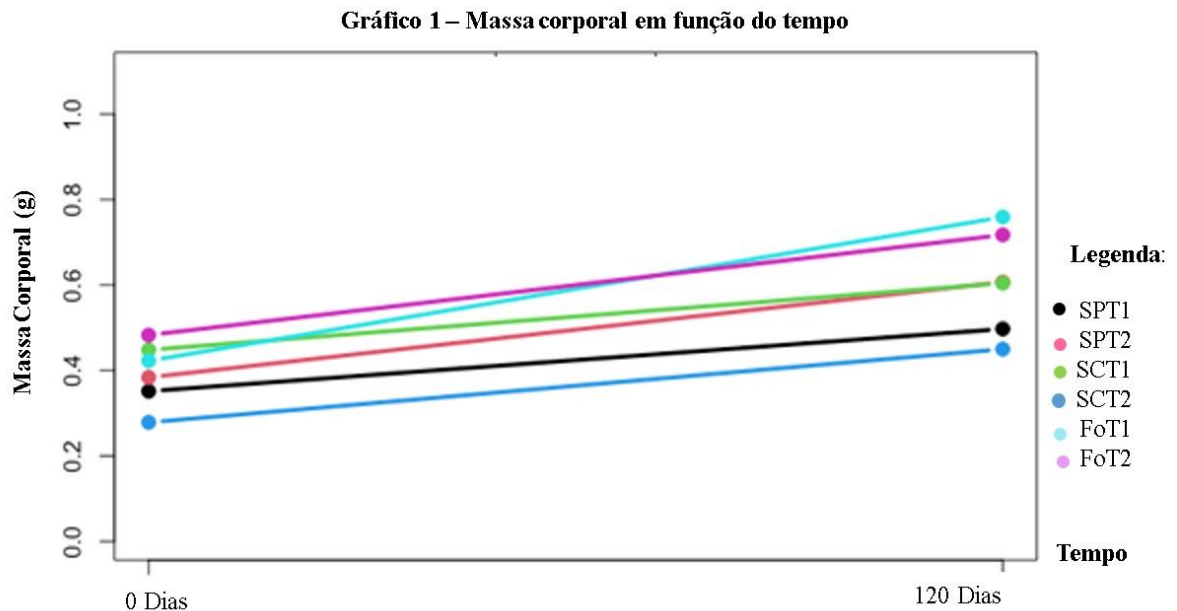
SPT2	M1/ M2	373,08 (156,34)	431,60 (169,80)	0.000	-3.059	,0001
	CNA1/CNA2	23,50 (4,00)	22,75 (3,25)	55.000	2.803	,005
	CNC1/CNC2	44,25 (4,12)	40,50 (4,75)	78.000	3.059	,002
SCT1	M1/ M2	379,86 (137,54)	422,00 (146,02)	0.000	-3.059	,0001
	CNA1/CNA2	24,00 (2,5)	22,75 (3,12)	36.000	2.599	,010
	CNC1/CNC2	44,70 (3,59)	41,75 (3,50)	78.000	3.059	,002
SCT2	M1/ M2	317,27 (131,86)	359,50 (104,85)	0.000	-3.059	,0001
	CNA1/CNA2	22,50 (1,25)	21,75 2,25	53.500	1.823	,074
	CNC1/CNC2	42,75 (3,75)	40,75 (3,50)	76.500	2.942	,004
FoT1	M1/ M2	379,62 (146,80)	470,80 (97,22)	0.000	-3.059	,0001
	CNA1/CNA2	24,00 (3,25)	23,00 (2,75)	41.500	1.427	,167
	CNC1/CNC2	45,00 (3,75)	42,00 (3,25)	60.000	2.401	,018
FoT2	M1/ M2	390,80 (50,59)	464,00 (53,80)	0.000	-3.059	,0001
	CNA1/CNA2	24,00 (0,25)	22,75 (1,75)	43.500	2.488	,015
	CNC1/CNC2	45,00 (1,5)	41,10 (1,00)	66.000	2.934	,004

Fonte elaborada pela autora, 2023.

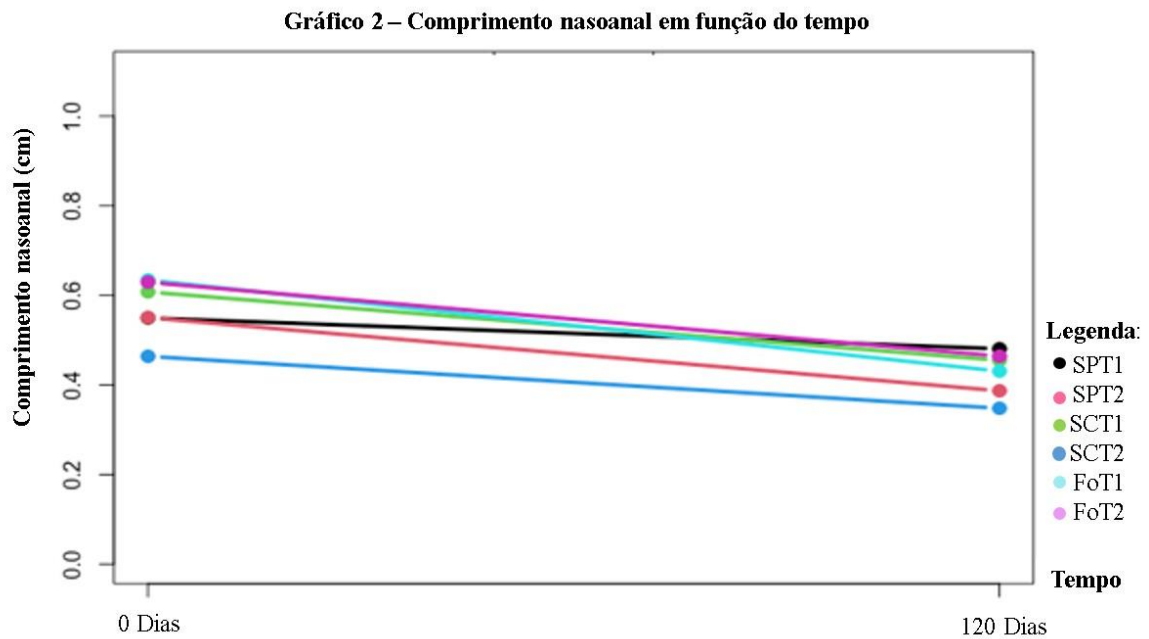
*Nota. Negrito = diferença não significativa; Abreviação: IQR = Amplitude interquartil; M1: Massa Corporal inicial; M2: Massa corporal final (após 120 dias); CNA1: comprimento nasoanal inicial; CNA2: comprimento nasoanal final (após 120 dias); CNC1: comprimento nasocaudal inicial; CNC2: comprimento nasocaudal final (após 120 dias);

5.2 Análises morfométricas intergrupos das peças anatômicas

Para as análises intergrupos, os testes pareados possibilitaram investigar as diferenças entre os grupos em relação ao tempo de mensuração (inicial e em 120 dias) e a interação entre eles. Os resultados apontaram que houve diferença estatística significativa para a variável massa corporal entre as mensurações de tempo ($ATS = 290,64$, $p < 0,001$) e a interação entre as variáveis ($ATS = 5,48$, $p = 0,002$), indicando que, embora as peças tendem a ficar mais pesadas, não foi possível atestar diferença estatística significativa desse ganho de massa corporal entre os grupos ($ATS = 1,54$, $p = 0,174$). O Gráfico 1, mostra essa tendência de aumento de massa corporal em função do tempo de mensuração entre os grupos, conforme já verificado anteriormente pelo teste de Wilcoxon na análise intragrupo.

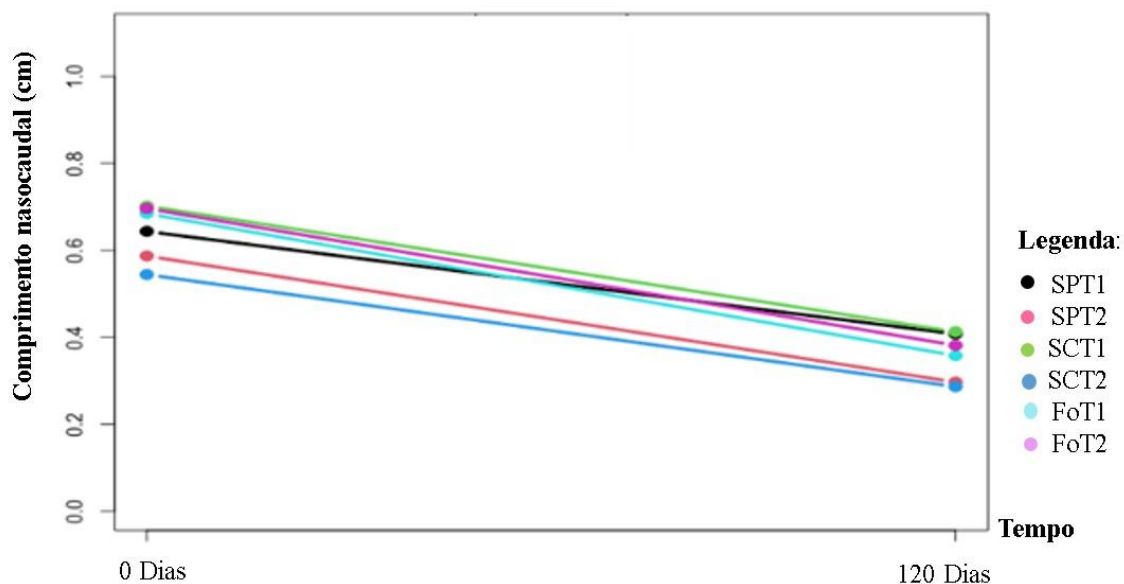


Com relação ao “Comprimento Nasoanal” (CNA), não houve diferença estatística entre as variáveis de grupamento ($ATS = 0,504$, $p = 0,751$) e sua respectiva interação com o tempo de mensuração ($ATS = 0,517$, $p = 0,678$), porém apresentou diferença estatística entre os tempos de mensuração ($ATS = 29,91$, $p < 0,001$). O Gráfico 2 representa a comparação dos grupos em relação ao tempo de mensuração de CNA, indicando uma tendência à diminuição em função do tempo, porém a comparação entre os grupos não foi estatisticamente significativa.



Por fim, para a variável “Comprimento Nasocaudal” (CNC), houve diferença estatística significativa entre os tempos de mensuração ($ATS = 129,09$, $p < 0,001$), mas sem diferenças tanto entre os grupos ($ATS = 0,734$, $p = 0,586$) quanto na interação entre os tempos de mensuração e os grupos ($ATS = 0,306$, $p = 0,771$). Os resultados da análise post hoc também atestaram não haver diferença estatística significativa na investigação da interação. O Gráfico 3 representa a CNC em cada grupo em função do tempo, indicando uma tendência à diminuição em função do tempo, resultado também encontrado no teste de Wilcoxon.

Gráfico 3 – Comprimento nasocaudal em função do tempo



Assim pode-se inferir que não houve diferença estatística significativa entre os grupos para as variáveis de CNA e CNC. Os resultados apontam que a conservação das peças cadavéricas, nas soluções salínicas 30% (P.A. e Comercial) ou no formol 10%, tenderam a diminuir o CNA e o CNC em função do tempo, porém não há diferença entre os grupos com relação ao nível de encurtamento das peças. Já para a variável massa corporal, pode-se inferir que houve uma tendência a aumentar a massa corporal após os 120 dias entre os grupos, embora não tenha sido estatisticamente significativo.

5.3 Descrição das Análises morfológicas intra e intergrupos das peças anatômicas

Para a variável “odor de putrefação”, nenhum dos grupos avaliados apresentou cheiro desagradável, exceto os relacionados ao formol, inerente à própria solução. A Tabela 3 apresenta os valores em percentil e a Tabela 4, o resumo da avaliação desses dados.

