



**SECRETARIA DE SEGURANÇA PÚBLICA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS – UEG
COORDENADORIA DE ENSINO
COORDENAÇÃO DE ENSINO PRESENCIAL E DE PÓS-GRADUAÇÃO
ESPECIALIZAÇÃO EM ALTOS ESTUDOS EM SEGURANÇA PÚBLICA**

RAFAELLA MARQUES BARBOSA

**PROPOSTA DE PROTOCOLO PARA ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA FORENSE
DAS VIAS AÉREAS DE CADÁVERES CARBONIZADOS**

GOIÂNIA-GO

2024



RAFAELLA MARQUES BARBOSA

**PROPOSTA DE PROTOCOLO PARA ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA FORENSE
DAS VIAS AÉREAS DE CADÁVERES CARBONIZADOS**

Projeto de Pesquisa apresentado como exigência parcial para conclusão da disciplina Metodologia Científica do Curso Especialização em Gerenciamento de Segurança Pública (CEGESP) pela Secretaria de Segurança Pública de Goiás e a Universidade do Estado de Goiás, sob a orientação do Prof. Me. Joara de Paula Campos e co-orientação do Prof. Dr. Rhonan Ferreira da Silva.

GOIÂNIA-GO

2024

PROPOSTA DE PROTOCOLO PARA ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA FORENSE DAS VIAS AÉREAS DE CADÁVERES CARBONIZADOS

PROPOSAL FOR A PROTOCOL FOR THE FORENSIC HISTOPATHOLOGICAL ANALYSIS OF THE AIRWAYS OF CHARRED BODIES.

Rafaella Marques Barbosa
Prof. Me. Joara de Paula Campos
Prof. Dr. Rhonan Ferreira da Silva

Resumo: Determinar a causa da morte em necropsias de vítimas de carbonização é desafiador devido às alterações estruturais causadas pelo fogo. Algumas questões importantes precisam ser respondidas, como: Qual foi a causa do óbito? O fogo atingiu a vítima enquanto ainda estava viva ou após a sua morte? Muitas vezes, é necessário solicitar exames complementares para auxiliar o médico legista a chegar a conclusões sobre esses casos. Um dos exames solicitados é a pesquisa histológica de fuligem nas vias aéreas. A presença de fuligem abaixo da laringe é uma evidência clara de que a vítima estava respirando durante o incêndio, o que indica vitalidade. No entanto, durante a fixação do material para o exame histológico, pode ocorrer reação entre o formol e o sangue presente nos tecidos, resultando em um pigmento escuro que se assemelha à fuligem. Essa reação ocorre principalmente em tecidos que já iniciaram o processo de autólise *post mortem*. O pigmento artefactual pode ser confundido com a fuligem durante o exame histológico. Diante disso, a coleta de amostras de áreas estratégicas do sistema respiratório durante a necropsia e a sua fixação em álcool 70% são uma alternativa econômica, simples e facilmente reproduzível para evitar a formação do pigmento indesejado. Através de revisão bibliográfica e estudo de quatro casos de cadáveres carbonizados analisados no ano de 2023 pela Seção de Patologia Forense do IML de Goiânia, foi possível desenvolver um protocolo para a coleta padronizada de amostras de órgãos de vítimas de carbonização, com a retirada de fragmentos específicos para fixação em álcool 70%, a fim de evitar a formação do pigmento artefactual e garantir a confiabilidade da perícia oficial.

Palavras-chave: Cadáveres carbonizados; Pesquisa de fuligem; Histopatológico; Técnicas de fixação.

Abstract: Determining the cause of death in autopsies of charred victims is challenging due to the structural changes caused by fire. Some important questions need to be answered, such as: What was the cause of death? Did the fire reach the victim while they were still alive or after their death? Often, it is necessary to request additional examinations to assist the forensic doctor in reaching conclusions about these cases. One of the requested examinations is the histological search for soot in the airways. The presence of soot below the larynx is clear evidence that the victim was breathing during the fire, indicating vitality. However, during the fixation of the material for histological examination, a reaction between formaldehyde and the blood present in the tissues can occur, resulting in a dark pigment that resembles soot. This reaction occurs mainly in tissues that have already begun the post-mortem autolysis process. The artifact pigment can be confused with soot during the histological examination. Given this, the collection of samples from strategic areas of the respiratory system during the autopsy and their fixation in 70% alcohol are an economical, simple, and easily reproducible alternative to avoid the formation of the unwanted pigment. Through literature review and the study of four cases of charred corpses analyzed in 2023 by the Forensic Pathology Section of

the IML of Goiânia, it was possible to develop a protocol for the standardized collection of samples from organs of charred victims, with the removal of specific fragments for fixation in 70% alcohol, in order to avoid the formation of the artifact pigment and ensure the reliability of the official forensic examination.

Keywords: Charred bodies; Soot investigation; Histopathological; Fixation techniques.

INTRODUÇÃO

A necropsia forense em corpos carbonizados representa um tema de significativa importância e complexidade dentro da medicina legal. Um dos principais desafios encontrados nesse tipo de análise é determinar se a exposição ao fogo ocorreu antes ou depois da morte do indivíduo, constituindo ponto crucial para estabelecer a causa primária da morte e, por extensão, sua classificação jurídica como suicídio, homicídio ou acidente, conforme Fanton (2006).

No Instituto Médico Legal Aristoclides Teixeira (IML-AT), localizado em Goiânia – GO, a Seção de Antropologia Forense (SAFOL) é o setor responsável pelas necropsias e identificação dos corpos carbonizados provenientes de diversas Coordenações Regionais de Polícia Técnico Científica do estado de Goiás, especialmente quando a carbonização impede a identificação do cadáver pelas impressões digitais. Em tais casos, torna-se frequentemente necessário o auxílio de exames complementares para determinar com maior precisão a causa da morte. Um dos exames que pode ser solicitado com este fim é o estudo histopatológico das vias aéreas com pesquisa microscópica de fuligem.

Este exame complementar envolve a análise macro e microscópica das vísceras e é realizado por médicos legistas patologistas forenses lotados na Seção de Patologia Forense do IML-AT (SEPAF). A busca por fuligem nas vias aéreas de cadáveres carbonizados por meio da avaliação histopatológica é uma técnica amplamente adotada no âmbito pericial no estado de Goiás e tem como principal objetivo definir a presença de vitalidade no momento da carbonização. A presença de fuligem na traqueia, brônquios e parênquima pulmonar indica que a vítima estava respirando ativamente durante a exposição ao fogo, de acordo com Knight (2016). Entre os anos de 2019 e 2023, a SEPAF realizou essa perícia em 46 casos.

A preparação inicial para os exames histopatológicos inclui a fixação do tecido para prevenir sua autólise. O uso de formol 10% como fixador pode gerar pigmentos artefatuais, como o pigmento formalínico, originado da reação do formol ácido com a hemoglobina do sangue (Pizzolato, 1976). A presença do pigmento indesejado pode gerar resultados falso-positivos para pesquisa de fuligem ou até mesmo mascarar a verdadeira presença de fuligem,

resultando em falso-negativos. Ambas as situações dificultam a determinação precisa da causa da morte para corpos carbonizados e podem causar confusão na interpretação do patologista forense, uma vez que o pigmento artefactual possui características morfológicas semelhantes à fuligem quando observado ao microscópio óptico. Diante disto, a SEPAF desenvolveu um método alternativo de fixação tecidual para aumentar a confiabilidade dos exames histopatológicos nestes casos, utilizando-se álcool 70%.

Apesar da ampla documentação na literatura sobre a importância da fixação tecidual, especialmente para preservar antígenos celulares para estudos imuno-histoquímicos e moleculares, constata-se uma falta de pesquisas voltadas para a aplicação forense, parcialmente devido ao reduzido interesse comercial, já que esses exames não são realizados no âmbito dos laboratórios privados. Portanto, é essencial que entidades públicas de segurança incentivem pesquisas para aprimorar e conferir maior confiabilidade às técnicas histológicas específicas para a perícia. A precisão dos resultados periciais é crucial para a aplicação adequada da lei, especialmente considerando que o uso do fogo em homicídios é qualificador do crime pelo código penal brasileiro (Brasil, 1940). A investigação precisa dos fatos e a adoção de métodos científicos para a coleta de evidências são fundamentais para a construção das provas utilizadas nas investigações e processos judiciais, permitindo que os julgadores estejam mais próximos da verdade dos fatos, promovendo justiça e segurança para a sociedade.

Considerando a relevância e a demanda por avaliações histopatológicas em necropsias de indivíduos carbonizados, surgem questões sobre a aplicabilidade e eficácia do método de fixação desenvolvido pela SEPAF na eliminação de pigmentos erroneamente identificados como fuligem e a possibilidade de estabelecer um procedimento padronizado, simples, econômico e aplicável em todo o estado de Goiás para a coleta de órgãos, nestes casos. Sendo assim, este trabalho tem como objetivo propor um protocolo padronizado para a coleta de amostras de vias aéreas de cadáveres carbonizados, visando minimizar o impacto dos pigmentos artefatuais na análise histopatológica forense.

