

# Alternativas ao xileno como agente desparafinante: solução de limão 95%, solução de detergente 1,5% e da solução de detergente e limão

Trittoni A.; Mendes A.; Malhão B.; Pires C.; Luchian C.; Fortunato I.; Alves S.; Paulino T.; Ladeira C. |  
Licenciatura em Ciências Biomédicas Laboratoriais | Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa

## Introdução

O xilol, também denominado xileno, é utilizado nos laboratórios de anatomia patológica durante o processamento, na diafanização, e na etapa da coloração de hematoxilina-eosina, como agente desparafinante. É um composto orgânico volátil que a curto prazo pode provocar irritação da pele, olhos, nariz, garganta, dificuldade em respirar, entre outros. Além dos efeitos apresentados, uma exposição a curto e a longo prazo a altas concentrações de xileno podem ter vários efeitos no sistema nervoso, como dores de cabeça, tonturas, confusão, entre outros efeitos. É por isso, de extrema importância reduzir a sua utilização ou substituir por outros solventes que tenham funções semelhantes.<sup>[1]</sup>

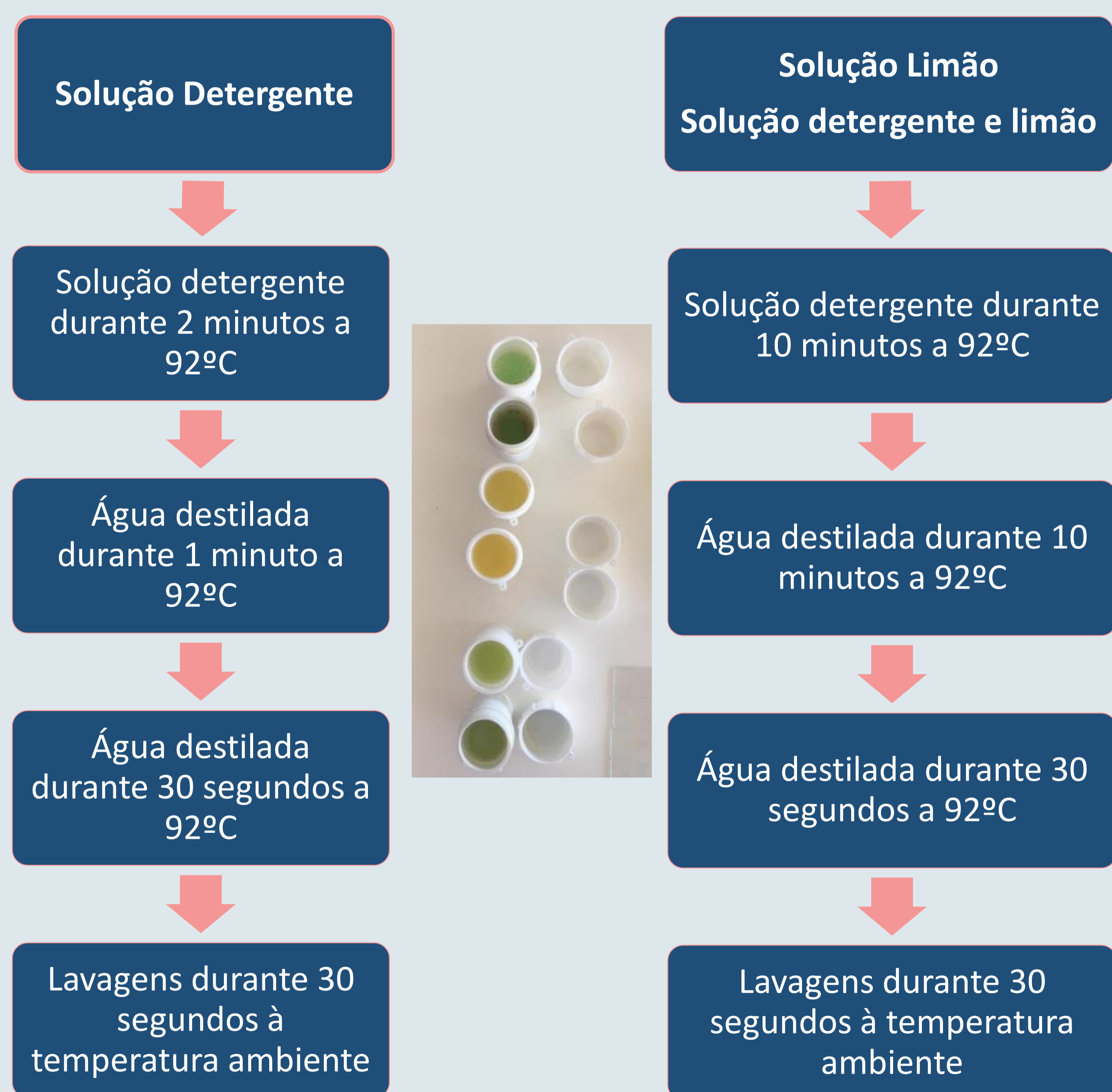
## Objetivo

Com o objetivo de reduzir a sua exposição, testou-se a eficácia de soluções alternativas na etapa da desparafinação da coloração por hematoxilina-eosina.