Quanto à “coloração dérmica” no tempo inicial (imediatamente à eutanásia e antes da fixação em formol), todos os grupos apresentaram coloração normal (próxima ao animal recém sacrificado). Após os 120 dias, os melhores resultados foram dos grupos FoT1 e FoT2, 100% das amostras com coloração dérmica “normal”. O segundo grupo com melhor coloração dérmica foi SPT2 com 91,67%, seguido de SCT2 (58,33%) e SCT1 (50%). O grupo de SPT1 apresentou o pior resultado, apenas 33,33% das peças mantiveram uma coloração dérmica próxima ao considerado normal. Outro aspecto que chamou a atenção entre os grupos

conservados em solução salínica (SPT1, SPT2 e SCT1, SCT2), foi a alteração na coloração da pelagem dos animais, passando de branca para uma cor bem amarelada, conforme a Figura 12.

Quanto à “rigidez articular” no tempo inicial, os grupos SPT1, SPT2, e SCT2 apresentaram 100% de rigidez nas articulações de membros superiores e inferiores. Em SCT1 e FoT1, 91,67% das amostras apresentaram rigidez articular, e em FoT2 foram 75% das amostras. Após os 120 dias, os grupos SPT1, SPT2, SCT1, FoT1, FoT2 apresentaram 100% de rigidez, enquanto que o grupo SCT2, com 91,67%, segundo as Tabelas 3 e 4. Os grupos conservados em formol apresentaram um nível de rigidez mais intenso, que os grupos à base de salina 30%, apesar do presente estudo não mensurar o grau de rigidez, apenas presença ou ausência dessa variável, conforme a Figura 12.

Quanto à “rigidez muscular” no tempo inicial, 83,33% das amostras dos grupos SPT1 e SPT2 apresentaram rigidez nos músculos dos membros superiores e inferiores, em SCT1 foram 66,67% das amostras, em SCT2 100%, em FoT1 cerca de 33,33% e em FoT2, 100% das amostras. Após os 120 dias, 66,67% das amostras em SPT1 e SCT2 mantiveram a rigidez muscular, 91,67% em SPT2, 75% em SCT1 e em FoT1 e FoT2, ambos com 100% conforme a Tabela 3 e a Figura 12.

Para a variável “manchas” nas peças anatômicas no tempo inicial, não foram observadas em nenhum dos grupos avaliados. Após 120 dias, SPT1 apresentou manchas em 100% das amostras, seguido de SCT2 com 83,33%. Em SPT2 e SCT1, cerca de 58,33% das peças tinham algum tipo de mancha. E em FoT1, 47,67%, e em FoT2, 33,33%, conforme a Tabela 3 e a Figura 12.

Para a variável “presença de autólise” nas peças anatômicas no tempo inicial após a fixação em formol 10%, os grupos que apresentaram sinais de autólise (aspecto de derretimento dos músculos), foram SPT1 com 41,67% das peças, SPT2 com 8,33% e SCT2, com 25% das peças, FoT1 e FoT2 não apresentaram sinais de autólise. Já em 120 dias, as amostras do grupo SPT1 e SPT2 se mantiveram com a mesma quantidade de espécimes com sinais de autólise, e SCT2, variou para 41,67% das peças com sinais de autólise. Os grupos que permaneceram sem sinais de autólise foram FoT1 e FoT2, conforme a Tabela 3 e a Figura 12.

Figura 12 – Conservação dos ratos Wistar após 120 dias



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

A seta preta indica presença de manchas e a seta vermelha, sinais de autólise.

Grupo salina P.A 30% (animais não expostos): **A** (SPT2S1), **B** (SPT2S2), **C** (SPT2S3); Grupo salina P.A 30% (animais expostos): **D** (SPT1S1), **E** (SPT1S2), **F** (SPT1S3); Grupo salina comercial 30% (animais não expostos): **G** (SCT2S1), **H** (SCT2S2), **I** (SCT2S3); Grupo salina comercial 30% (animais expostos): **J** (SCT1S1), **K** (SCT1S2), **L** (SCT1S3); Grupo formol 10% (animais não expostos): **M** (FoT2S1), **N** (FoT2S2), **O** (FoT2S3); Grupo formol 10% (animais expostos): **P** (FoT1S1), **Q** (FoT1S2), **R** (FoT1S3).

Tabela 3 – Percentil da avaliação morfológica inicial e final (após os 120 dias)

Variáveis			SPT1		SPT2		SCT1		SCT2		FoT1		FoT2	
			Inicial* (%) n= 12	Final (%)	Inicial (%) n= 12	Final (%)	Inicial (%) n= 12	Final (%)	Inicial (%) n= 12	Final (%)	Inicial (%) n= 12	Final (%)	Inicial (%) n= 12	Final (%)
Odor de Putrefação	Sim	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Não	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Coloração Dérmica	Normal	100	33,33	100	91,67	100	50	100	58,33	100	100	100	100	100
	Arroxeadada	-	66,67	-	8,33	-	50	-	41,67	-	-	-	-	-
Rigidez Articular	Sim	100	100	100	100	91,67	100	100	91,67	91,67	100	75	100	100
	Não	-	-	-	-	8,33	-	-	8,33	8,33	-	25	-	-
Rigidez Muscular	Sim	83,33	66,67	83,33	91,67	66,67	75	100	66,67	33,33	100	100	100	100
	Não	16,67	33,33	16,67	8,33	33,33	25	-	33,33	66,67	-	-	-	-
Manchas	Sim	-	100	-	58,33	-	58,33	-	83,33	-	41,67	-	33,33	33,33
	Não	100	-	100	41,67	100	41,67	100	16,67	100	58,33	100	66,67	66,67
Autólise	Sim	41,67	41,67	8,33	8,33	-	-	25	41,67	-	-	-	-	-
	Não	58,33	58,33	91,67	91,67	100	100	75	58,33	100	100	100	100	100

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

* A avaliação inicial corresponde ao tempo de avaliação imediatamente à eutanásia dos animais. A coloração normal refere-se à cor do animal após o sacrifício, pálida.

Tabela 4 – Resumo da comparação* morfológica das peças após os 120 dias de conservação

Variáveis	Salina P.A. 30%	Comercial 30%	Formol
	(SPT1 e SPT2)	(SCT1 e SCT2)	(FoT1 e FoT2)
Coloração dérmica	Razoável	Razoável	Melhor
Odor de Putrefação	s/p	s/p	s/p
Rigidez Articular	Moderada	Moderada	↑ Alta
Rigidez Muscular	Moderada	Moderada	↑ Alta
Manchas	Tenderam a aumentar *SPT1 > SPT2 (100%) (58%)	Tenderam a aumentar *SCT1 < SCT2 (58%) (83%)	Tenderam a aumentar *FoT1 > FoT2 (±42%) (±33%)
Sinais de Autólise	Permaneceu igual ao inicial SPT1 > SPT2 (42%) (8%)	Permaneceu igual ao inicial SCT1 s/ autólise SCT2 ±42%	Permaneceu igual ao inicial sem sinais de autólise

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

*Nota, a comparação diz respeito às peças após 120 dias em relação ao estado inicial (antes da fixação das peças).

Abreviação: s/p (sem presença).

5.4 Análises microbiológicas das soluções conservantes

Quanto aos microrganismos encontrados no período de 0 a 120 dias, foram observados 11 morfotipos bacterianos classificados de B1 a B11. Destes, apenas cinco foram passíveis de identificação da espécie. Os seis restantes não cresceram durante as sucessivas repicagens para obtenção de linhagem pura. Assim, os identificados foram: B1 (*Bacillus megaterium*), B3 (*Dietzia cercidiphylli*), B4 (*Citrobacter freundii*), B8 (*Bacillus subtilis*) e B9 (*Paenibacillus etheri*), como indicado nas Tabelas 5 e 6.

Com relação aos fungos foram encontrados 10 morfotipos classificados de F1 a

F10. Posteriormente, com as repicagens sucessivas constatou-se que três deles (F1, F3 e F10) tratavam-se do mesmo morfotipo. Assim, dos sete morfotipos restantes, apenas quatro foram passíveis de identificação da espécie, sendo que os demais não se desenvolveram nas sucessivas repicagens realizadas. Os fungos identificados, portanto, foram F1 (*Cladosporium cladosporioides*), F5 (*Aspergillus fumigatus*), F6 (*Penicillium brevicompactum*) e F7 (*Aspergillus versicolor*), conforme as Tabelas 5 e 6.

Tabela 5 – Todos os morfotipos bacterianos e fúngicos encontrados no intervalo de tempo de 0, 40, 80 e 120 dias em cada grupo

Grupo	Morfotipo de bactérias	Morfotipos Bacterianos	Morfotipo de Fungos	Morfotipos Fúngicos
	Encontradas (0, 40 e 80 dias)	após 120 dias	Encontrados (0, 40 e 80 dias)	após 120 dias
SPT1	B1		F1*	
	B4		F2	
	B6		F5	
	B8	B8	F6	F1 e F6
	B11		F8	
SPT2	B2		F1	
	B8		F5	
	B9	-	F6	F1, F6 e F8
	B10		F8	
	B11		F9	
SCT1	B1		F1	
	B2		F2	
	B5		F5	
	B6	-	F6	F1
	B7		F7	
	B8		F8	
SCT2	B1		F1	
	B2		F4	
	B3	B1	F5	F1
	B8		F9	
FoT1	-	-	F1	F1
FoT2	B8		F1	F1
		-	F7	

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

F1*corresponde aos mesmos morfotipos fúngicos classificados em F3 e F10, tratando-se do mesmo microrganismo.

Quanto à quantidade e a frequência dos morfotipos em cada grupo avaliado no período de 0 a 120 dias, observou-se que em SPT1 encontraram-se cinco morfotipos bacterianos (B1, B4, B6, B8 e B11) e seis fúngicos (F1, F2, F5, F6, F8 e F9). Após os 120 dias, permaneceram B8 (*Bacillus subtilis* com 2×10^6 UFC/mL), F6 (*Penicillium brevicompactum* com 1×10^6 UFC/mL) e F1 (*Cladosporium cladosporioides* com 4×10^6 UFC/mL). Em SPT2, observaram-se cinco morfotipos bacterianos (B2, B8, B9, B10 e B11) e cinco fúngicos (F1, F5, F6, F8 e F9). Após os 120 dias, todas as bactérias foram eliminadas, permanecendo os fungos F1 (*Cladosporium cladosporioides* com $1,21 \times 10^8$ UFC/mL), F6 (*Penicillium brevicompactum* com 1×10^6 UFC/mL) e F8 (não identificado com 1×10^6 UFC/mL). Em SCT1, observaram-se seis morfotipos bacterianos (B1, B2, B5, B6, B7 e B8) e sete fúngicos (F1, F2, F5, F6, F7, F8 e F9). Após os 120 dias, todas as bactérias foram eliminadas, restou-se apenas o fungo F1 (*Cladosporium cladosporioides* com 1×10^8 UFC/mL). Em SCT2, observaram-se quatro morfotipos bacterianos (B1, B2, B3 e B8) e quatro fúngicos (F1, F4, F5 e F9). Após os 120 dias, permaneceram-se B1 (*Bacillus megaterium* com 1×10^6 UFC/mL) e F1 (*Cladosporium cladosporioides* com $1,03 \times 10^8$ UFC/mL). Em FoT1, não houve crescimento bacteriano em todo o período avaliado, porém após os 120 dias, constatou-se a presença de F1 (*Cladosporium cladosporioides* com 4×10^6 UFC/mL). Em FoT2, observou-se o aparecimento de 1 morfotipo bacteriano, B8 (*Bacillus subtilis*) e dois fúngicos, F1 (*Cladosporium cladosporioides*) e F7 (*Aspergillus versicolor*). Após os 120 dias, apenas F1 (*Cladosporium cladosporioides* com 6×10^6 UFC/mL) permaneceu, conforme especificado nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 6 – Quantidade de UFC de bactérias e fungos nas soluções e a frequência de aparecimento em 0, 40, 80 e 120 dias em cada grupo

*Morfotipo/Bactérias e ou Fungos	Grupo Dias	Salina P. A. (30%)				Salina Comercial (30%)				Formol (10%)														
		SPT1		SPT2		SCT1		SCT2		FoT1		FoT2												
		0	40	80	120	0	40	80	120	0	40	80	120	0	40	80	120							
B1	<i>Bacillus megaterium</i>	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	
B2	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	1	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	
B3	<i>Dietzia cercidiphylli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
B4	<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
B5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
B6	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
B7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
B8	<i>Bacillus subtilis</i>	3	3	3	2	4	3	3	-	2	1	2	-	3	-	3	-	-	-	-	3	-	-	
B9	<i>Paenibacillus etheri</i>	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
B10	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
B11	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
F1**	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	-	-	-	4	2	3	-	121	1	-	-	100	3	1	2	103	-	-	-	4	-	-	6
F2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
F4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
F5	<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	-	5	-	-	-	3	-	-	4	20	-	-	2	4	-	-	-	-	-	-	-	
F6	<i>Penicillium brevicompactum</i>	-	1	2	1	-	2	-	1	-	3	1	-	-	3	1	-	-	-	-	-	-	-	
F7	<i>Aspergillus versicolor</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	
F8	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
F9	-	-	-	4	-	-	-	1	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Fonte: elaborada pela autora, 2023.