Para alcançar esse objetivo, foi realizada uma revisão da literatura sobre necropsia em cadáveres carbonizados, métodos diagnósticos auxiliares, como a pesquisa histológica de fuligem, métodos para eliminar o pigmento formalínico e técnicas de fixação tecidual. Além disso, o estudo ilustra a técnica alternativa de fixação desenvolvida pela SEPAF por meio do estudo histológico com pesquisa qualitativa de fuligem em vias aéreas de quatro casos de corpos carbonizados examinados no ano de 2023. Destes casos foram coletadas amostras

submetidas tanto à técnica de fixação clássica (com formol 10%) quanto à técnica de fixação alternativa, que utiliza álcool 70%.

1 REVISÃO TEÓRICA

1.1 Exame necroscópico em cadáveres carbonizados

Entende-se por corpo carbonizado ou queimadura de quarto grau, pela classificação de Hoffmann, aquele que apresenta lesões térmicas em planos mais profundos do que a pele, podendo atingir até os ossos (França, 2017). A necropsia em corpos carbonizados é considerada um grande desafio na área da medicina legal. A exposição ao calor extremo resulta em alterações estruturais que dificultam a identificação e interpretação de possíveis lesões pré-existentes, tornando a determinação da causa da morte um processo complexo (Bhonert, 2003; Ferreira, 2008). Há alterações significativas de certas características tanatológicas, o que torna a interpretação diagnóstica ainda mais complicada, pois podem surgir lesões provocadas pelo fogo que têm características semelhantes às injúrias de outras causas, como fraturas de crânio e hemorragia extradural (Maiese, 2022).

Diante disso, é crucial que a necropsia forense de cadáveres carbonizados siga um protocolo rígido. Inicialmente, deve-se correlacionar os dados obtidos na inspeção externa do cadáver com os dados obtidos na perícia do local de encontro do corpo. A inspeção externa deve ser cuidadosa, incluindo análise das manchas de hipóstase, que podem fornecer uma chave importante para o raciocínio, uma vez que a coloração vermelha vívida pode significar que houve intoxicação por monóxido de carbono, por exemplo. O procedimento da necropsia deve ser padronizado, incluindo a retirada das vias aéreas em bloco (Maiese, 2022).

É comum também que queimaduras extensas provoquem alterações estruturais ou mesmo amputação de segmentos, o que dificulta a identificação pessoal (Maiese, 2022). Segundo Paiva (2006), o grau de destruição na carbonização pode ser tão extenso ao ponto de destruir as características faciais, impedindo o reconhecimento, assim como a identificação por coleta de digitais. Nestes casos, o autor afirma que sinais individuais característicos, como deformidades, cicatrizes, ausência de órgãos e tatuagens, podem auxiliar na identificação assim como o exame odontológico forense, com a análise dos caracteres anatômicos, patológicos e terapêuticos que são únicos para cada indivíduo.

As características odontológicas apresentadas pelo cadáver podem ser comparadas com o material de registro odontológico prévio fornecido pela família ou disponível em redes

sociais (fotografias de sorriso), representando um método prático, rápido, seguro e econômico de identificação. Por fim, podem ser utilizadas ainda técnicas de DNA. Estas possuem um custo mais elevado e demoram na realização, o que faz com que sejam preferencialmente utilizadas quando as técnicas de identificação anteriores não apresentarem resultado satisfatório, ainda segundo Paiva (2006). Deve-se ter em mente que é comum a carbonização ser utilizada como uma forma de dissimular homicídios, fazendo-os parecer acidentes, ou para dificultar a identificação da vítima, o que gera obstáculos significativos nas investigações (Hercules, 2014).

Na esfera cível, nos casos de acidentes de trânsito em que o veículo é queimado e ocorre a morte de mais de uma pessoa da mesma família, a análise da presença de fuligem nas vias aéreas pode ajudar a esclarecer dúvidas sobre a causa da morte e questões relacionadas à comoriência e premoriência das vítimas, o que afeta diretamente o direito sucessório (Rosa, 2019).

1.2 Exames complementares em necrópsias em cadáveres carbonizados

As melhores formas de determinar a vitalidade em cadáveres carbonizados são a pesquisa macro e microscópica de fuligem nas vias aéreas e a pesquisa de carboxihemoglobina (COHb) no sangue (Knight, 2016). O monóxido de carbono é um gás produzido pela queima incompleta de combustíveis que contêm carbono e pode provocar a morte pela formação de um complexo com a hemoglobina (carboxihemoglobina), o qual prejudica o transporte de oxigênio pelo sangue (WHO, 1999).

A presença de fuligem nas vias aéreas inferiores indica que a vítima estava respirando ativamente durante o incêndio (Knight, 2016). No trabalho de Bhonert (2003), a pesquisa histológica de fuligem nas vias aéreas mostrou-se positiva com uma frequência maior do que a pesquisa de carboxihemoglobina no sangue, de acordo com análise de óbitos por incêndios ocorridos entre 1996 e 2002. Neste mesmo trabalho, a pesquisa de fuligem foi positiva em 64 dos 88 casos, enquanto a pesquisa de carboxihemoglobina foi positiva em 54 casos.

Em outra série de casos analisados por Gerling (2001), foram estudados 115 óbitos por ação térmica entre os anos de 1990 e 1999, no distrito do tribunal de Lübeck, Alemanha. Foram realizados exames complementares, como o estudo histopatológico das vísceras e a dosagem sanguínea de carboxihemoglobina. Na maioria dos casos, também foram feitas dosagens alcoólicas e, em casos individuais, estudos toxicológicos para excluir o efeito de

drogas e/ou medicação como contribuinte para a causa do óbito. Das 115 vítimas estudadas, 85 vieram a óbito na cena do incêndio. Dessas, 80% (68 casos) apresentou pesquisa de fuligem positiva nas vias aéreas, e 75% (64 casos) tiveram pesquisa de carboxihemoglobina positiva no sangue.

A elevação dos níveis de carboxihemoglobina (COHb) pode sofrer importantes variações, levando em conta as características individuais de cada pessoa. Jovens e crianças podem elevar os níveis dessa substância para índices fatais mais rapidamente do que um adulto, devido às altas taxas de metabolismo características dessa faixa etária. Em vítimas portadoras de doença coronariana, anemia ou enfisema pulmonar, o óbito pode ocorrer antes de a COHb atingir os níveis considerados fatais nas referências mais utilizadas (Paiva, 2006).

Maiese (2022) destaca como principais contribuições do exame histopatológico a avaliação da pele para pesquisa de fibrina e leucócitos no interior das bolhas, a fim de definir a presença de reação vital. Também destaca o exame das vias aéreas para avaliação do impacto gerado pela entrada do ar aquecido, que inclui dano ao epitélio respiratório de superfície desde a orofaringe, podendo atingir até o parênquima pulmonar e necrose coagulativa da mucosa da nasofaringe, laringe e traqueia. E, por fim, relata que no exame histológico é possível notar uma delicada camada de fuligem nas vias respiratórias, inclusive com a presença de partículas de fuligem profundamente aspiradas até no tecido pulmonar.

Para Knight (2016), a demonstração histológica de fuligem em brônquios mais periféricos, assim como em bronquíolos terminais, é prova absoluta de função respiratória durante o incêndio. Ele relata que as partículas de carbono geralmente estão misturadas ao muco, aderidas à parede da traqueia e dos brônquios.

Outros exames complementares podem ser solicitados, incluindo exames radiológicos, exame imuno-histoquímico, investigação genética e outras pesquisas toxicológicas, a depender da necessidade de cada caso (Maiese, 2022).

1.3 Técnicas de fixação tecidual e de remoção de pigmentos em histologia

A avaliação histopatológica de peças anatômicas requer um ciclo prévio de fixação que é uma das etapas mais importantes da técnica histológica, pois interrompe o metabolismo celular e estabiliza as estruturas, preservando os elementos celulares (Molinari, 2010).

A Sociedade Brasileira de Patologia (SBP), em seu Manual de Boas Práticas, recomenda a fixação dos materiais a serem analisados histopatologicamente em formalina tamponada a 10% (SBP, 2021). Entretanto, durante a fixação de tecidos com grande

quantidade de sangue, pode ocorrer a formação de um pigmento escuro (artefato) devido à reação do formol ácido com a hemoglobina, dando origem à hematina ácida formolínica ou pigmento formalínico (Pizzolato, 1976). A formação desse pigmento pode ocorrer mesmo quando a fixação é feita em solução tamponada, ou seja, neutra, pois em tecidos muito ácidos, como é o caso dos tecidos *post mortem*, os tampões são insuficientes para a neutralização completa (Chatzopoulos, 2020).