## Metodologia

Foram testadas as soluções de limão a 95%, solução de detergente a 1,5% e solução de limão 95%-detergente 1,5%, à temperatura ambiente e a 92°C em 5 tecidos diferentes.

Após o processamento histológico foi realizada a microtomia retirando-se 8 cortes com espessura de 3 µm, por bloco, num total de 40. A etapa de desparafinação foi realizada durante 10 minutos à temperatura ambiente e a 92 °C durante 2 minutos, em solução pré-aquecida. Após a coloração e a montagem as lâminas foram visualizadas ao microscópio ótico composto e avaliadas de acordo com os parâmetros: intensidade da hematoxilina e eosina, homogeneidade, marcação de fundo e marcação inespecífica.

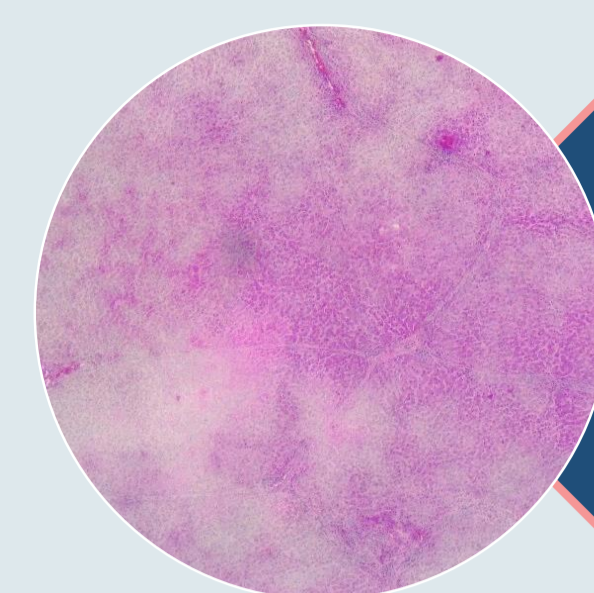


**Esquema 1** – Procedimento utilizado para realizar a desparafinação das lâminas, onde foi utilizado solução de limão a 95%, solução de detergente a 1,5% e solução de limão 95%-detergente 1,5%, à temperatura ambiente e a 92 °C.

**Fórmula de cálculo de classificação:** IHx2 + IEx2 + Hox1,5 + MF + MI

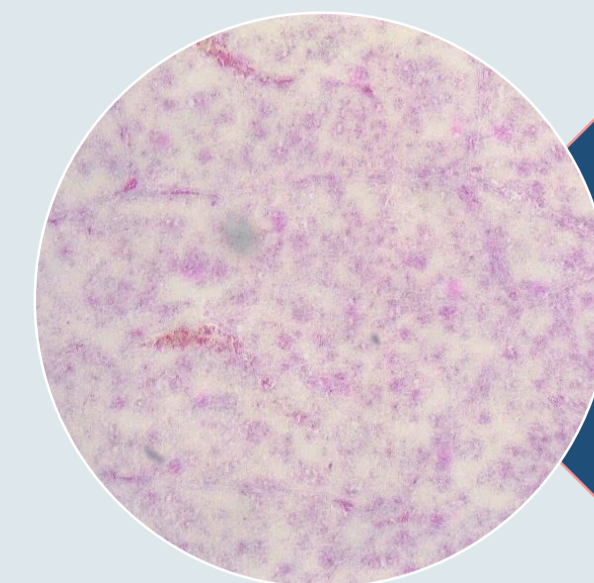
**Valor de aceitação:** 55

**IH** – Intensidade da hematoxilina; **IE** – Intensidade da eosina; **Ho** – Homogeneidade; **MF** – Marcação de fundo; **MI** – Marcação inespecífica