Nota: *Nem todos os morfotipos bacterianos e fúngicos foram passíveis de identificação. **F1 é o mesmo morfotipo fúngico encontrado em F3 e F10.

Com relação à patogenicidade dos microrganismos encontrados nas soluções salina 30% P.A., comercial e formol 10%, a maior parte deles é de baixa virulência e ou patógenos oportunistas, oferecendo maior risco imediato apenas à saúde de pessoas imunodeprimidas, conforme se segue na Tabela 7. Os de maior virulência como *Aspergillus fumigatus* foi detectado por volta do 80º dia e na análise microbiológica subsequente já não foi mais encontrado nas amostras analisadas.

Tabela 7 – Identificação da espécie do morfotipo isolado e a virulência

Morfotipos	Identificação	Características/Virulência
Bactérias/Fungos		
B1	<i>Bacillus megaterium</i>	Gram + aeróbica, infecções raras nos olhos, pele e SNC
B2	-	-
B3	<i>Dietzia cercidiphylli</i>	Gram+ aeróbica; poucos relatos de infecções
B4	<i>Citrobacter freundii</i>	Gram +, patógeno oportunista em humanos e animais
B5	-	-
B6	-	-
B7	-	-
B8	<i>Bacillus subtilis</i>	Gram +, não patogênica, são raras as infecções
B9	<i>Paenibacillus etheri</i>	Gram +, anaeróbica facultativa, não patogênica
B10	-	-
B11	-	-
F1	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Patógeno de baixa virulência; micoses superficiais
F2	-	-
F4	-	-
F5	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Patógeno oportunista; infecções pulmonares importantes
F6	<i>Penicillium brevicompactum</i>	Fitopatogênico de baixa virulência
F7	<i>Aspergillus versicolor</i>	Contaminante de alimentos e infecções de ouvido

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

5.5 Propriedades organolépticas das soluções

Quanto às propriedades organolépticas das soluções, nenhuma delas apresentou odor de putrefação e ou alteração de viscosidade durante o período de estudo. Já à coloração, variou intra e intergrupos nas soluções salinas P.A. 30% (SPT1, SPT2), passando de translúcida, no início do experimento, a amarelo claro/marrom escuro após os 120 dias. O mesmo ocorreu nos grupos das soluções salina comercial 30% (SCT1, SCT2). Já os grupos das soluções de

formol 10% (FoT1, FoT2), ambos mantiveram a coloração translúcida próxima ao do período inicial após os 120 dias, conforme a Figura 13 e a Tabela 8.

Figura 13 – Soluções conservantes antes e após os 120 dias



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Soluções conservantes antes e após (120 dias) utilizadas para a conservação dos ratos Wistar. **A**: grupos da salina P.A. 30% antes; **B** e **C**, a solução salina dos grupos SPT1S1, SPT1S2, SPT1S3 e SPT2S1, SPT2S2 e SPT2S3 respectivamente após 120 dias; **D**: grupos da Salina Comercial 30% antes; **E** e **F**, a solução salina dos grupos SCT1S1, SCT1S2, SCT1S3 e SCT2S1, SCT2S2 e SCT2S3 após 120 dias; **G**: grupo do Formol 10% antes; **H** e **I**, grupos da solução de formol FoT1S1, FoT1S2, FoT1S3 e FoT2S1, FoT2S2 e FoT2S3, respectivamente após 120 dias.

Tabela 8 – Propriedades organolépticas das soluções após 120 dias

Grupos	Odor de Putrefação	Coloração	Viscosidade
SPT1	Nenhum	Amarelo claro Marrom escuro	Nenhum
SPT2	Nenhum	Translúcido Amarelo claro Marrom escuro	Nenhum
SCT1	Nenhum	Amarelo claro Marrom escuro	Nenhum
SCT2	Nenhum	Amarelo claro Marrom escuro	Nenhum
FoT1	Nenhum	Translúcido	Nenhum
FoT2	Nenhum	Translúcido	Nenhum

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

6 DISCUSSÃO

6.1 Conservação das peças anatômicas

Os efeitos indesejados da formalina e a crescente conscientização sobre saúde e segurança aceleraram a busca por novas soluções e métodos de conservação nos últimos anos (BALTA; LAMB; SOAMES, 2015; KARAGÜL *et al.*, 2020). A solução salina 30% tem sido uma alternativa utilizada na conservação, em laboratórios de anatomia animal, seja para estudos anatômicos e ou para o aprimoramento de técnicas de habilidades cirúrgicas (OLIVEIRA, 2014; ROCHA, 2016). No estudo de Hayashi *et al.* (2014), a preservação em solução saturada de NaCl impediu o crescimento de bactérias e manteve a flexibilidade das articulações dos cadáveres, além de uma excelente qualidade dos tecidos. Com relação à qualidade de conservação das peças anatômicas, o esperado é que apresente tecidos firmes, cor e elasticidade próximas ao animal recém eutanasiado, além da ausência de odor de putrefação (INÁCIO *et al.*, 2018). No presente estudo, nenhum dos grupos salínicos (SPT1, SPT2, SCT1 e SCT2) apresentou odor de decomposição. Somente os grupos conservados em formol (FoT1 e FoT2) apresentaram odor, porém característico da própria formalina. Com relação a sinais de autólise, SPT1 e SCT2 foram os grupos que apresentaram peças com essas características, cerca de 40% delas. Nos demais grupos salínicos (SPT2 e SCT1) a ocorrência foi menor que 10% de seus espécimes. Em contrapartida, nenhuma peça dos grupos conservados em formol (FoT1 e FoT2) apresentou aspecto de autólise tecidual.

No estudo de Guaraná *et al.* (2021), a salina 30% foi utilizada na conservação de vísceras suínas, por 7, 14 e 21 dias, com a finalidade de treinamento de habilidades cirúrgicas. Neste caso, o agente fixador utilizado foi o álcool etílico 99,8%. As peças ficaram bem preservadas, com uma aparência próxima à normal e sem odores de decomposição. Segundo Who (1991), o uso da solução salina como conservante em cadáveres fixados em álcool, além de não gerar efluentes tóxicos, são livres de odores, ao contrário do formol, que é nocivo à saúde (CURY; CENSONI; AMBRÓSIO, 2013). Já, quanto à coloração dérmica, no presente estudo, houve variação entre os grupos salínicos (SPT1, SCT1 e SCT2), mais de 50% das peças ficaram arroxeadas, com exceção de SPT2, cuja coloração permaneceu próxima ao normal, acima de 90%. Com relação às manchas, o grupo que apresentou um maior número de espécimes nessa condição foi o SPT1, seguido de SCT2 e, por último, SPT2 e SCT1. Os grupos conservados em formol foram os que menos apresentaram manchas.

No trabalho de Hayashi *et al.* (2016), a solução salina utilizada no embalsamamento

de cadáveres proporcionou articulações mais flexíveis do que os fixados em formalina. Porém, menos flexíveis quando comparados à solução de Thiel. Os cadáveres fixados em formol a 10% possuem várias desvantagens como o cheiro irritante às mucosas, alteração de cor e rigidez (BILGE; CELIK, *et al.*, 2017), além do aumento da massa corporal e escurecimento das peças (KRUG, 2011; BRENNER, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2014; BILGE; CELIK, 2017). No estudo de Silva (2018), a solução salina 30% foi utilizada na conservação de corações de galinha fixados em formol 10%. As peças foram avaliadas em três e seis meses. Observou-se aumento da massa corporal, ausência de odor e sem alteração no comprimento, já a coloração sofreu um leve escurecimento. No presente estudo, os ratos Wistar tenderam a aumentar a massa corporal e a diminuir o comprimento nasoanal e nasocaudal no intervalo de tempo inicial e final (120 dias) em todos os grupos. As peças conservadas em salina, de ambos os grupos (SPT1, SPT2, SCT1 e SCT2), ficaram mais escuras do que as conservadas em formol, além da pelagem ter assumido uma coloração amarelada.

Estudos realizados por Brun *et al.* (2002, 2004), em pericárdio canino conservado em solução salina obtiveram tecidos com características morfológicas inalteradas e livres de contaminação por microrganismos. No trabalho de Oliveira (2014), a conservação em salina 30%, não apresentou contaminação visual ou deterioração dos espécimes, houve ausência de odores característicos de decomposição, inalterações na cor ou na maciez dos tecidos.

Nos estudos de Nam *et al.* (2020) e Beger *et al.* (2020), os cadáveres preservados em solução salina 30% mantiveram a cor, a textura, o movimento articular e a flexibilidade bem próximas ao *in natura*, quando comparados às peças preservadas em formalina. No trabalho de Balta *et al.* (2019) constataram que os cadáveres embalsamados com formol apresentaram diminuição da amplitude de movimento, mas mantiveram a forma e o tamanho dos órgãos e vasos internos, embora houvesse indicação de mais estudos com um número maior de cadáveres para confirmação de tais achados. Já no presente estudo, todos os grupos avaliados apresentaram rigidez articular, acima de 90% das peças anatômicas. Embora, não se tenha avaliado o grau de rigidez dos espécimes, apenas presença ou não, os grupos do formol foram perceptivelmente mais acentuados que os demais. Já a rigidez muscular variou entre os grupos. Em SPT2 cerca de 90% das peças apresentaram rigidez muscular, seguido de SPT1, SCT1 e SCT2, um pouco acima de 60% das peças. Em FoT1 e FoT2, todos os espécimes, também, apresentaram uma rigidez muscular de membros superiores e inferiores bem mais acentuada que os grupos salínicos.

As peças dos grupos salínicos, independente dos animais serem expostos ou não, apresentaram mais manchas e escurecimento dérmico com relação aos grupos do formol. Já as

articulações e músculos apresentaram uma rigidez bem mais branda do que as observadas nos grupos do formol.