Em estudo conduzido na Mayo Clinic, em 2020, foi avaliado o impacto negativo da presença deste artefato (pigmento formalínico) na análise histológica de necropsia de corpos em decomposição, que pode se tornar fator de confusão com hemossiderina, lipofuscina e outros pigmentos escurecidos que são importantes para a definição da causa do óbito, nestes casos. Neste mesmo trabalho, os autores discutem que as possíveis razões de haver poucos estudos avaliando formas de remoção de pigmento formalínico são a falta de familiaridade com estes métodos e a aceitabilidade da presença do pigmento nas lâminas devido à confiança na capacidade do patologista em diferenciar tal pigmento de outros que possam estar presentes no tecido (Chatzopoulos, 2020).

Henhood (2010) discute quatro técnicas de remoção de pigmento formalínico na tentativa de definir qual é a melhor delas. As lâminas obtidas previamente de material fixado em formol 10% e de material fixado por FAA (fixador composto por uma mistura de etanol absoluto, ácido acético glacial, formalina concentrada e água destilada) são tratadas com: 1- ácido pícrico 1,8% em álcool absoluto por 15 min; 2- pela técnica de Garvey; 3- em etoxilato de alquifenol 5 min seguido de lavagem em água corrente por 5 min e 4- pela técnica PPO: na qual as lâminas são lavadas em permanganato de potássio 5% por 2 min, lavadas em água por 2 min e por fim imersas em ácido oxálico por 2 min. Para os casos nos quais havia grande quantidade de pigmento, ainda eram adotados procedimentos adicionais como tratamento da lâmina por peróxido de hidrogênio por 30% por 10 min, ácido periódico 1% por 15 min ou ácido crômico 5% seguido de bissulfito de sódio 2% por 10 min. O estudo conclui que a melhor forma de remoção de pigmento formalínico é a técnica de Garvey. Outros trabalhos também descrevem técnicas para remoção do pigmento formalínico após a preparação da lâmina, como por exemplo o uso de ácido pícrico para lavagem da lâmina já confeccionada (Lefevre, 1982; Molinaro, 2010) e uso de hidróxido de amônio para a remoção do pigmento (Silva, 2020).

O formol é um fixador químico que atua alterando a estrutura terciária das proteínas por meio da ligação cruzada com formaldeídos em sítios específicos (Pinto, 2010; Nunes, 2016). Por outro lado, o álcool é um fixador que atua alterando a estrutura terciária das

proteínas ao retirar a água e desestabilizar as ligações hidrofóbicas (Molinaro, 2010; Nunes, 2016).

O álcool 70% é um fixador alternativo livre de aldeídos que é conhecido há décadas. No entanto, esse fixador pode causar encolhimento do tecido, endurecimento, lise parcial ou total de eritrócitos, além de aumentar a inflamabilidade do ambiente. Esse composto é utilizado principalmente na conservação de pequenos fragmentos de tecido, o que permite uma rápida penetração e fixação (Oliveira, 2014). Tecidos fixados com álcool 70% apresentam boa fixação e visualização das estruturas. No entanto, é possível identificar a presença de vacúolos ao redor dos núcleos nas imagens histológicas, indicando retração tecidual devido à desidratação do tecido (Molinaro, 2010). Não há trabalhos, na literatura analisada, que estudem a viabilidade da utilização de um fixador alternativo em amostras retiradas de corpos carbonizados para atuar de forma preventiva, impedindo a formação do pigmento formalínico, eliminando, assim, a possibilidade de confusão entre este pigmento e a fuligem.

2 METODOLOGIA

Com o objetivo de produzir a proposta de protocolo para análise histopatológica forense das vias aéreas de cadáveres carbonizados, foi realizada, inicialmente, uma pesquisa bibliográfica exploratória sobre o tema. As buscas foram realizadas nas plataformas Pubmed, Lilacs, Google Scholar e banco de teses da Universidade de São Paulo (USP), e direcionadas para: avaliação necroscópica em cadáveres carbonizados, avaliação histopatológica das vias aéreas em cadáveres carbonizados, técnicas de fixação de tecido para exame histopatológico e técnicas de remoção do pigmento formalínico em lâminas histológicas. As palavras-chave utilizadas foram: *charred bodies*, *soot in airways*, *histopathology*, *tissue fixation techniques*, *formalin pigments*.

Para a construção do referido protocolo foram selecionadas, por conveniência, amostras oriundas de quatro casos de corpo carbonizados que foram analisadas no ano de 2023 na Seção de Patologia Forense (SEPAF) do Instituto Médico Legal Aristoclides Teixeira (IML-AT), em Goiânia-GO, com o objetivo de investigação da causa da morte.

Considerando que rotineiramente ocorre a formação de artefatos (pigmentos indesejados) relacionados à reação do formol com a hemoglobina, a seleção dos casos foi feita levando em consideração o pré-requisito de terem sido confeccionadas lâminas de material de via aérea com dois tipos distintos de fixadores: formol 10% (fixador universal) e álcool etílico

70% (fixação alternativa utilizada pela SEPAF de forma empírica). Outro critério utilizado nesta seleção de amostras foi o resultado da pesquisa macroscópica de fuligem nas vias aéreas durante o exame necroscópico (sinal de Montalti). Os casos nos quais houve dúvida ou os considerados negativos foram selecionados, pois são os que, em geral, demandam exame histológico. Quando a prova é positiva na macroscopia, teoricamente, a avaliação histológica está dispensada.

Todas as amostras analisadas são de vítimas fatais nas quais houve ação térmica (calor e fogo) significativa como eventual fator causador da morte, e sem identificação pessoal prévia: "corpo ignorado". Por estarem nessas condições, esses corpos foram inicialmente examinados na Seção de Antropologia Forense e Odontologia Legal (SAFOL) do IML-AT, onde foram realizadas as necropsias e a coleta de materiais biológicos para exame histopatológico.

O exame necroscópico dos corpos foi realizado de acordo com os padrões, regras e normas práticas estabelecidos no Procedimento Operacional Padrão (POP) do IML-AT, seguindo a técnica necroscópica de Ghon modificada com a retirada de coração, pulmões e estruturas do mediastino em monobloco. As vísceras foram inicialmente analisadas "a fresco" (sem fixação) e foram retiradas amostras de aproximadamente 2,0 x 2,0 cm da traqueia, brônquio e parênquima pulmonar distal. Esses três fragmentos foram acondicionados em frasco Falcon, contendo álcool 70% suficiente para cobrir completamente os fragmentos, para o processo de fixação. O restante do bloco cardiopulmonar foi acondicionado em saco de evidência contendo formol 10%, como é feito rotineiramente. Todas as amostras foram devidamente identificadas e fechadas com lacre numerado da instituição e encaminhadas, juntamente com a requisição de exame histopatológico, para a Seção de Patologia Forense.

No laboratório de patologia forense, as amostras foram analisadas da seguinte forma: as vísceras fixadas em formol foram seccionadas em cortes sagitais de aproximadamente 2,0 cm, em busca de anormalidades macroscópicas. Em seguida, foram selecionados fragmentos representativos de cerca de 2,0 x 2,0 cm da traqueia, brônquio e parênquima pulmonar distal. Em dois dos casos analisados, não foram retiradas amostras de traqueia fixadas em formol para exame histológico devido à falta de padronização prévia. Além disso, da amostra recebida em formol 10%, foram selecionados cortes de outros órgãos, caso tivessem sido enviados, com fragmentos representativos de cerca de 2,0 x 2,0 cm, para identificar possíveis patologias prévias ou atuais relacionadas ao óbito.

Os fragmentos obtidos "à fresco" e fixados no álcool etílico 70% e os fragmentos selecionados da amostra fixada em formol 10% foram processados de acordo com as normas

estabelecidas pelo Procedimento Operacional Padrão (POP) do IML-AT, no capítulo 12 (Patologia Forense). Esse processamento inclui: 1) desidratação e parafinação, em que as amostras são gradualmente expostas a uma série de soluções alcoólicas de concentrações crescentes e, por fim, imersas em parafina utilizando aparelho autotécnico; 2) inclusão em parafina, em que as amostras são imersas em parafina líquida e colocadas em moldes de inclusão para solidificação; 3) corte em micrótomo, em que os blocos de parafina contendo as amostras são cortados em fatias finas de aproximadamente 5,0 micrômetros de espessura; 4) confecção de lâminas, em que os cortes são transferidos para lâminas de vidro previamente tratadas; 5) coloração, em que as lâminas de vidro contendo os cortes são submetidas à técnica de coloração hematoxilina e eosina (HE), permitindo a visualização clara das estruturas celulares e teciduais sob um microscópio; e, por fim, 6) montagem das lâminas, em que as lâminas são cuidadosamente limpas e cobertas com uma camada de verniz para proteção e preservação para análise microscópica posterior.