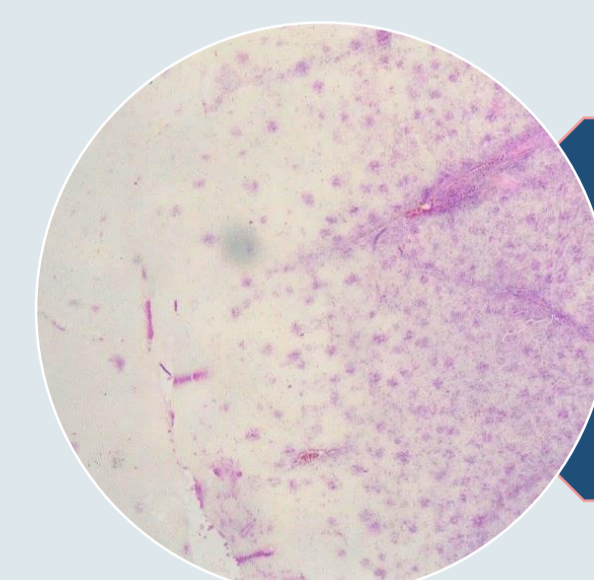
**Figura 1** – Observação ao microscópio ótico composto da lâmina de fígado onde foi utilizada a solução de limão à temperatura de 92°C. A lâmina encontrava-se pouco homogênea, no entanto a intensidade da coloração foi considerada boa. Encontrou-se vestígios de parafina.

Limão 92°C



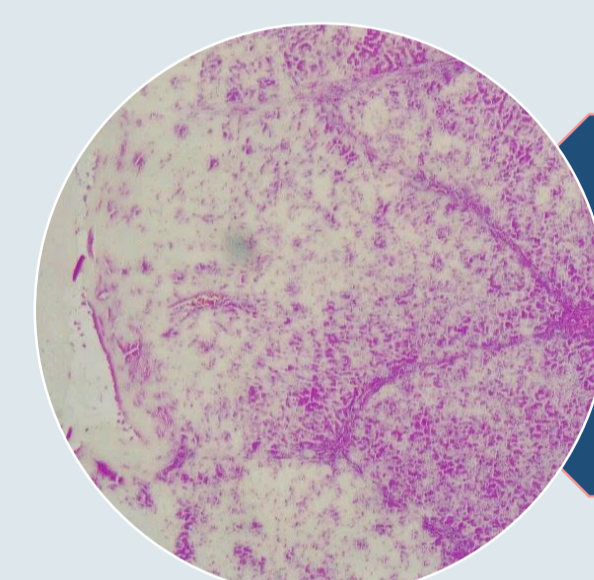
**Figura 2** – Observação ao microscópio ótico composto da lâmina de fígado onde foi utilizada a solução de detergente e limão à temperatura de 92°C.

Detergente e Limão 92°C



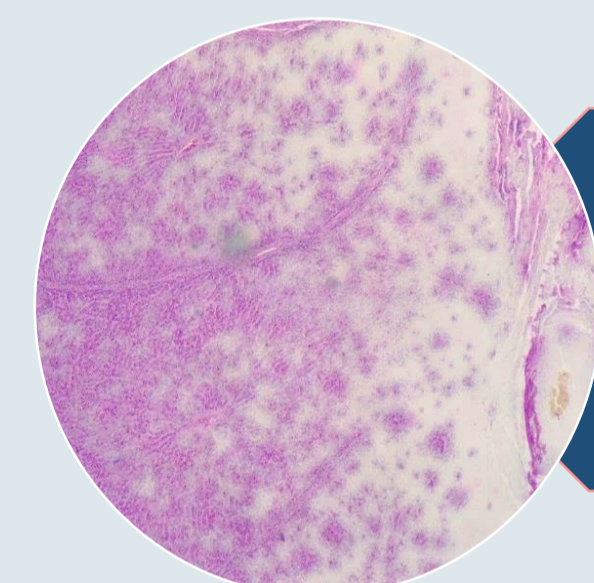
**Figura 3** – Observação ao microscópio ótico composto da lâmina de fígado onde foi utilizada a solução de limão à temperatura ambiente.