Com relação à qualidade morfológica das peças, ao que tudo indica, a conservação das carcaças de ratos Wistar em solução salina 30%, tanto P.A. quanto Comercial, parece estar intimamente relacionada à etapa anterior, a fixação, do que com o tipo de cloreto de sódio utilizado. A salina comercial 30% apresentou parâmetros morfológicos discretamente melhores do que os da salina P.A. 30%, justamente por ter apresentado peças com uma fixação melhor. A qualidade de preservação das peças parece ser dependente da qualidade e do tempo de fixação em formalina empregados. Há, contudo, a necessidade de mais estudos a fim de avaliar melhor esse parâmetro observado.

6.2 Microrganismos encontrados nas soluções conservantes

O controle fúngico sempre foi um problema para a conservação de peças anatômicas em geral. Essa resistência é relatada em trabalhos antigos como o de Solomon (1975), em que os fungos apresentaram maior resistência ao formol quando comparados às bactérias. O *Aspergillus niger*, por exemplo, era mais resistente que a levedura *Candida albicans*. E os esporos de *Aspergillus sp.* são encontrados predominantemente em ambientes internos e podem penetrar nas estruturas e contaminá-las. No estudo de Spicher e Peters (1976), as bactérias e fungos mais comumente observados em soluções conservantes contaminadas foram *Pseudomonas sp.* e *Aspergillus sp.*, respectivamente.

Os diferentes microrganismos presentes na solução salina 30% P.A. e comercial foram reduzidos consideravelmente e/ou eliminados ao longo dos 120 dias, provavelmente pela hiperosmolaridade do meio (NISSENBAUM, 1975; OLIVEIRA, 2014). A salina 30% gera um ambiente muito hostil à sobrevivência da maioria dos microrganismos, pois exige uma grande capacidade osmorreguladora, como o que ocorre nos oceanos (GAUTHIER *et al.*, 1987; MUNRO *et al.*, 1989) e no Mar morto (NISSENBAUM, 1975), inviabilizando a sobrevivência da maioria dos microrganismos.

No estudo de Oliveira (2014), a salina 30% conservou com sucesso as peças animais de vários portes, sem aparente contaminação visual por microrganismos por mais de 5 anos de acompanhamento, demonstrando a eficiência da salina no processo de desidratação e eliminação dos microrganismos. Neste caso, as peças foram fixadas em formol 20%, mantidas por sete dias em formalina 10% e conservadas em salina 30%. No estudo de Brun *et al.* (2002), a conservação de pericárdio canino, mantido por cerca de 90 dias em solução supersaturada de

cloreto de sódio (1,5g de NaCl/1mL de H₂O tridestilada), também foi descrita como livre de contaminação microbiológica. Já no estudo de Pereira *et al.* (2019), a conservação, em solução aquosa de NaCl 30%, de cadáveres caninos apresentou baixa contagem de microrganismos para os gêneros *Bacillus*, *E. coli* e *Pseudomonas*, sem contaminação aparente à inspeção visual nos tanques e nos cadáveres, além da ausência de odor de putrefação. Neste caso, as peças foram fixadas em 30, 60, 90 e 120 dias, em 95% de álcool etílico 96° GL e 5% de glicerina pura, conservadas em salina 30% por 120 dias. No presente trabalho, as soluções conservantes, no geral, eliminaram a maior parte dos microrganismos após os 120 dias, com exceção dos fungos, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium brevicompactum*, F8 (não identificado) e das bactérias, *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis*. Neste caso, as peças foram fixadas em formol 10% e mantidas por sete dias nessa solução e conservadas por 120 dias em salina 30%.

O *Cladosporium cladosporioides* é um fungo sapróbio cosmopolita, presente no ar, no solo e em têxteis (BENSCH, 2010). As infecções, em sua maioria, são casos superficiais, acometem anfíbios, répteis, aves, peixes, animais domésticos e o homem, causando uma série de condições clínicas como, cromoblastomicose e micetoma (COLDRICK *et al.*, 2007; FRANK.; VEMULAPALLI; LIN, 2011; SEYEDMOUSAVI; GUILLOT; DE HOOG, 2013), mais raramente, acomete o Sistema Nervoso Central (SNC) em humanos (KANTARCIOĞLU; YÜCEL; DE HOOG, 2002) e feohifomicose grave (MATSUMOTO *et al.*, 1994).

Um dos microrganismos que chamou a atenção pela resistência à salina 30%, foi o fungo *C. cladosporioides*, mantendo-se presente na maior parte do tempo, em baixas concentrações, em todos os grupos analisados e ao final dos 120 dias, aumentou consideravelmente em SPT2, SCT1 e SCT2, indicando a necessidade de substituição da solução por uma nova, a fim de manter a qualidade de conservação das peças e diminuir os potenciais riscos biológicos aos manipuladores e a degradação do material anatômico. Diferente do observado em SPT1, cuja concentração do *C. cladosporioides* manteve-se baixa no decorrer dos 120 dias, cerca de 4% em comparação ao encontrado nos demais grupos salínicos. Nos grupos do formol 10% (FoT1 e FoT2), o *C. cladosporioides* surgiu apenas na última análise, no final dos 120 dias, e permaneceu em baixas concentrações, também em cerca de 4% dos achados observados nos grupos salínicos de SPT2, SCT1 e SCT2.

Penicillium brevicompactum surgiu em SPT1 e SPT2 a partir da segunda análise microbiológica (em 40 dias), permanecendo em baixas concentrações até o final do experimento. Em SCT1 e SCT2 foi detectado, também, a partir da 2ª análise (em 40 dias) e na última (em 120 dias), não apareceu mais nas amostras, indicando eliminação a partir dos 120 dias pelas soluções salínicas. Em FoT1 e FoT2 esse fungo não foi detectado em nenhuma

análise microbiológica.

Penicillium brevicompactum é um fungo filamentoso fitopatogênico de baixa virulência, muito comum em frutas e vegetais, deteriorando maçãs e uvas armazenadas, cogumelos, mandioca e batatas. Possui crescimento lento tanto em meio Czapeck Yeast Extrat (CYA) quanto em Malt Extract Agar (MEA), formando colônias verdes opacas após sete dias a 25 °C com exsudado castanho. Cresce entre -2 °C e 30 °C com um ótimo próximo a 23 °C. Ele produz o ácido micofenólico que é uma micotoxina fraca, improvável de ser importante em alimentos (PITT; HOCKING, 1997).

Bacillus subtilis esteve presente em todas as análises microbiológicas do grupo SPT1, sempre em baixas concentrações. Esteve presente na primeira (em zero dias) e terceira (em 80 dias) análises em SPT2, SCT1 e SCT2, indicando eliminação em 120 dias. E não foi encontrado nas amostras dos grupos FoT1 e FoT2.

Bacillus subtilis é pertencente à família Bacillaceae e ordem Eubacteria. É Gram-positivo não patogênico, saprófita (VLAMAKIS *et al.*, 2013). É aeróbico, porém em ambientes escassos de oxigênio, consegue se desenvolver de forma anaeróbica (CLEMENTS *et al.*, 2002). Com uma vasta aplicação em áreas relacionadas à biotecnologia, que vão desde estudos com biofilmes, a produção de antibióticos, enzimas e etc... É amplamente adaptado, capaz de crescer em variados ambientes, como solo, raízes de plantas e trato gastrointestinal de animais (EARL; LOSICK; KOLTER, 2008). Na biotecnologia é utilizado para manter e/ou aumentar a produtividade de culturas sob condições de estresse biótico e abiótico (HASHIM *et al.*, 2019). E o gene ProBA desse bacilo foi identificado como tolerante ao sal, podendo ser usado para produzir plantas transgênicas tolerantes ao estresse salino, através de biotecnologia avançada (ABBAS *et al.*, 2019). As infecções em humanos são pouco frequentes e estão relacionadas ao consumo frequente e em alta quantidade de alimentos e ou pão com aspecto ‘pegajoso’, podendo levar danos ao fígado (LOGAN, 2012).

Conforme Logan (2009), o crescimento de *B. subtilis* é possível na presença de até 7% de NaCl, algumas linhagens toleram concentrações em 10% desse sal. Diferente do observado nas soluções salinas 30% do grupo SPT1, em que essa espécie se manteve presente no decorrer dos 120 dias do experimento.

Bacillus megaterium surgiu na terceira análise microbiológica (em 80 dias) somente nos grupos SPT1, SCT1 e SCT2, indicando eliminação em 120 dias. Esse bacilo não foi encontrado nos demais grupos no decorrer do experimento.

Bacillus megaterium é uma bactéria Gram-positiva, aeróbia, formadora de esporos em forma de bastonetes, presente em diferentes habitats (VARY *et al.*, 2007). As infecções

por esses bacilos são raras. Os achados estão relacionados ao olho (RAMOS-ESTEBAN, 2006), à pele (DUNCAN; SMITH, 2011), ao cérebro (GUO *et al.*, 2015) e, em um relato de caso, envolvendo pleurite (CRISAFULLI *et al.*, 2019). Atualmente, o bacilo tem sido utilizado como agente de controle biológico de pragas em cultura de arroz, reduzindo o uso de pesticidas (KANJANAMANEESATHIAN *et al.*, 2009) e contra doenças fúngicas no pós-colheita, causados pelo *Aspergillus flavus* (KONG *et al.*, 2010). Na biotecnologia tem sido utilizado como fonte de proteína recombinante (VARY *et al.*, 2007).

Dietzia cercidiphylli apareceu apenas no grupo SCT2 em 0 dias, desaparecendo nas análises subsequentes, confirmando a baixa tolerância a soluções supersaturadas de cloreto de sódio 30%. Não foi detectada a presença dessa bactéria nos demais grupos salínicos e no formol 10%.

As bactérias *Dietzia* spp. são aeróbicas, Gram-positivas, não móveis, não formadoras de esporos e não ácido-resistentes. As bactérias desse gênero são encontradas em ambientes marinhos, hospitalares e no solo (NIWA *et al.*, 2012). Há poucos relatos de infecções clínicas envolvendo-as. Observaram-se infecções por *D. maris* associada à bacteremia (BEMER-MELCHIOR *et al.*, 1999), à prótese de quadril (PIDOUX *et al.*, 2001) e em região de dissecação aórtica (REYES *et al.*, 2006). Quanto à *Dietzia cercidiphylli* não há associação relacionada a infecções humanas, diferente da *D. natronolimnaea* (PILARES *et al.*, 2010). Há estudos com indicações futuras da utilização do *Dietzia cercidiphylli* C-1 na biorremediação de solo contaminado com óleo extrapesado (DAI; YAN; GUO, 2017). *Dietzia* spp. são tolerantes até 10% de NaCl e crescem em temperaturas entre 10 e 37 °C, sendo a temperatura ótima de crescimento em torno de 28 °C (LI *et al.*, 2008).

O *Citrobacter freundii* foi encontrado apenas na terceira análise microbiológica (em 80 dias) do grupo SPT1, sendo eliminada na análise subsequente, mostrando ser pouco tolerante a ambientes salínicos supersaturados. O gênero *Citrobacter*, da família Enterobacteriaceae, possui 13 espécies, até o momento. Destas, a *Citrobacter freundii* e *Citrobacter koseri* estão entre as que mais causam infecções em humanos e animais, além de estar presente em diversas fontes ambientais (PORRES-OSANTE *et al.*, 2015).

Citrobacter freundii é um bacilo Gram-negativo oportunista (ANDERSON *et al.*, 2018), não esporulado, anaeróbio facultativo, móvel e possui flagelos (JANDA *et al.*, 1994). Podem ser isolados de vários ambientes como alimentos, água, esgoto e solo (LIU *et al.*, 2017). Causam um amplo espectro de infecções em tratos gastrointestinal, urinário e respiratório, infecções em feridas, abscessos e corrente sanguínea (SAMONIS *et al.*, 2009; HAMMERUM *et al.*, 2016; JIMÉNEZ *et al.*, 2017; ANDERSON *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2018; PLETZ *et al.*,

2018), além de intoxicação alimentar humana e diarreia (BAI *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2017). Em casos mais graves, podem levar a septicemias e meningite em neonatos e endocardites (SAMONIS *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2018). É comum encontrá-lo colonizando o trato intestinal de animais vertebrados, incluindo humanos (ARANA *et al.*, 2017). Em suínos, a *Citrobacter freundii* afeta a saúde e o desempenho do crescimento na fase de desmame ao desequilibrar a formação e manutenção da microbiota intestinal (HIDAYATULLAH *et al.*, 2020).