Para comparar os resultados entre os materiais fixados em álcool 70% e em formol 10%, as lâminas produzidas previamente e armazenadas nos arquivos da SEPAF foram recuperadas e reexaminadas por dois observadores médicos patologistas forenses da seção (RMB) e (ICNF), de forma conjunta, com objetivo de determinar se o pigmento formalínico atua como agente de confusão e se a fixação pelo álcool etílico 70% é suficiente para eliminar 100% dos pigmentos indesejados. O microscópio utilizado para análise dos casos foi do modelo Eclipse E200 da marca Nikon. As lentes objetivas do microscópio utilizadas na análise e registros das imagens foram as de 10X e 40X.

Nestes moldes, foi realizada análise histopatológica qualitativa das lâminas para pesquisa de fuligem. A presença desta foi graduada da seguinte forma: a) pesquisa de fuligem negativa, quando não havia material enegrecido identificável a fuligem nas vias aéreas; b) pesquisa de fuligem positiva, quando havia material identificável a fuligem em vias aéreas e c) pesquisa de fuligem inconclusiva, quando não foi possível definir se havia ou não fuligem em vias aéreas. A pesquisa positiva foi subdividida em: positiva +/3+, quando a quantidade encontrada foi pequena; 2+/3+, quando a quantidade encontrada foi moderada e 3+/3+, quando a quantidade encontrada foi grande. A definição da graduação em pequena, moderada e grande quantidade de fuligem é estabelecida por critério visual com estimativa de percentual em 10 campos de grande aumento sendo que: fuligem presente em até 33% dos campos foi considerado pequena quantidade, entre 33% e 66% moderada quantidade e mais de 66% grande quantidade. As comparações entre os dois grupos foram realizadas por meio de tabelas

e imagens. Posteriormente, foi confeccionada a proposta de protocolo de envio de vísceras de cadáveres carbonizados para a SEPAF, tendo como base os achados deste estudo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1- Resultados

Os resultados obtidos estão sumarizados nos quadros 1 e 2 e são ilustrados pelas figuras de 1 a 16. O quadro 1 apresenta as circunstâncias do encontro do cadáver, o grau de queimadura ao exame externo e a pesquisa macroscópica de fuligem na via aérea (sinal de Montalti) nos casos estudados.

Quadro 1 – Circunstâncias do encontro do cadáver, grau de queimadura ao exame externo, pesquisa macroscópica de fuligem na via aérea (sinal de Montalti).

| | Circunstâncias | Grau da queimadura | Sinal de Montalti |
|--------|----------------------------|--------------------|-------------------|
| Caso 1 | Fogo em casa em construção | IV | Negativo |
| Caso 2 | Fogo em automóvel | IV | Negativo |
| Caso 3 | Fogo em automóvel | IV | Negativo |
| Caso 4 | Fogo em automóvel | IV | Negativo |

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

O quadro 2 apresenta os resultados da pesquisa histológica de fuligem nas vias aéreas, comparando fragmentos fixados em álcool 70% e em formol 10% para os 4 casos estudados.

Quadro 2 – Resultados da pesquisa histológica de fuligem nas vias aéreas comparando fragmentos fixados em álcool 70% e em formol 10% (n=4)

| Achados Histopatológicos | | | | | | |
|--------------------------|----------------------|------------------|------------------|----------------------|------------------|------------|
| | Fixado em formol 10% | | | Fixado em álcool 70% | | |
| | Traqueia | Brônquio | Parênquima | Traqueia | Brônquio | Parênquima |
| Caso 1 | Não disponível | Inconclusivo | Inconclusivo | Negativo | Negativo | Negativo |
| Caso 2 | Positivo (+/3+) | Positivo (+/3+) | Positivo (3+/3+) | Positivo (+/3+) | Negativo | Negativo |
| Caso 3 | Não disponível | Positivo (+/3+) | Positivo (+/3+) | Positivo (+/3+) | Positivo (+/3+) | Negativo |
| Caso 4 | Positivo (2+/3+) | Positivo (2+/3+) | Positivo (2+/3+) | Positivo (2+/3+) | Positivo (2+/3+) | Negativo |

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

As figuras representam as imagens obtidas por fotografia da microscopia dos casos selecionados. É possível constatar que a qualidade da lâmina do material fixado no álcool 70% não foi inferior à qualidade da lâmina do material fixado em formol 10%, permitindo análise histopatológica adequada.

O caso 1 representa um exame tipicamente negativo para pesquisa de fuligem no qual a presença de pigmento formalínico apresenta-se como fator de confusão. As figuras 1 e 2 ilustram fragmentos de brônquio e do parênquima com presença de pigmento escurecido que gera dúvida sobre sua natureza. As figuras 3 e 4 representam as mesmas áreas (brônquio e parênquima), porém, com a utilização da fixação por álcool etílico 70%. As setas vermelhas nas figuras 1 e 2 apontam o pigmento escurecido que, neste caso, tem natureza artefactual. Isso se confirma ao compararmos estas figuras com as figuras 3 e 4 que se apresentam limpas.

Figura 1 - caso 1; brônquio; formol 10%, 10x

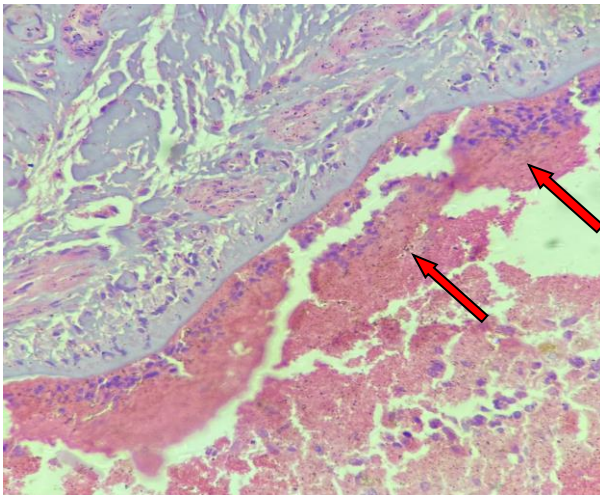


Figura 2 - caso 1; parênquima; formol 10%, 40x.

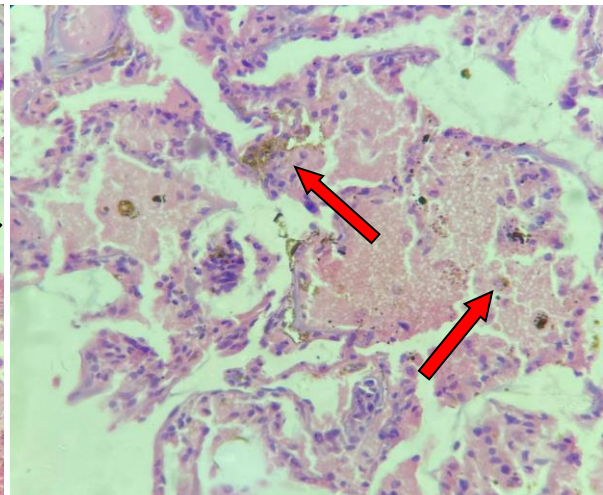


Figura 3 – caso 1; brônquio; álcool; 10X; N

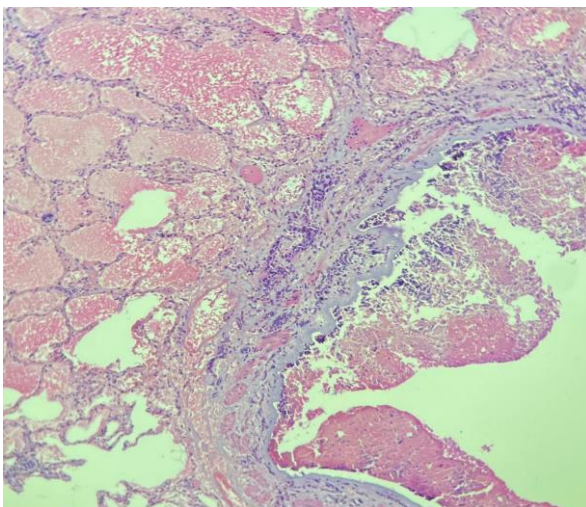
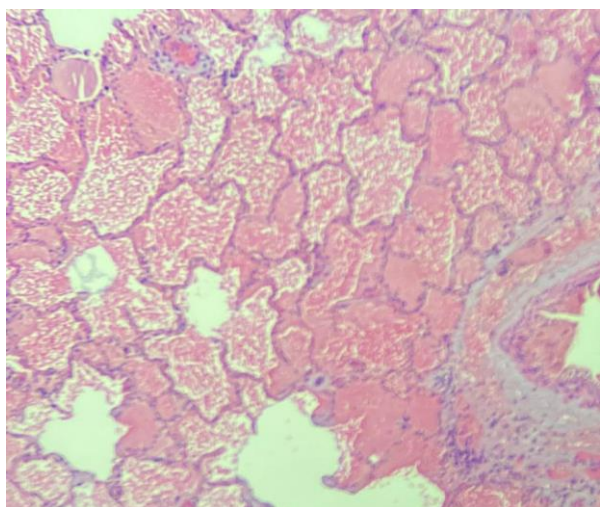


Figura 4– caso 1; parênquima; álcool; 10X; N



No caso 2, a presença de grande quantidade de pigmento formalínico gera um resultado falso positivo na pesquisa de fuligem tanto em brônquio quanto em parênquima. A presença de pigmento formalínico não influenciou o resultado da pesquisa de fuligem na traqueia, neste caso. As setas verdes apontam para a fuligem em traqueia, que está presente tanto no material fixado em formol 10% (figura 5), quanto no material fixado em álcool 70% (figura 6). As setas vermelhas representam o pigmento formalínico em brônquios (figura 7) e parênquima pulmonar distal (figura 8) do material fixado em formol 10%.