Limão TA



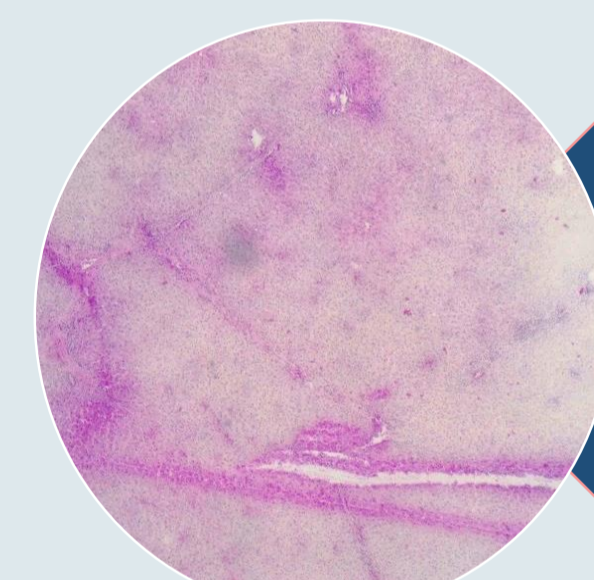
**Figura 4** – Observação ao microscópio ótico composto da lâmina de fígado onde foi utilizada a solução de limão e detergente à temperatura ambiente.

Detergente e Limão TA



**Figura 5** – Observação ao microscópio ótico composto da lâmina de fígado onde foi utilizada a solução detergente à temperatura ambiente. Apesar de existir zonas descoradas a maior parte da lamina encontrava-se corada de uma forma homogênea.

Detergente TA



**Figura 6** – Observação ao microscópio ótico composto da lâmina de fígado onde foi utilizada a solução detergente a 92°C

Detergente 92°C

|                         | Coração | Rim  | Traqueia | Tiroide | Fígado |
|-------------------------|---------|------|----------|---------|--------|
| Detergente 92°C         | 54      | 46   | 60,5 ✓   | 64,5 ✓  | 51,5   |
| Detergente TA           | 59 ✓    | 48   | 68 ✓     | 43,5    | 58 ✓   |
| Limão 92°C              | 45      | 44,5 | 50,5     | 43,5    | 38,5   |
| Limão TA                | 39      | 41   | 49       | 34      | 33     |
| Detergente e limão 92°C | 42      | 50   | 41       | 37,5    | 31     |
| Detergente e limão TA   | 42,5    | 45,5 | 51,5     | 39,5    | 42,5   |

**Tabela 1** – Classificação final das lâminas. As pontuações assinaladas na tabela atingiram o valor de aceitação.

## Discussão

Nos protocolos, limão a 95% e limão 95%-detergente 1,5%, não foram obtidos resultados satisfatórios com ambas as temperaturas testadas. A solução detergente 1,5% foi o método que apresentou melhores resultados, sendo que a temperatura ambiente apresentou uma taxa de sucesso superior à temperatura de 92 °C.

## Conclusão

Para concluir, apesar de os resultados da solução de detergente 1,5% não se encontrarem excelentes, esta solução poderá vir a ser uma eventual alternativa à utilização do xileno. Sugere-se, por isso, como estudos futuros o aumento da duração da permanência na estufa.

## Referências

Anuradha A., Srilekha N., Vijay S. G., V.V.S. Ramprasad, Sabitha D. R., Urmila U. and Kiran K. N. (2014); Efficacy of 1.5% Dish Washing Solution and 95% Lemon Water in Substituting Perilous Xylene as a Deparaffinizing Agent for Routine H and E Staining Procedure: A Short Study.

[1] Toxicological profile for xylene, U.S Department of Health and Human Services, public health service, Agency for toxic substance and disease registry. 1993 disponível em <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp71.pdf>.