Paenibacillus etheri foi encontrado em SPT2 nos intervalos de 40 e 80 dias, sendo eliminado após os 120 dias. As bactérias do gênero *Paenibacillus* são saprófitas, vivem, normalmente, no solo, mas podem ser isolados de hemoculturas de escarro humano, raízes e sementes de plantas, alimentos, solo agrícola ou solos minerais (BERGE *et al.*, 2002; ROUX; RAOULT, 2004; SCHELDEMAN *et al.*, 2004). Algumas espécies estão envolvidas na degradação de poluentes ambientais como hidrocarboneto aromático, xilana e naftaleno (DAANE *et al.*, 2002; KHIANNINGAM *et al.*, 2011).

O gênero *Paenibacillus* abrange aproximadamente 200 espécies até o momento, incluindo habitats de solo, água doce, humanos e rizosfera de plantas. As células são bastonetes móveis, Gram-positivas, anaeróbios facultativos. As colônias são creme, ovóides, lisas com margens inteiras irregulares. O crescimento é observado em pH entre 7–8, temperatura entre 5–50 °C, com tolerância máxima ao NaCl de 0,8 %. As condições ideais para o crescimento são em um pH em torno de 7,5, 0 % NaCl e 30 °C (GUISADO *et al.*, 2016). O *P. etheri* apresenta potencial para ser usado em tecnologias relacionadas à biorremediação pela capacidade que possui em degradar o éter metil terc-butílico (GUISADO *et al.*, 2015).

Aspergillus fumigatus foi encontrado em SPT1 e SPT2 em 80 dias do experimento, sendo eliminado após os 120 dias. Em SCT1 e SCT2 apareceu em 40 e 80 dias, sendo eliminado após 120 dias. E em FoT1 e FoT2 não foi detectada a presença desse microrganismo no decorrer do experimento, confirmando a ação bactericida e fungicida do formol, segundo Krug (2011).

Aspergillus fumigatus pertence ao gênero *Aspergillus*, possuem bom crescimento a 37 °C e esporos que podem sobreviver à exposição a temperaturas de até 70°C (ALBRECHT *et al.*, 2010). É um fungo saprotrófico encontrado comumente no solo, embora se adapte e prolifere em ambientes hostis. É considerado um patógeno oportunista responsável por infecções pulmonares agressivas desencadeando quadros de morbidade e mortalidade (LATGÉ; CHAMILOS, 2019). Podem levar a uma variedade de reações alérgicas e infecções sistêmicas com risco de vida em humanos (PAULUSSEN *et al.*, 2017). A colonização por *A. fumigatus* acomete cerca de 30% dos pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) (PASHLEY *et al.*, 2012), sendo potencialmente mais grave em indivíduos

imunodeficientes, podendo levar à morte (STEINBACH *et al.*, 2012).

As infecções pulmonares por *A. fumigatus* são ocasionadas pela inalação de esporos presentes no ar, vindos de ambientes internos e externos, cuja concentração varia entre 1 e 100 esporos por m³, podendo chegar até a 108 conídios por m³ conforme o ambiente (WÉRY, 2014). Essa espécie é responsável por um espectro de doenças, incluindo aspergilose broncopulmonar alérgica, aspergilose pulmonar crônica e aspergilose invasiva (DENNING *et al.*, 2011; KOSMIDIS; DENNING, 2015).

Penicillium brevicompactum surgiu a partir da segunda análise (em 40 dias) no grupo SPT1 e permaneceu, em baixas concentrações, após os 120 dias. Em SPT2 foi detectada na segunda (em 40 dias) e quarta análise (em 120 dias). Em SCT1 e SCT2 surgiu por volta da 2ª análise (em 40 dias) e foi eliminada após os 120 dias. Não houve ocorrência nos grupos FoT1 e FoT2.

Penicillium brevicompactum é um fungo filamentosos fitopatogênico de baixa virulência, muito comum em frutas e vegetais, deteriorando maçãs e uvas armazenadas, cogumelos, mandioca e batatas. Possui crescimento lento tanto em meio Czapeck Yeast Extrat (CYA) quanto em Malt Extract Agar (MEA), formando colônias verdes opacas após sete dias a 25 °C com exsudado castanho. Ele cresce entre -2 °C e 30 °C com um ótimo próximo a 23 °C. O *P. brevicompactum* produz o ácido micofenólico uma micotoxina fraca, improvável de ser importante em alimentos (PITT; HOCKING, 1997).

O *Aspergillus versicolor* surgiu nos grupos SCT1, apenas na terceira análise (em 80 dias) e em FoT2 na primeira análise (0 dias), sendo eliminado em ambos após os 120 dias. Nos demais grupos não houve a ocorrência desse fungo. *Aspergillus versicolor* é uma espécie comum de ser isolado da poeira do ar, de plantas, solo e hábitat marinho (CORRÊA, 2003; FOMICHEVA; VASILENKO; MARFENINA, 2006). São aeróbicos (GEISER *et al.*, 2007) e suportam uma ampla faixa de temperatura, que varia entre 4 a 40 °C, a temperatura ótima de crescimento fica em torno de 22 a 26°C. Resiste a uma variada faixa de pH e/ou de salinidade, além de conseguir sobreviver a hábitats muito secos (PASANEN *et al.*, 1997; FOMICHEVA; VASILENKO; MARFENINA, 2006; PIONTEK; LUSZCZYŃSKA; LECHÓW, 2016). Muitas espécies de *Aspergillus* suportam entre 10 a 50 °C, pH entre 2 a 11 e salinidade entre 0 a 34% (MEYER *et al.*, 2011).

As linhagens de *Aspergillus* são bem utilizadas, principalmente como microrganismos industriais em diversos processos fermentativos para a produção de alimentos humanos e animais (SAMSON *et al.*, 2005). É bastante comum de serem contaminantes de alimentos, grãos, sementes e conservas, levando a perdas econômicas consideráveis

(SEPÚLVEDA; PIONTELLI, 2005; ANAYA VILLALPANDA *et al.*, 2014), e, por fim, há relatos de infecções relacionadas ao ouvido (ISMAIL; AL-KAFRI; ISMAIL, 2017).

6.3 Aspecto das soluções conservantes após 120 dias

Com relação ao aspecto das soluções após os 120 dias, nenhum dos grupos apresentou odor de putrefação e ou alteração de viscosidade, porém houve variação significativa de coloração da solução apenas entre os grupos salínicos. Esta característica, entretanto, não influenciou na qualidade de conservação das peças. A ocorrência da alteração do odor e da viscosidade e ou a presença de microrganismos seriam fortes indicativos da necessidade de substituição da solução salina 30% por uma nova.

6.4 Custo da salina P.A. 30% versus a salina comercial 30%

Hayashi *et al.* (2014) relataram o baixo custo de manutenção do embalsamamento de cadáveres por solução salina, utilizados por algumas semanas para o treinamento de habilidades cirúrgicas, além do baixo risco de infecção. E Wolff *et al.* (2008) mencionam, na época, que o custo financeiro da solução salina foi de cerca de 10% das despesas com o formaldeído. Nos dias atuais, o preparo da salina 30% com o sal comercial, considerando 10 L dessa solução, corresponderia a aproximadamente 27% dos gastos no preparo da formalina 10% nessa mesma quantidade. Já o custo de 10 L de solução salina 30% P.A. seria em torno de 418%, sendo financeiramente inviável, como informado na Tabela 9.

Tabela 9 – Preços dos produtos químicos referentes a dezembro de 2022

Material	Unidade	Custo(R\$)	(R\$) 10 L/Solução
NaCl P.A. 30%	1Kg	R\$ 39,00	R\$ 117,00
NaCl comercial 30%	1Kg	R\$ 2,50	R\$ 7,69
Formol 10%	1L	R\$ 28,00	R\$ 28,00

Fonte: elaborada pela autora, 2023.

6.5 Limitações do trabalho

A etapa de fixação, em formol a 10%, dos animais não ficou homogênea, algumas peças apresentaram sinais de autólise antes da etapa de preservação, o que refletiu na qualidade

final da conservação dos espécimes nos grupos em que compuseram.

Uma outra limitação do trabalho foi ter considerado, no desenho experimental, apenas um avaliador para as análises morfométricas e morfológicas, principalmente esta última, pelos critérios subjetivos relacionados à percepção olfativa, visual e tátil nas avaliações inicial e final da conservação das peças.

Outro fator limitante foi a falta de reagentes e equipamentos para a realização das análises microbiológicas, o que acabou por atrasar o cronograma de execução e limitou o número de microrganismos a serem identificados. Priorizou-se os que persistiram ao longo do experimento nas soluções conservantes após os 120 dias, destes apenas um não foi possível a identificação, porque o microrganismo não se desenvolveu nas repicagens para purificação da linhagem.

7 CONCLUSÕES

Embasado pelos resultados apresentados no presente trabalho, pode-se inferir que a solução salina 30% é uma boa alternativa para conservação de espécimes anatômicos. Observando os aspectos morfológicos, os grupos salínicos apresentaram resultados satisfatórios, apesar de variações tanto na conservação das peças, quanto na eliminação de microrganismos. Contudo, o formol continua sendo o padrão ouro em ambos os aspectos, exceto nos parâmetros de rigidez articular e muscular.

Considerando os aspectos morfométricos, como não houve diferença entre o formol 10% e as soluções salínicas 30%, a salina de menor custo financeiro poderia ser uma opção de uso no laboratório de anatomia humana.

Com relação aos aspectos organolépticos das soluções não houve diferença entre os grupos do formol e os grupos salínicos, exceto quanto à coloração final destes. Este parâmetro não foi um indicativo de necessidade de substituição da solução.

Com relação ao meio ambiente, à saúde dos manipuladores, e pensando em um laboratório mais salubre e sustentável, os benefícios do uso da salina se sobrepõem aos custos, já que os resíduos dessa solução são atóxicos. Não sendo necessária a contratação de empresa especializada para descarte, já que, após sanitização com hipoclorito de sódio, pode-se descartá-la no esgoto comum. Essa medida reduziria, em partes, o impacto financeiro e os riscos ambientais.

Outro custo/benefício da utilização da salina comercial 30% na conservação anatômica foi a eliminação de um número maior de morfotipos bacterianos e fúngicos em relação aos grupos da salina P.A. 30%, embora o fungo *Cladosporium cladosporioides* tenha crescido mais acentuadamente após os 120 dias, principalmente nos grupos da salina comercial 30%, sendo um indicativo importante da necessidade de substituição da solução.