Figura 5 – caso 2; traqueia; formol; 40X; (+/3+)

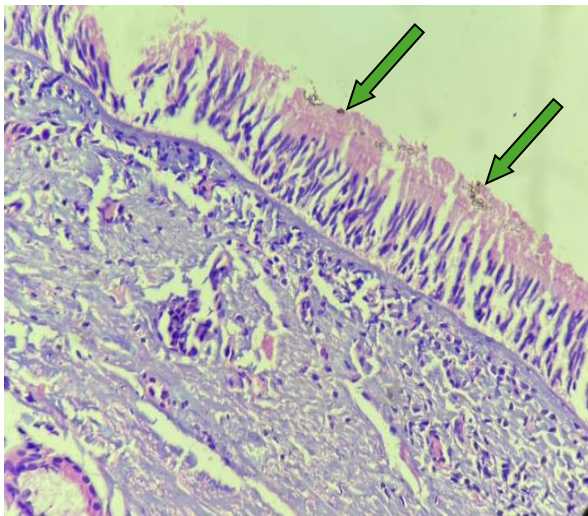


Figura 6 – caso 2; traqueia; álcool; 40X; (+/3+)

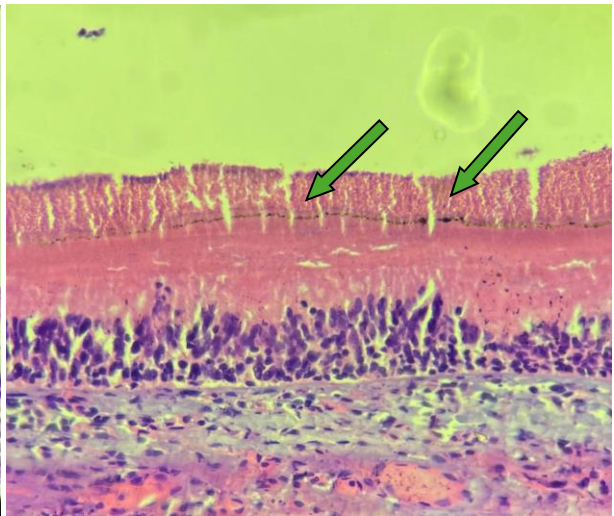


Figura 7 – caso 2; brônquio formol; 10X; (+/3+)

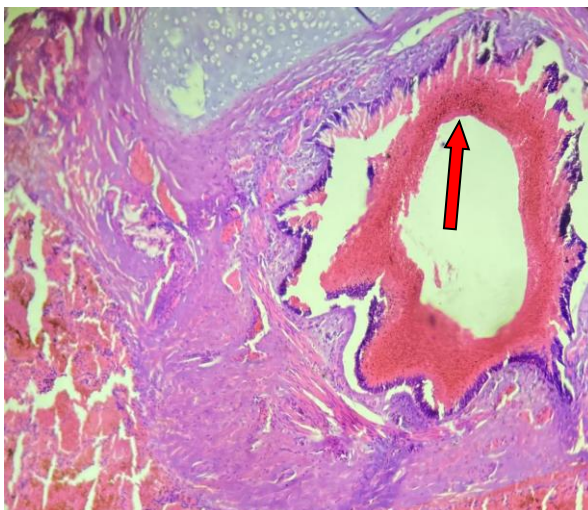
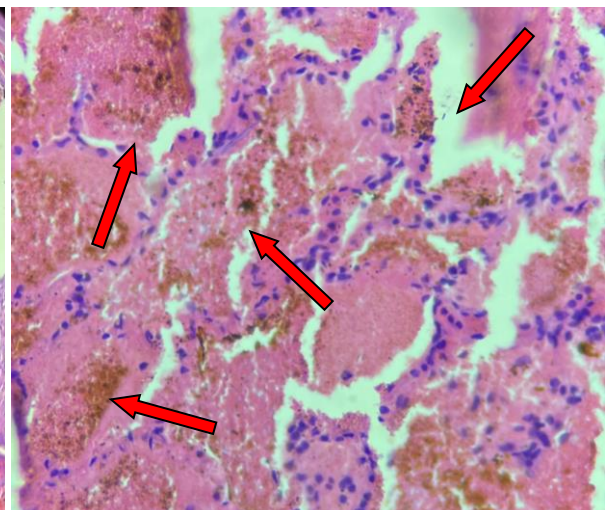


Figura 8 – caso 2; parênquima; formol; 40X; (3+/3+)



É possível notar que as amostras fixadas em álcool 70% obtidas dos brônquios (figura 9) e parênquima pulmonar distal (figura 10) do caso 2 mostram-se limpas, livres de

pigmento, o que confirma a natureza artefactual do pigmento observado nas lâminas fixadas em formol 10% obtidas das mesmas topografias.

Figura 9 – caso 2; brônquio; álcool; 10X; N

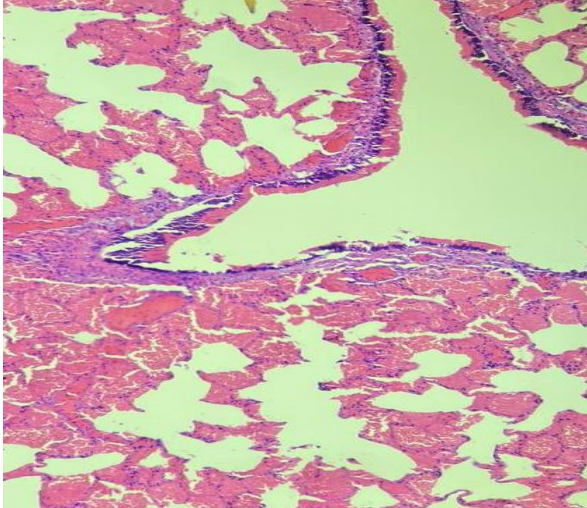
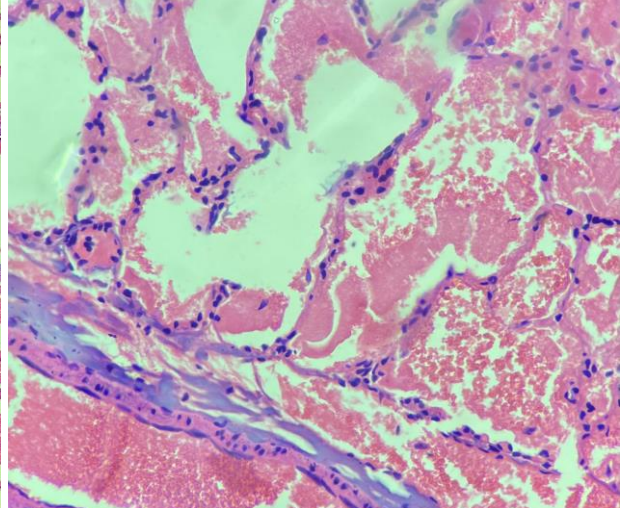


Figura 10 – caso 2; parênquima; álcool; 40X; N



Nos casos 3 e 4 a presença do pigmento artefactual gera resultado falso positivo na pesquisa de fuligem no parênquima. Em ambos os casos é possível notar que as lâminas fixadas em álcool 70% se mostram limpas, livres de pigmentos que possam ser identificados como fuligem.