E por fim, com relação aos microrganismos patogênicos encontrados nas soluções salínicas a 30% durante o experimento, exigem reforço e rigor no uso dos equipamentos de proteção individual (EPI), assim como durante o uso da formalina. Sendo necessária a utilização de máscara para vapores e para microrganismos, o uso de óculos de proteção e luvas, não só para minimizar o contato com o formol, bem como com os microrganismos, a fim de preservar a saúde dos profissionais, tanto dos potenciais riscos de contaminação por agentes químicos quanto por agentes biológicos.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, R. *et al.* Halotolerant PGPR: A hope for cultivation of saline soils. **Journal of King Saud University-Science**, v. 31, n. 4, p. 1195-1201, 2019.
- ALBRECHT, D. *et al.* Integrative analysis of the heat shock response in *Aspergillus fumigatus*. **BMC genomics**, v. 11, n. 1, p. 1-17, 2010.
- ANAYA VILLALPANDA, M. *et al.* Aeromicrobiota de un depósito de alimentos en La Habana, Cuba. **Augmdomus**, v. 6, 2014.
- ANDERSON, M. T. *et al.* *Citrobacter freundii* fitness during bloodstream infection. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-14, 2018.
- ARANA, D. M. *et al.* Carbapenem-resistant *Citrobacter* spp. isolated in Spain from 2013 to 2015 produced a variety of carbapenemases including VIM-1, OXA-48, KPC-2, NDM-1 and VIM-2. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 72, n. 12, p. 3283-3287, 2017.
- BAI, L. *et al.* Isolation and characterization of cytotoxic, aggregative *Citrobacter freundii*. **PLoS One**, v. 7, n. 3, p. e33054, 2012.
- BALTA, J. Y. *et al.* A comparison of embalming fluids on the structures and properties of tissue in human cadavers. **Anatomia, histologia, embryologia**, v. 48, n. 1, p. 64-73, 2019.
- BALTA, J. Y. *et al.* Human preservation techniques in anatomy: a 21st century medical education perspective. **Clinical Anatomy**, v. 28, n. 6, p. 725-734, 2015.
- BALTA, J. Y.; LAMB, C.; SOAMES, R. W. A pilot study comparing the use of Thiel-and formalin-embalmed cadavers in the teaching of human anatomy. **Anatomical sciences education**, v. 8, n. 1, p. 86-91, 2015.
- BEGER, O. *et al.* Effects of different cadaver preservation methods on muscles and tendons: a morphometric, biomechanical and histological study. **Anatomical science international**, v. 95, n. 2, p. 174-189, 2020.
- BEMER-MELCHIOR, P. *et al.* Bacteremia due to *Dietzia maris* in an immunocompromised patient. **Clinical infectious diseases**, v. 29, n. 5, p. 1338-1340, 1999.
- BENSCH, K. Species and ecological diversity within the *Cladosporium cladosporioides* complex (Davidiellaceae, Capnodiales). **Stud Mycol**, v. 67, p.1-94, 2010.
- BERGE, O. *et al.* *Paenibacillus graminis* sp. nov. and *Paenibacillus odorifer* sp. nov., isolated from plant roots, soil and food. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, n. 2, p. 607-616, 2002.
- BILGE, O.; CELIK, S. Cadaver embalming fluid for surgical training courses: modified Larssen solution. **Surgical and Radiologic Anatomy**, v. 39, n. 11, p. 1263-1272, 2017.
- BONO, R. *et al.* Formaldehyde-induced toxicity in the nasal epithelia of workers of a plastic laminate plant. **Toxicology Research**, v. 5, n. 3, p. 752-760, 2016.
- BRENNER, E. Human body preservation—old and new techniques. **Journal of anatomy**, v. 224, n. 3, p. 316-344, 2014.
- BRUN, M. V. *et al.* Solução hipersaturada de sal como conservante de pericárdio canino utilizado na

reparação do músculo reto abdominal de ratos Wistar. **Ciência Rural**, v. 32, p. 1019-1025, 2002.

BRUN, M. V. *et al.* Solução hipersaturada de sal ou de glicerina a 98% como conservantes de centros frênicos caninos utilizados na reparação de defeitos musculares em ratos wistar. **Ciência Rural**, v. 34, p. 147-153, 2004.

BURNS, D. M. *et al.* O método de embalsamamento de cadáveres com solução salina saturada melhora o treinamento de habilidades cirúrgicas ortopédicas. **JBJS**. v.100, n. 15, p.e 104, 2018.

BUZINA, W. *et al.* Bipolaris spicifera causes fungus balls of the sinuses and triggers polypoid chronic rhinosinusitis in an immunocompetent patient. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 10, p. 4885-4887, 2003.

CHENG, J. *et al.* The toxicity of continuous long-term low-dose formaldehyde inhalation in mice. **Immunopharmacology and immunotoxicology**, v. 38, n. 6, p. 495-501, 2016.

CLEMENTS, L. D.; MILLER, B. S.; STREIPS, U. N. Comparative growth analysis of the facultative anaerobes *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, and *Escherichia coli*. **Systematic and applied microbiology**, v. 25, n. 2, p. 284-286, 2002.

COLDRICK, O. *et al.* Fungal pyelonephritis due to *Cladophialophora bantiana* in a cat. **Veterinary Record**, v. 161, n. 21, p. 724-728, 2007.

COLEMAN, R; KOGAN, I. An improved low-formaldehyde embalming fluid to preserve cadavers for anatomy teaching. **The Journal of Anatomy**, v. 192, n. 3, p. 443-446, 1998.

CONOVER, W. J. **Practical nonparametric statistics**. John Willey & Sons, 1999.

CORRÊA, W. R. **Isolamento e identificação de fungos filamentosos encontrados em peças anatômicas conservadas em solução de formol a 10%**. 59 f. 2003. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2003.

CRISAFULLI, E. *et al.* Pleuritis with pleural effusion due to a *Bacillus megaterium* infection. **Respirology Case Reports**, v. 7, n. 1, p. e00381, 2019.

CURY, F. S.; CENSONI, J. B.; AMBRÓSIO, C. E. Técnicas anatômicas no ensino da prática de anatomia animal. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 5, n. 33, p. 688-696, 2013.

DAANE, L. L. *et al.* PAH-degradation by *Paenibacillus* spp. and description of *Paenibacillus naphthalenovorans* sp. nov., a naphthalene-degrading bacterium from the rhizosphere of salt marsh plants. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 52, n. 1, p. 131-139, 2002.

DAI, X.; YAN, G.; GUO, S. Characterization of *Dietzia cercidiphylli* C-1 isolated from extra-heavy oil contaminated soil. **Rsc Advances**, v. 7, n. 32, p. 19486-19491, 2017.

DENNING, D. W. *et al.* High-frequency triazole resistance found in nonculturable *Aspergillus fumigatus* from lungs of patients with chronic fungal disease. **Clinical infectious diseases**, v. 52, n. 9, p. 1123-1129, 2011.

DÍAZ, M. P. *et al.* Isolation and characterization of novel hydrocarbon-degrading euryhaline consortia from crude oil and mangrove sediments. **Marine Biotechnology**, v. 2, n. 6, p. 522-532, 2000.

DUNCAN, K. O.; SMITH, T. L. Primary cutaneous infection with *Bacillus megaterium* mimicking cutaneous anthrax. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 65, n. 2, p. e60-e61, 2011.

EARL, A. M.; LOSICK, R.; KOLTER, R. Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. **Trends in microbiology**, v. 16, n. 6, p. 269-275, 2008.

FAIRS, A. *et al.* Isolation of *Aspergillus fumigatus* from sputum is associated with elevated airborne levels in homes of patients with asthma. **Indoor Air**, v. 23, n. 4, p. 275-284, 2013.

FERREIRA, J. R. *et al.* Economic, human and environmental health benefits of replacing formaldehyde in the preservation of corpses. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 145, p. 490-495, 2017.

FOMICHEVA, G. M.; VASILENKO, O. V.; MARFENINA, O. E. Comparative morphological, ecological, and molecular studies of *Aspergillus versicolor* (Vuill.) *Tiraboschi* strains isolated from different ecotopes. **Microbiology**, v. 75, n. 2, p. 186-191, 2006.

FRANK, C.; VEMULAPALLI, R.; LIN, T. Cerebral phaeohyphomycosis due to *Cladophialophora bantiana* in a *Huacaya alpaca* (*Vicugna pacos*). **Journal of comparative pathology**, v. 145, n. 4, p. 410-413, 2011.

GAUTHIER, M. J.; MUNRO, P. M.; MOHAJER, S. Influence of salts and sodium chloride on the recovery of *Escherichia coli* from seawater. **Current Microbiology**, v. 15, n. 1, p. 5-10, 1987.

GEISER, D. M. *et al.* The current status of species recognition and identification in *Aspergillus*. **Studies in mycology**, v. 59, n. 1, p. 1-10, 2007.

GOSOMJI, I. *et al.* Saturated salt solution an alternative reagent in reducing formaldehyde concentration in embalming. **MOJ Anatomy & Physiology**. v. 5, n. 3, p. 205– 207, 2018.

GROSCURTH, P. *et al.* Gross anatomy in the surgical curriculum in Switzerland: improved cadaver preservation, anatomical models, and course development. **The Anatomical Record: An Official Publication of the American Association of Anatomists**, v. 265, n. 6, p. 254-256, 2001.

GUARANÁ, J. B. *et al.* Swine viscera preservation in hypersaturated salt solution after alcohol fixation as a preparation method for educational purposes. **Anatomia, Histologia, Embryologia**, v. 50, n. 6, p. 996-1006, 2021.

GUASTALLI, B. H. L. *et al.* Mensuração da textura de tecido muscular fixado e conservado em solução aquosa de formaldeído por 45 dias. In: **34º Congresso Brasileiro de Veterinária, Santos, SP**. 2007.

GUISADO, I. M. *et al.* *Paenibacillus etheri* sp. nov., able to grow on media supplemented with methyl tert-butyl ether (MTBE) and isolated from hydrocarbon-contaminated soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 66, n. 2, p. 862-867, 2016.

GUISADO, I. M. *et al.* Physiological and genetic screening methods for the isolation of methyl tert-butyl ether-degrading bacteria for bioremediation purposes. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 97, p. 67-74, 2015.

GUO, F. P. *et al.* Brain abscess caused by *Bacillus megaterium* in an adult patient. **Chinese Medical Journal**. v.128, n.11, p. 1552-4, 2015.

GUO, S. *et al.* Echogenic regional anaesthesia needles: a comparison study in Thiel

cadavers. **Ultrasound in medicine & biology**, v. 38, n. 4, p. 702-707, 2012.

HAMMERUM, A. M. *et al.* Use of WGS data for investigation of a long-term NDM-1-producing *Citrobacter freundii* outbreak and secondary in vivo spread of blaNDM-1 to *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 71, n. 11, p. 3117-3124, 2016.

HASHEM, A. *et al.* *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. **Saudi journal of biological sciences**, v. 26, n. 6, p. 1291-1297, 2019.

HAYASHI, S. *et al.* History and future of human cadaver preservation for surgical training: from formalin to saturated salt solution method. **Anatomical science international**, v. 91, n. 1, p. 1-7, 2016.

HAYASHI, S. *et al.* Saturated salt solution method: a useful cadaver embalming for surgical skills training. **Medicine**, v. 93, n. 27, 2014.

HIDAYATULLAH, A. R. *et al.* A Review of the opportunistic pathogen *Citrobacter freundii* in piglets post weaning: Public Health Importance. **Sys Rev Pharm**, v. 11, n. 9, p. 767-773, 2020.

IARC, 2012. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans volume 100F: a review of human carcinogens: chemical agents and related occupations. Michael Addit. Formaldehyde, 2012.

INÁCIO, M. C. P. *et al.* Conservação de carcaças a base de formaldeído comparando a eficácia do armazenamento sob refrigeração e em solução aquosa de cloreto de sódio a 30%. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 16, n. 1, 2018.

ISMAIL, M. T.; AL-KAFRI, A.; ISMAIL, M. Otomycosis in Damascus, Syria: Etiology and clinical features. **Current medical mycology**, v. 3, n. 3, p. 27, 2017.

JANDA, J. M. *et al.* Biochemical identification of citrobacteria in the clinical laboratory. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 32, n. 8, p. 1850-1854, 1994.

JASP TEAM. JASP (Version 0.16.4) [Computer software], 2022.

JIMÉNEZ, A. *et al.* Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *Citrobacter freundii* at a tertiary acute care facility in Miami, Florida. **Infection control & hospital epidemiology**, v. 38, n. 3, p. 320-326, 2017.

JOHANNING, E. *et al.* Health and immunology study following exposure to toxigenic fungi (*Stachybotrys chartarum*) in a water-damaged office environment. **International archives of occupational and environmental health**, v. 68, n. 4, p. 207-218, 1996.

KALANJATI, V. P.; PRASETIOWATI, L.; ALIMARDJONO, H. The use of lower formalin-containing embalming solution for anatomy cadaver preparation. **Medical Journal of Indonesia**, v. 21, n. 4, p. 203-7, 2012.

KANG, D. S. *et al.* Formaldehyde exposure and leukemia risk: a comprehensive review and network-based toxicogenomic approach. **Genes and Environment**, v. 43, n. 1, p. 1-10, 2021.

KANJANAMANEESATHIAN, M. *et al.* *Bacillus megaterium* suppresses major Thailand rice diseases. **Asian Journal of Food and Agro-Industry (Special Issue)**, p. 154-159, 2009.

KANTARCIOĞLU, A. S.; YÜCEL, A.; DE HOOG, G. S. Case report. Isolation of *Cladosporium cladosporioides* from cerebrospinal fluid. **Mycoses**, v. 45, n. 11-12, p. 500-503, 2002.

- KARAGÜL, M. İ. *et al.* Effects of different cadaver preservation methods on muscles and tendons: a morphometric, biomechanical and histological study. **Anatomical science international**, v. 95, n. 2, p. 174-189, 2020.
- KATHAPILLAI, M. Modified saturated salt solution (MSSS) method for embalming. **Indian Journal of Clinical Anatomy and Physiology**. v.6, n. 3, p. 260– 263, 2019.
- KHIANNAM, S. *et al.* *Paenibacillus xylanisolvans* sp. nov., a xylan-degrading bacterium from soil. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 61, n. 1, p. 160-164, 2011.
- 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**. 30 f. 2010. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.
- KONG, Q. *et al.* Biocontrol of *Aspergillus flavus* on peanut kernels by use of a strain of marine *Bacillus megaterium*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 139, n. 1-2, p. 31-35, 2010.
- KOSMIDIS, C.; DENNING, D. W. Republished: the clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. **Postgraduate Medical Journal**. v. 91, n. 1077, p.403-410, 2015.
- KRUG, L. *et al.* Conservação de peças anatômicas com glicerina loira. **Instituto Federal Catarinense, Concórdia, SC**, p. 1-6, 2011.
- KUMAR, R. *et al.* Embalming solutions and their adverse effects: an update. **Asian Journal of Pharmaceutical and Health Sciences**, v. 3, n. 2, 2013.
- LATGÉ, J. P.; CHAMILOS, G. *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis in 2019. **Clinical microbiology reviews**, v. 33, n. 1, p. e00140-18, 2019.
- LEAL, M. P. *et al.* Effects of formaldehyde exposure on the development of pulmonary fibrosis induced by bleomycin in mice. **Toxicology reports**, v. 5, p. 512-520, 2018.
- LI, J. *et al.* *Dietzia schimae* sp. nov. and *Dietzia cercidiphylli* sp. nov., from surface-sterilized plant tissues. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 58, n. 11, p. 2549-2554, 2008.
- LIMA, S. C. **Manutenção das peças em solução de NaCl a 30%: Uma nova forma de preservação de peças**. 37 f. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, 2017.
- LIU, L. *et al.* Antimicrobial resistance and cytotoxicity of *Citrobacter* spp. in Maanshan Anhui Province, China. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 1357, 2017.
- LIU, L. *et al.* Genetic diversity, multidrug resistance, and virulence of *Citrobacter freundii* from diarrheal patients and healthy individuals. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 8, p. 233, 2018.
- LOGAN, N. A. *Bacillus* and relatives in foodborne illness. **Journal of applied microbiology**, v. 112, n. 3, p. 417-429, 2012.
- LOGAN, N. A. *et al.* Genus *I. bacillus*. **Bergey's manual of systematic bacteriology**, v. 3, p. 21-128, 2009.
- LOMBARDERO, M. *et al.* Saturated salt solution: a further step to a formaldehyde-free embalming method for veterinary gross anatomy. **Journal of Anatomy**. v.231, n.2, p. 309-17, 2017.

- MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de Brock-14ª Edição**. Artmed Editora, 2016.
- MATSUMOTO, T. *et al.* Developments in hyalohyphomycosis and phaeohyphomycosis. **Journal of medical and veterinary mycology**, v. 32, n. sup1, p. 329-349, 1994.
- MEYER, V.; WU, B.; RAM, A. F. J. *Aspergillus* as a multi-purpose cell factory: current status and perspectives. **Biotechnology letters**, v. 33, n. 3, p. 469-476, 2011.
- MUNRO, P. M. *et al.* Influence of osmoregulation processes on starvation survival of *Escherichia coli* in seawater. **American Society for Microbiology**, v. 55, n. 8, p. 2017-2024, 1989.
- NAM, S. M. *et al.* Comparative evaluation of canine cadaver embalming methods for veterinary anatomy education. **Anatomical Science International**, v. 95, n. 4, p. 498-507, 2020.
- NAZIM, K. *et al.* Distribution and diversity of airborne microflora under mangrove forest at Sandspit Area Karachi, Pakistan. **Science Technology and Development**, v. 31, n. 4, p. 305-311, 2012.
- NETO, J. C.; COLOMBO, T. E. Isolamento e identificação de fungos filamentosos em peças anatômicas conservadas em formol. **J Health Sci Inst**, v. 33, n. 3, p. 218-22, 2015.
- NISSENBAUM, A. The microbiology and biogeochemistry of the Dead Sea. **Microbial Ecology**, v. 2, n. 2, p. 139-161, 1975.
- NIWA, H. *et al.* Characterization of human clinical isolates of *Dietzia species* previously misidentified as *Rhodococcus equi*. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases**, v. 31, n. 5, p. 811-820, 2012.
- NOGUCHI, K. *et al.* Package 'nparLD'. 2022.
- NUNES, T. C. *et al.* Análise da textura de músculos peitorais submetidos à fixação e conservação em álcool. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, n. 6, p. 464-467, 2011.
- 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 of anatomy**, v. 225, n. 1, p. 118-121, 2014.
- 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.
- PANZACCHI, S. *et al.* Effects of short and long-term alcohol-based fixation on Sprague-Dawley rat tissue morphology, protein and nucleic acid preservation. **Acta histochemica**, v. 121, n. 6, p. 750-760, 2019.
- PASANEN, P. *et al.* Growth and volatile metabolite production of *Aspergillus versicolor* in house dust. **Environment International**, v. 23, n. 4, p. 425-432, 1997.
- PASHLEY, C. H. *et al.* Procedimentos de processamento de rotina para isolar fungos filamentosos de amostras de escarro respiratório podem subestimar a prevalência de fungos. **Micologia médica**, v. 50, n. 4, pág. 433-438, 2012.
- PAULUSSEN, C. *et al.* Ecology of aspergillosis: insights into the pathogenic potency of *Aspergillus fumigatus* and some other *Aspergillus* species. **Microbial biotechnology**, v. 10, n. 2, p. 296-322, 2017.

- PEREIRA, N. *et al.* Microbiological analysis of a new anatomical specimen preparation technique for use in veterinary surgery. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, p. 3099-3106, 2019.
- PEREIRA, N. S. **Degradação anaeróbia de formaldeído em reator operado em bateladas sequenciais contendo biomassa imobilizada**. 85 f. 2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.
- PEREIRA, P. A. P. **Técnica de preparação de peças anatômicas do sistema circulatório de craniados, com ênfase em mamíferos: Uma alternativa**. 52 f. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso – Ciências Biológicas, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.
- PIDOUX, O. *et al.* Molecular identification of a *Dietzia maris* hip prosthesis infection isolate. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 7, p. 2634-2636, 2001.
- PILARES, L. *et al.* Identification of atypical Rhodococcus-like clinical isolates as *Dietzia spp.* by 16S rRNA gene sequencing. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 5, p. 1904-1907, 2010.
- PIONTEK, M.; LUSZCZYŃSKA, K.; LECHÓW, H. Occurrence of the toxin-producing *Aspergillus versicolor* Tiraboschi in residential buildings. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 13, n. 9, p. 862, 2016.
- PITT, J. I.; HOCKING, A. D. Fungi and food spoilage. Blackie Academic & Professional. **New South Wales, Australia**, 1997.
- PLETZ, M. W. *et al.* A nosocomial foodborne outbreak of a VIM carbapenemase-expressing *Citrobacter freundii*. **Clinical Infectious Diseases**, v. 67, n. 1, p. 58-64, 2018.
- PORRES-OSANTE, N. *et al.* Characterization of beta-lactamases in faecal Enterobacteriaceae recovered from healthy humans in Spain: focusing on AmpC polymorphisms. **Microbial ecology**, v. 70, n. 1, p. 132-140, 2015.
- PRADO, A. **O coração disparado**. Editora Record, 2013.
- PRZYBYSZ, C. H.; SCOLIN, E. Avaliação do formaldeído como fungicida no laboratório de anatomia humana. **Rev F@ ciência**, v. 5, n. 12, p. 121-33, 2009.
- R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2022. URL <https://www.R-project.org/>.
- RAHARYANINGSIH, M. A.; AZIZAH, R. Air Formaldehyde Levels and Eye Irritation in Workers at Production Area of Wood Adhesive Factory in Surabaya. **Jurnal Kesehatan Lingkungan**, v. 9, n. 2, p. 191-199, 2017.
- RAMOS-ESTEBAN, J. C. *et al.* *Bacillus megaterium* delayed onset lamellar keratitis after LASIK. **Journal of Refractive Surgery**. v. 22, n. 3, 309-12, 2006.
- REYES, G. *et al.* Type A aortic dissection associated with *Dietzia maris*. **Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery**, v. 5, n. 5, p. 666-668, 2006.
- ROCHA, T. A. S. S. **Análise biomecânica de pele e jejuno de cadáveres de cães submetidos a uma nova técnica anatômica de preparo visando o ensino da técnica cirúrgica**. 2016. 52 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2016.
- ROCHA, T. A. S. S. *et al.* Chemically prepared dog cadavers in teaching of surgical technique-evaluation by students of a veterinary medicine course. **Acta Scientiae Anatomica**. v. 1, n. 2, p.136-

40, 2019.

RODRIGUES, H. **Técnicas Anatômicas**. 4. ed. Vitória: GM Gráfica e Editora, 2010. p.229.

ROUX, V.; RAOULT, D. *Paenibacillus massiliensis* sp. nov., *Paenibacillus sanguinis* sp. nov. and *Paenibacillus timonensis* sp. nov., isolated from blood cultures. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 54, n. 4, p. 1049-1054, 2004.

SAMONIS, G. *et al.* *Citrobacter infections* in a general hospital: characteristics and outcomes. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases**, v. 28, n. 1, p. 61-68, 2009.

SAMSON, R. A. *et al.* Centraalbureau voor Schimmelcultures: hundred years microbial resource centre. **Studies in Mycology**, v. 50, p. 1-8, 2004.

SAMSON, R. A. *et al.* Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. **Studies in mycology**, v. 53, n. 1, p. 1-27, 2005.

SANTANA, M. L. **Avaliação de dados morfométricos em corações suínos submetidos a diferentes protocolos de desidratação, visando técnica de plastinação com silicone**. 36 f. 2018. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2018.

SANTOS, A. A. *et al.* Principais métodos de fixação de peças para estudo anatômico: uma revisão de literatura. **Arquivos do MUDI**, v. 21, n. 01, p. 19-25, 2017.

SANTOS, M. C. **Aplicação de técnicas anatômicas no estudo da patologia animal**. 75 f. 2016. Dissertação (Mestrado Profissional em Defesa Agropecuária) – Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2016.