Figura 11 – caso 3; brônquio; formol; 10X; (+/3+)

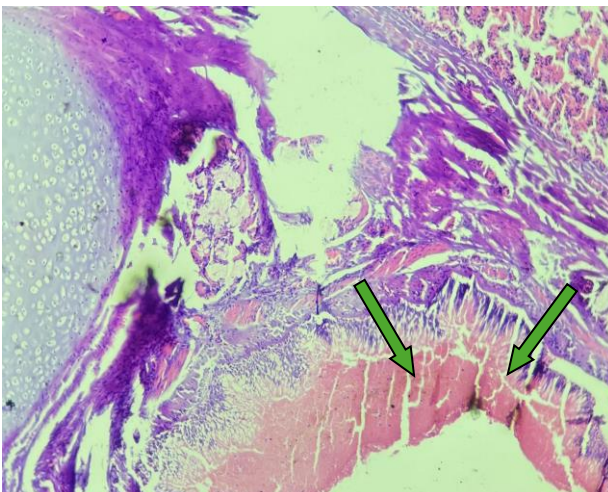
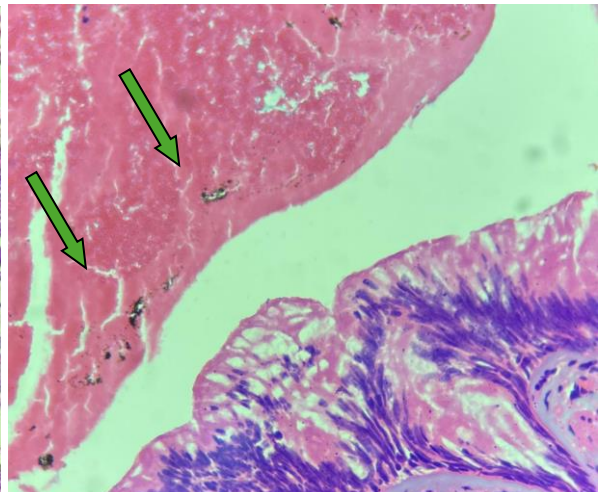


Figura 12; caso 3; brônquio; álcool, 40X, (+/3+)



As setas verdes nas figuras 11 e 12 indicam a fuligem presente em brônquios tanto na amostra fixada em álcool 70% quanto na amostra fixada em formol 10% do caso 3. As setas vermelhas da figura 13 indicam pigmento formalínico no parênquima do mesmo caso. Isto

pode ser confirmado pela análise da figura 14 que representa a mesma topografia fixada por álcool 70% e mostra-se livre de pigmento.

Figura 13 – caso 3; parênquima; formol; 10X; (+/3+)

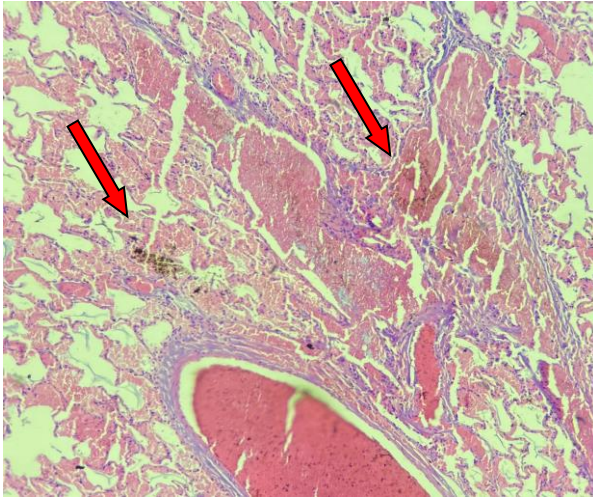
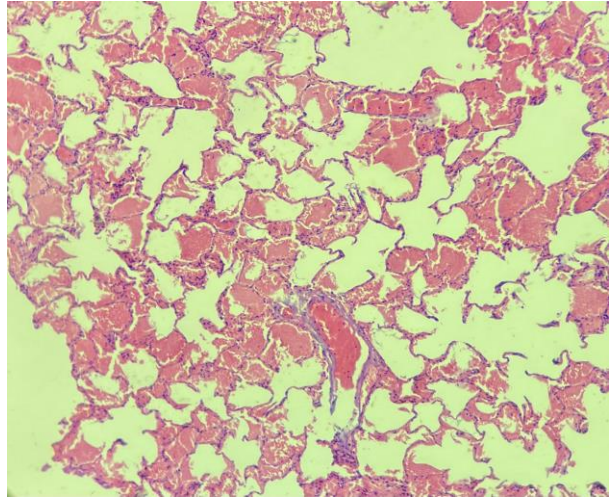


Figura 14; caso 3; parênquima; álcool, 10X, N



As figuras 15 e 16 ilustram o caso 4. As setas vermelhas na figura 15 apontam o pigmento artefactual presente no parênquima. A seta verde, na mesma figura, mostra a fuligem presente em um bronquíolo próximo ao parênquima. É possível notar a semelhança entre os dois pigmentos. A figura 16 mostra o parênquima do mesmo caso fixado em álcool 70% que se mostra livre de pigmento.

Figura 15 – caso 4; parênquima; formol; 10X; (2+/3+)

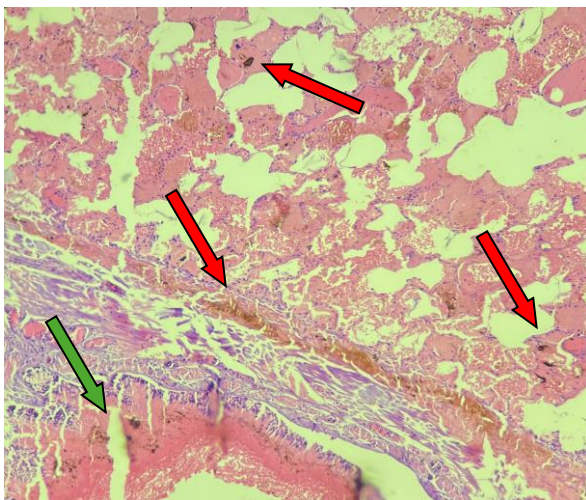
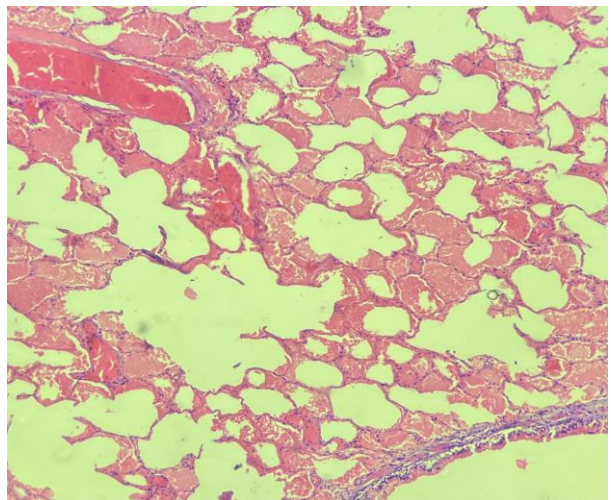


Figura 16 – caso 4; parênquima; álcool; 10X; N



As constatações encontradas na literatura e nos quatro casos ilustrados neste trabalho evidenciam a necessidade de elaboração de protocolo para estudo anatomopatológico em

cadáveres carbonizados que envolva orientações acerca dos aspectos da macroscopia das vias aéreas quando da realização do exame necroscópico, análise de presença de fuligem em vias aéreas superiores, tomada de decisão para coleta e encaminhamento das vísceras/bloco visceral, acondicionamento de vísceras e escolha do material de fixação para análise histológica com pesquisa de fuligem.

Ressalta-se que tal protocolo não tem por objetivo abordar o ato necroscópico do cadáver carbonizado, o que não compete à Seção de Patologia Forense. Ele tem por objetivo a padronização da coleta das amostras que serão enviadas para estudo histopatológico e deve seguir os seguintes passos:

1- Na necropsia, proceder a inspeção macroscópica das vias aéreas através da abertura do lúmen do trato respiratório.

2- Tomar a decisão sobre a coleta de material para estudo histopatológico. A observação indubitável de fuligem à macroscopia, abaixo da laringe (Sinal de Montalti positivo) ou a sua ausência certa, dispensa a coleta de material específico para pesquisa histológica de fuligem. Fica a critério do legista do caso enviar vísceras fixadas em formol 10% para pesquisa comorbidades que possam ter tido influência no desfecho do óbito. Caso haja dúvida em relação à pesquisa de fuligem ou pelo livre convencimento do legista examinador deve ser colhido material para exame histológico.

3- Para coletar as amostras, recomenda-se que os blocos cardiopulmonar e cervical sejam retirados em conjunto, segundo técnica de Gohn, ou seja, desde a língua até a faringe e a laringe, conforme descrito por Maiese (2022).

4- Do bloco “à fresco” colher fragmentos de 2,0 x 2,0 cm da traqueia, bifurcação dos brônquios (local de grande probabilidade de impactação de fuligem por sua anatomia (Kumar, 2021) e parênquima distal. Estes fragmentos devem ser alocados em frasco Falcon com álcool 70% suficiente para cobri-los. As amostras podem ser colocadas juntas, em mesmo frasco, sem prejuízo para sua análise e identificação. Este frasco deve ser colocado no interior de um saco de evidências com tamanho adequado devidamente identificado com nome da vítima, número do exame cadavérico e número do lacre a fim de que se mantenha a cadeia de custódia. Sugere-se que esteja escrito, neste saco de evidência, “álcool 70%”, em local visível, para que não haja dúvida da natureza de sua fixação na chegada desta amostra ao laboratório de patologia forense.

5- Em seguida, lavar o restante do monobloco delicadamente para que seja retirado o excesso de sangue. Então, recomenda-se que seja colocado formol com funil no interior da traqueia para que a parte interna dos pulmões não sofra autólise. O monobloco

deve ser acondicionado no interior de saco de evidência devidamente identificado com nome da vítima, número do exame cadavérico e número do laque a fim de que seja mantida a cadeia de custódia. Sugere-se que os dois sacos de evidência sejam presos um ao outro por meio de barbante ou laque para que não se percam durante o transporte.

6- Confeccionar pedido médico com os dados da vítima, histórico do fato, achados necroscópicos relevantes, incluindo a presença ou não do sinal de Montalti, e a hipótese diagnóstica do legista responsável pela necropsia para o caso em questão.

7- Após a chegada deste exame no laboratório de patologia, os materiais (tanto fixados no formol 10%, quanto os fixados em álcool 70%) devem seguir o fluxo estabelecido no POP do IML-AT, no capítulo 12 (Patologia Forense), não havendo diferença no processo de macroscopia, processamento, inclusão, corte, coloração ou montagem das lâminas. Na macroscopia, deve-se deixar explícito em legenda o local de retirada da amostra com sua numeração específica acrescida do fixador utilizado naquela amostra. Por exemplo: “bloco 1- traqueia – formol”; “bloco 2 - traqueia – álcool”.

Este protocolo está sumarizado na forma de fluxograma no Anexo deste trabalho. O fluxograma tem o objetivo de tornar prático o procedimento, podendo estar disponível dentro das salas de necropsia.

3.2- Discussões:

O exame necroscópico em vítimas de carbonização é sempre desafiador e, com muita frequência, são necessários exames complementares para definição da vitalidade e causa do óbito (Fantom, 2006). Os exames mais utilizados para esse fim, segundo a maioria dos autores, são a pesquisa de fuligem nas vias aéreas e a pesquisa de carboxihemoglobina no sangue (Knight, 2016). A pesquisa macroscópica de fuligem nas vias aéreas, conhecida como sinal de Montalti, nem sempre apresenta resultados positivos, nos casos em que a carbonização ocorre em vida, com a regularidade desejada (Paiva, 2006). Em alguns casos, a destruição da face e do pescoço pelo fogo, a presença de pequena quantidade de fuligem na traqueia ou até mesmo a realização do exame durante a noite sem iluminação ideal podem prejudicar a análise macroscópica e, nesses casos duvidosos, o exame histológico pode ser fundamental.

Dessa forma, é essencial que essa ferramenta não apresente fatores artefatuais que possam limitar sua confiabilidade. Ao analisar o material selecionado neste trabalho, observa-se que, no caso 1, a presença de pigmento formalínico gerou dúvidas na interpretação da lâmina de pesquisa histológica de fuligem. Como não havia nenhuma área com padrão de

distribuição típico, os patologistas consideraram as análises das lâminas provenientes do brônquio e do parênquima inconclusivas. Nesse caso, não foi coletado material da traqueia da amostra fixada em formol, o que demonstra a falta de padronização na coleta. As lâminas do material fixado em álcool 70% estavam limpas e livres de pigmentos escurecidos, o que permitiu concluir o exame como negativo para pesquisa de fuligem nas vias aéreas.

No caso 2, a pesquisa de fuligem apresentou resultado falso positivo nas lâminas provenientes do material fixado em formol, tanto no brônquio quanto no parênquima. A presença de fuligem com distribuição de padrão clássico na traqueia levou os patologistas a, erroneamente, inferirem que o pigmento formalínico presente nas lâminas do brônquio e do parênquima era, na verdade, fuligem. Assim como no caso 1, no caso 3 também não foi coletada amostra fixada em formol da traqueia, o que reforça ainda mais a necessidade de criação de um protocolo com padronização da coleta de amostras nos casos de vítimas de carbonização. Neste caso, assim como também ocorreu no caso 4, a presença de fuligem com padrão de distribuição clássico na traqueia e nos brônquios fez com que os patologistas inferissem, de forma errônea, que o pigmento presente no parênquima se tratasse de fuligem também.

Em trabalho publicado nos Estados Unidos, em 2020, são analisados os efeitos da presença de pigmento formalínico no estudo histopatológico das vísceras de cadáveres em decomposição. São feitas reflexões sobre as limitações que a presença deste pigmento representa, com destaque para a confusão que ele gera em relação à hemossiderina, pigmento oriundo da quebra da hemoglobina que está presente, por exemplo, em áreas de hemorragias subagudas. Nestes casos, a presença de hemossiderina pode indicar que a hemorragia não ocorreu no momento do óbito, e sim algum tempo antes deste. Por isso, a presença do pigmento formalínico gerando confusão pode ter consequências sérias, como afirmar que uma hemorragia aguda é subaguda, retirando o nexo de causalidade com o evento hemorrágico atual (Chatzopoulos, 2020).

Este mesmo trabalho sugere e analisa formas de remover o pigmento formalínico. O estudo compara duas técnicas, a conhecida como técnica de Garvey e a que utiliza Hidróxido de amônio alcoólico, e conclui que a segunda apresenta um melhor resultado na eliminação do pigmento (até 98,5% do pigmento removido). Em seu livro de técnicas, Curlling (1974), chega a afirmar que não é possível branquear, ou seja, eliminar, o pigmento formalínico. Henwood (2010) analisa três técnicas de remoção de pigmento formalínico em materiais fixados em solução composta por álcool absoluto, ácido acético glacial, formol concentrado (37%) e água destilada. As técnicas utilizadas para remoção incluem o uso de solução de

ácido pícrico 1,8% em solução alcoólica, técnica de Garvey e PPO, que utiliza permanganato de potássio para tratar as lâminas, e ácido oxálico. Ele conclui que as técnicas são eficientes no clareamento do pigmento, entretanto, analisando seus resultados, é possível notar que a remoção do pigmento formalínico não é total nos casos em que há grande quantidade do mesmo.

Diante disso, pode-se inferir que atuar na prevenção da formação do pigmento através da fixação das amostras em um meio diferente do formol pode ser mais interessante do que atuar na remoção do pigmento após a confecção da lâmina. Além disso, deve-se considerar que as múltiplas etapas às quais essas amostras são submetidas aumentam as chances de erro no processo e aumentam os custos, pois há necessidade de compra dos materiais. Somado a tudo isso, ainda há a possibilidade de que o pigmento não seja 100% removido, o que levaria a um desperdício de recursos e baixa confiabilidade da perícia.

A análise dos dados obtidos neste estudo mostra que o local de maior impacto da presença do pigmento formalínico na pesquisa de fuligem em vias aéreas de vítimas de carbonização é o parênquima. É possível que este fato esteja associado a este ser o local onde mais há sangue acumulado nos casos analisados. Isto se justifica, pois o pigmento artefactual tem origem na reação do formol ácido com a hemoglobina presente no sangue (Pizzolato, 1976).

A Sociedade Brasileira de Patologia (SBP, 2021) recomenda a fixação de amostras de patologia cirúrgica em formol tamponado, o que, em tese, deveria mitigar a formação do pigmento formalínico. Entretanto, na prática, esta redução não é observada, provavelmente devido ao fato de a degradação tecidual *post mortem* levar a uma acidificação dos tecidos e do sangue (Chatzopoulos, 2020). Isto pode levar a uma maior dificuldade em definir o pH exato necessário para neutralizar a acidez do tecido. Nas amostras retiradas de organismos vivos, como é o caso das peças cirúrgicas, é sabido que o pH deve estar próximo a 7,0 pois este é o pH aproximado do nosso sangue (Hall, 2021).

Observando as figuras 2 e 8 obtidas do parênquima de dois cadáveres diferentes e fixadas por formol, observa-se formação de grande quantidade pigmento formalínico. Isto nos permite confirmar a impressão gerada pela análise dos dados descritos anteriormente. As figuras 4 e 10, que representam áreas do parênquima fixadas pelo álcool 70%, mostram que as lâminas estão limpas e livres de pigmento, permitindo a liberação do exame como ausência de fuligem no parênquima distal. Ou seja, a simples fixação de amostras retiradas das vísceras “à fresco” em álcool 70%, no ato na necrópsia, pode impedir a formação do pigmento

formalínico que é tão prejudicial na avaliação histológica de vias aéreas de cadáveres carbonizados.