SCHEEPERS, P. T. J *et al.* Changes in work practices for safe use of formaldehyde in a university-based anatomy teaching and research facility. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 9, p. 2049, 2018.

SCHELDEMAN, P. *et al.* *Paenibacillus lactis* sp. nov., isolated from raw and heat-treated milk. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 54, n. 3, p. 885-891, 2004.

SEPÚLVEDA, C.; PIONTELLI, E. Poblaciones de *Aspergillus* en semillas de maíz y soja de importación argentina: Enfoque en la sección Flavi. **Boletín Micológico**, v. 20, 2005.

SEYEDMOUSAVI, S.; GUILLOT, J.; DE HOOG, G. S. Phaeohyphomycoses, emerging opportunistic diseases in animals. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 1, p. 19-35, 2013.

SILVA, C. P. S. **Identificação e caracterização microbiana em cadáveres sob as condições de laboratório**. 43 f. 2017 Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia) – Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Campina Grande, Cajazeiras, 2017.

SILVA, G. R. *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.

SILVA, M. B. C. **Uso de técnicas de manutenção de peças anatômicas alternativas ao formaldeído: um estudo comparativo**. 25 f. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia) – Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, 2018.

SILVA, M. Z. M. **A importância da biossegurança nos laboratórios de anatomia patológica dos hospitais públicos diante do manuseio do formol.** 53 f. 2010. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia) – Faculdade de Economia, Administração, Contabilidade e Ciências da Informação e Documentação (FACE), Universidade de Brasília, DF, 2010.

SILVA, W. L. S. *et al.* Isolamento e identificação de fungos anemófilos em laboratórios de rede privada na cidade de Salgueiro-PE. **BioFar–Revista de Biologia e Farmácia, Campina Grande–PB**, v. 6, n. 1, p. 129-135, 2011.

SOLOMON, W. R. Assessing fungus prevalence in domestic interiors. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 56, n. 3, p. 235-242, 1975.

SOUZA, A. A. P. **Estudo da microbiota anemófila presente nos diferentes ambientes do Hospital Santa Casa de Belo Horizonte, MG.** 59 f. 2012. Dissertação (Mestrado em Medicina e Biomedicina) - Instituto de Ensino e Pesquisa da Santa Casa de Belo Horizonte, Belo Horizonte, MG, 2012.

SPICHER, G.; PETERS, J. Microbial resistance to formaldehyde. I. Comparative quantitative studies in some selected species of vegetative bacteria, bacterial spores, fungi, bacteriophages and viruses. **Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Erste Abteilung Originale. Reihe B: Hygiene, Präventive Medizin**, v. 163, n. 5-6, p. 486-508, 1976.

SRI-INDRASUTDHI, V.; UEAPATTANAKIT, J.; SOMMATAS, A. Investigation of airborne fungi and their ability to grow on formalin-fixed human cadavers. **Mycosphere**, v. 6, n. 06, p. 729-36, 2015.

STEINBACH, W. J. *et al.* Clinical epidemiology of 960 patients with invasive aspergillosis from the PATH Alliance registry. **Journal of Infection**, v. 65, n. 5, p. 453-464, 2012.

THAVARAJAH, R. *et al.* Chemical and physical basics of routine formaldehyde fixation. **Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP**, v. 16, n. 3, p. 400, 2012.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, Christine L. **Microbiologia.** 10. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2012. 934 p.

VARY, P. S. *et al.* *Bacillus megaterium*—from simple soil bacterium to industrial protein production host. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 76, n. 5, p. 957-967, 2007.

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, 2010.

VIEIRA, D. A. P.; QUEIROZ, N. C. A. Microbiologia geral. Inhumas: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, 2012.

VLAMAKIS, H. *et al.* Sticking together: building a biofilm the *Bacillus subtilis* way. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, n. 3, p. 157-168, 2013.

WASCHKE, J. *et al.* Recommendations of the working group of the Anatomische Gesellschaft on reduction of formaldehyde exposure in anatomical curricula and institutes. **Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger**, v. 221, p. 179-185, 2019.

WATANABE, M. *et al.* The usefulness of saturated salt solution embalming method for oral surgical skills training: A new cadaveric training model for bone harvesting. **Anatomical Sciences Education**. v. 8, p. 1- 8, 2019.

WÉRY, N. Bioaerosols from composting facilities—a review. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 4, p. 42, 2014.

WHO – World Health Organization - IPCS International Programme on Chemical Safety –
Formaldehyde - Health and Safety Guide. n. 57, 1991.

WOLFF, K. D. *et al.* Thiel embalming technique: a valuable method for microvascular exercise and teaching of flap raising. **Microsurgery: Official Journal of the International Microsurgical Society and the European Federation of Societies for Microsurgery**, v. 28, n. 4, p. 273-278, 2008.

ANEXO A - PARECER CONSUBSTANCIADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS- CEUA
DIAMANTINA – MG**

CERTIFICADO

Teófilo Otoni, 30 de junho de 2021.

Certificamos que a proposta intitulada "**Comparação entre Cloreto de Sódio Puro e Comercial no Controle de Fungos e Bactérias no Processo de Conservação de Peças Cadavéricas**", registrada com o nº 04-2021 R, sob a responsabilidade de Roberta Barbizan Petinari - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, e foi **APROVADA ad referendum** pela coordenação da COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-Mucuri/UFVJM) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI, em 30/06/2021.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da Autorização	01/07/2021 a 30/03/2022
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico / Wistar
Nº de animais	72
Peso/Idade	150 a 200g / Adultos
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Biotério do Centro Integrado de Pesquisa (CIPq)/UFVJM

O prazo de validade desse Certificado é equivalente a vigência do Projeto prorrogável por mais 1 ano, desde que seja enviada justificativa a CEUA-Mucuri/UFVJM durante a vigência do projeto.

Com o recebimento deste Certificado, o responsável compromete-se a entregar o relatório final da proposta até 60 dias após o término. Em caso de planos de aula, a cada seis meses estes deverão ser revalidados.

Ressaltamos que, conforme a Resolução Normativa I, de 9 de Julho de 2010, qualquer alteração no protocolo previamente aprovado, na equipe técnica, bem como acidentes envolvendo os animais, competem ao responsável a comunicação a CEUA-Mucuri/UFVJM.

Caio César de Souza Alves

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA-Mucuri/UFVJM



Documento assinado eletronicamente por **Caio Cesar de Souza Alves, Coordenador(a)**, em 30/06/2021, às 16:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufvjm.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0393650** e o código CRC **14C0D332**.

Referência: Caso responda este Ofício, indicar expressamente o Processo nº 23086.006746/2021-62

SEI nº 0393650

Campus JK

Comissão de Ética no Uso de Animais/ UFVJM

Prédio da Reitoria-PRPPG- Rodovia MGT 367 - Km 583, nº 5000 Aho da Jacube - Diamantina/MG - CEP 39100-000 Telefone: [+55\(38\)3532-1200](tel:+55(38)3532-1200)

Ressaltamos que, conforme a Resolução Normativa 1, de 9 de Julho de 2010, qualquer alteração no protocolo previamente aprovado, na equipe técnica, bem como acidentes envolvendo os animais, competem ao responsável a comunicação a CEUA-Mucuri/UFVJM.

ANEXO B – RESUMO SIMPLES

**Anais do I Congresso de Ciências da
Saúde da UFVJM e do III Encontro de
Medicina da FAMED**

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
6 a 8 de julho de 2022
Diamantina-MG

ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DAS SOLUÇÕES DE CLORETO DE SÓDIO PURO E COMERCIAL NO CONTROLE DE FUNGOS E BACTÉRIAS NA CONSERVAÇÃO DE PEÇAS ANATÔMICAS

Franciane P. Brant¹, Grazielle M. Oliveira², Cleide A. Bomfeti³, Roberta B. Petinari¹

¹ Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina do campus JK e de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Diamantina, Minas Gerais, Brasil.

² Curso de Graduação em Engenharia Hídrica, Instituto de Ciência, Engenharia e Tecnologia do campus Mucuri, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Teófilo Otoni, Minas Gerais, Brasil.

³ Programa de Pós-graduação em Tecnologia, Ambiente e Sociedade do campus Mucuri, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Teófilo Otoni, Minas Gerais, Brasil.

*e-mail: franciane.brant@ufvjm.edu.br

Introdução: o formol 10% é utilizado como método de fixação e de preservação de peças anatômicas. É uma solução tóxica à saúde, carcinogênica e prejudicial ao meio ambiente. Uma alternativa segura e economicamente acessível para substituí-la, como conservante, é a solução Salina 30%, já utilizada por alguns laboratórios de anatomia animal. **Objetivo:** comparar o potencial de conservação de peças cadavéricas, analisando a qualidade do Cloreto de Sódio (NaCl) puro (PA) e o comercial (sal de cozinha comum) utilizados no preparo da solução salina 30% no controle de fungos e bactérias. **Metodologia:** utilizaram-se 72 carcaças de ratos Wistar, divididas em 3 grupos (G1, G2 e G3) com 2 tratamentos cada (T1: animais expostos em bancadas por 1 hora a cada 30 dias durante 120 dias e T2: animais não expostos até o final do experimento pelo mesmo período). G1 correspondeu ao NaCl PA 30%, G2 ao NaCl comercial 30% e G3 ao Formol 10% (grupo controle). Para avaliar a qualidade das soluções, realizaram-se análises microbiológicas no intervalo de 0, 40, 80 e 120 dias. Para a avaliação organoléptica das soluções, avaliaram-se presença de odor (sim ou não); presença de viscosidade (sim ou não) e mudança de coloração. Para as análises microbiológicas foram retiradas alíquotas de 100 µl de cada solução, espalhadas em placas de Petri em meio PCA (Plate Count Agar), identificadas e incubadas por 72 horas em temperatura ambiente. As colônias de fungos e bactérias que se desenvolveram foram separadas e armazenadas em geladeira a 4°. Elas foram replicadas sucessivamente em meio PCA e os morfotipos foram individualmente isolados para posterior identificação. **Resultados e Discussão:** foram encontrados inicialmente 11 morfotipos de bactérias, em que 8 estavam presentes no grupo G1, sendo 6 exclusivos neste grupo; 8 morfotipos em G2, sendo 5 presentes apenas neste grupo; e 2 morfotipos em G3, sendo que um também foi encontrado no G1 e o outro no G2. Dos 11 morfotipos bacterianos encontrados, apenas 6 apresentaram crescimento em placa de Petri após repicagem sucessivas e serão assim, posteriormente identificados. Foram encontrados, também, 10 morfotipos de fungos, entre estes 7 estavam presentes em G1, 9 em G2 e apenas 1 em G3. Destes 10 morfotipos de fungos, apenas 5 apresentaram crescimento expressivo após repiques sucessivos e serão, portanto, identificados na próxima etapa do projeto. Quanto às propriedades organolépticas das soluções, nenhuma delas apresentou odor de putrefação e presença de viscosidade. Já quanto à coloração, as soluções Salina 30% PA e comercial sofreram variação de translúcido no início do experimento, a amarelo claro/marrom escuro dentre os próprios tratamentos destes grupos. O formol 10% não apresentou nenhum tipo de alteração quanto à cor, permanecendo translúcido em todos os tratamentos até o término do experimento. **Considerações Finais:** a identificação dos morfotipos bacterianos e fúngicos nas soluções salinas refletirão o tipo de contaminação e a viabilidade de conservação das peças humanas em um desses tratamentos e a proposição de um protocolo de conservação em soluções alternativas ao formol.

Palavras-chave: Conservação de Peças Anatômicas; Solução Salina; Fungos; Bactérias.

Agradecimentos: PPGSC/UFVJM, FAMMUC/UFVJM.