Vale considerar também que as amostras fixadas em álcool 70% não apresentaram qualidade técnica inferior às lâminas fixadas em formol e permitiram análise histopatológica adequada. Os artefatos rotineiramente apresentados em lâminas fixadas por álcool, tais quais retração de tecidos, são provocadas pela ação de desidratação típica desta substância (Molinari, 2010). O uso do álcool a uma concentração mais baixa (70%) pode ter mitigado este efeito nas lâminas avaliadas no presente estudo.

Diante disto, justifica-se criar protocolo para coleta de amostras das vísceras de corpos carbonizados para pesquisa histológica de fuligem. O procedimento não apresenta dificuldades técnicas podendo ser realizado pela equipe responsável pela necropsia sem necessidade de recursos humanos adicionais. Além disto, possui muito baixo custo e utiliza, além dos materiais já disponíveis na sala de necropsia, uma pequena quantidade de álcool 70%, material amplamente disponível e barato.

CONCLUSÃO

Na análise pericial de cadáveres carbonizados a pesquisa histológica de fuligem em vias aéreas é de grande importância, pois a sua positividade em vias aéreas inferiores (abaixo da laringe) representa prova inequívoca de respiração ativa da vítima durante o incêndio, o que considerado prova de vitalidade.

Por meio dos casos analisados e da revisão da literatura, foi possível construir um protocolo para estudo anatomopatológico em cadáveres carbonizados que envolveu orientações acerca dos aspectos macroscópicos das vias aéreas quando da realização do exame necroscópico, análise de presença de fuligem em vias aéreas superiores, tomada de decisão para coleta e encaminhamento das vísceras/bloco visceral, acondicionamento de vísceras, escolha do material de fixação (formol 10% e álcool 70%) e análise histológica para a identificação da presença de fuligem.

Com este protocolo é possível padronizar a coleta de vísceras, nestes casos, tornando o método de fixação alternativa desenvolvido pela Seção de Patologia Forense do IML-AT reproduzível e aplicável em todos os IML's do estado de Goiás.

Nesta desafiadora e fascinante área da medicina legal ainda há vasto campo de exploração para futuros estudos. A validação deste método por outros serviços, o significado

do nível de aspiração da fuligem e sua correlação com o tempo de exposição ao fogo são apenas algumas das possibilidades que devem ser exploradas.

REFERÊNCIAS

BOHNERT, M.; WERNER, C. R.; POLLAK, S. Problems associated with the diagnosis of vitality in burned bodies. **Forensic Science International**, v. 135, n. 3, p. 197–205, ago. 2003.

BRASIL. **Decreto-Lei nº 2.848, de 7 de dezembro de 1940**. Código Penal. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 31 dez. 1940. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto-lei/del2848.htm>. Acesso em: 14/03/2024.

CHATZOPOULOS, K. et al. Formalin pigment artifact deposition in autopsy tissue: predisposing factors, patterns of distribution and methods for removal. **Forensic Science, Medicine and Pathology**, v. 16, n. 3, p. 435–441, 23 mar. 2020.

CULLING, C. F. A. **Handbook of Histopathological and Histochemical Techniques**. 3 ed. England: Butterworths, 1974.

FANTON, L.; JDEED, K.; TILHET-COARTET, S.; MALICIER, D. **Criminal burning**. **Forensic Sci Int**, v. 158, p. 87-93, 2006.

FERREIRA, M. S., ZERBINI, T., GIANVECCHIO, V. A. P., TSUCHIYA, M. J., MUÑOZ, D. R. Relato de caso: Diagnóstico de lesão traumática em corpo parcialmente carbonizado. **Saúde, Ética & Justiça**, v. 13, n. 1, p. 42-5, 2008.

FRANÇA. **Medicina Legal**. 7 ed. Brasil: Editora Guanabara Koogan Ltda, 2011.

GERLING, I.; MEISSNER, C.; REITER, A.; OEHMICHEN, M. Death from thermal effects and burns. **Forensic Science International**, v. 115, p. 33-41, 2001.

GOIÁS. Secretaria de Estado da Segurança Pública. Superintendência de Polícia Técnico-Científica. **Procedimento Operacional Padrão**. IMLAT/SPTC. Versão n.º 01. Set, 2020.

FROEDE, R. C.; DAVIS, G. J.; PRAHLOW, J. A.; RANDALL, B. B.; REAY, Donald, T.; WEEDN, V. **Handbook of Forensic Pathology**. 2 ed. Northfield, IL: College of American Pathologists, 2003.

HALL, J. E. **Guyton e Hall Tratado de Fisiologia Médica**. 14 ed. São Paulo: Gen Guanabara, 2021.

HENWOOD, A. What is the Best Procedure to Remove Formalin Pigment from Formaldehyde-Acetic Acid-Alcohol Fixed Tissues? **The Journal of Histotechnology**, [s.l.], v. 33, n. 3, p. 109-111, set. 2010.

HERCULES, H. de C. **Medicina legal: texto e atlas**. 2 ed., rev. e ampl. São Paulo: Atheneu, 2014.

HIRATA, M. H.; TAVARES, V.; HIRATA, R. D. C. Da biologia molecular à medicina: métodos comumente utilizados em farmacogenética. **Medicina** (Ribeirão Preto), v. 39, n. 4, p. 522-534, 2006.

KNIGHT, P.; SAUKKO, P. **Knight's Forensic Pathology**. 4 ed. Boca Raton: CRC Press, 2016.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C. Robbins and Cotran – Patologia – **Bases patológicas das doenças**. 10 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2021.

LEFEVRE, M. E.; GREEN, F. H. Y.; JOEL, D. D.; LAQUEUR, I. W. Frequency of black pigment in livers and spleens of coal workers: correlation with pulmonary pathology and occupational information. **Human Pathology**, v. 13, n. 12, p. 1111-1115, Dec. 1982.

MAIESE, A.; CIALLELLA, Costantino C.; DELL'AQUILA, M.; DE MATTEIS, A.; TONI, C.; SCATENA, A.; LA RUSSA, R.; MEZZETTI, E.; DI PAOLO, M.; TURILLAZZI, E.; FRATI, P.; FINESCHI, V. Cause of Death in Charred Bodies: Reflections and Operational Insights Based on a Large Cases Study. **Diagnostics**, v. 12, n. 1986, 2022.

MISHRA, P. K., TOMAR, J., SAXENA, D., VERMA, P.; VARUN, A. Medicolegal aspect of Thermal burns - A prospective study. **Indian Journal of Forensic and Community Medicine**, v. 4, n. 3, p. 146-150, jul./sept. 2017.

MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**, v. 2. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2010.

NUNES, C. S.; CINSA, L. A. Princípios do processamento histológico de rotina. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais**, v. 8, n. único, p. 31-40, 2016.

OLIVEIRA, M. O.; Solução fixadora alternativa (livre de aldeídos) a partir de composto vegetal isolado para preservação do sistema nervoso, 2005. **Trabalho de conclusão de curso Universidade Federal Fluminense**. Departamento de Morfologia, Instituto Biomédico, Niterói, 2005.

PAIVA, L. A. S. Determinantes morfológicos da ação do fogo nos pulmões em autópsias forenses. 2005. **Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo**, Departamento de Patologia, São Paulo, 2005.

PAIVA, L. S. A. Patologia forense nas mortes com evidente ação do fogo. **Saúde, Ética & Justiça**, v. 11, n. 1/2, p. 1-7, 2006.

PIZZOLATO, P. Formalin pigment (acid hematin) and related pigments. **Am J Med Technol**, [s.l.], v. 42, p. 436-440, 1976.

PINTO, I. C. N. V. B. Avaliação de novos fixadores em anatomia patológica. 2010. **Dissertação** (Mestrado em Biologia Molecular e Celular) Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal, 2010.

ROSA, Conrado Paulino da; RODRIGUES, Marco Antonio. **Inventário e Partilha: Teoria e Prática**. Salvador: Ed. JusPodivm, 2019.

SILVA, A. V. Avaliação da expressão imuno-histoquímica de NGF e TrkA durante o envelhecimento de glândulas salivares sublinguais humanas. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Biotecnologia em Saúde – Vacinas e Biofármacos) **Centro de Formação de Recursos Humanos para o SUS/SP**, Instituto Butantan, São Paulo, 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA. **Manual de Boas práticas em patologia**. 1. ed. São Paulo, SP, 2021. 90p.

WHO. Carbon Monoxide. 2 ed. United Nations Environment Programme, International Labour Organisation, World Health Organization. Geneva: **World Health Organization**, 1999.

ANEXO 1 – FLUXOGRAMA PARA COLETA DE VÍSCERAS DE CORPOS CARBONIZADOS PARA PESQUISA HISTOLÓGICA DE FULIGEM EM VIAS AÉREAS

