

**UTILIZAÇÃO DE RESINA POLIESTER COMO MEIO  
DE INCLUSÃO PARA ANIMAIS****Pedro Jurberg<sup>1</sup>****ABSTRACT**

*In this paper the application of the resin poliester (Polylite 8001) for the inclusion of animals is described.*

O uso de resina poliester é largamente difundido em outros países como meio de inclusão de peças biológicas. Sydman et al. (1961), Kuhn & Lutz (1958) utilizaram-se deste plástico como material de inclusão para histologia, Kampmeier & Haviland (1948), Kampmeier & Hospodar (1951), Hofer & Lautenschlager (1964) empregaram-na em preparações de peças de museu; Courthight (1966) usou um tipo desta resina como meio de montagem de lâminas de Nematódeos e Acontocéfalos; Shuster & Eble (1961) utilizaram de um poliester (Ward's Bioplastic), para inclusão de peças malacológicas. No Brasil podemos citar Vieira Filho et al. (1952) e Weigl & Kisielius (1968) que empregaram a resina Crystic 196, produzida pela Alba S.A. Indústria Química, na inclusão de peças para microscopia eletrônica. Jurberg & Barth (1964) utilizaram resina poliester PolyLite 8001 para o estudo da forma interna das conchas dos moluscos. Coiro et al. (1972) utilizaram-se do mesmo material na inclusão de peças histológicas e microscopia eletrônica.

Descreveremos a técnica que utilizamos para inclusão de animais inteiros de diversos grupos zoológicos (Cnidários, Asquelmintos, Artrópodos (insetos e crustáceos) e Moluscos (concha e parte mole) e Anfíbios), para ensino e pesquisa porquanto o material incluído pode ser cortado em diversos planos para o estudo relativo da disposição dos órgãos.

**ALGUMAS CONSIDERAÇÕES E CARACTERÍSTICAS  
DA RESINA POLYLITE 8001**

Segundo os fabricantes, é uma resina xaroposa, 100% polimerizável, contendo 33% de estireno, com peso específico a 25° de 1.130. Mantém-se estável cerca de 6 meses a 25°C sendo que a 10°C a estabilidade é muito maior. A resina é dissolvida por solventes orgânicos, e.g. Estireno, Cetonas.

Para polimerizar (endurecer) o PolyLite, adiciona-se um catalizador denominado peróxido de MEK (Peróxido de metil etil cetona) e um acelerador (Nafatenato de Cobalto). Sendo a mistura do catalizador e acelerador explosível, adiciona-se à resina Poliester primeiramente o acelerador e, depois de homogenei-

<sup>1</sup> Departamento de Biologia - Instituto Oswaldo Cruz - Rio de Janeiro - Brasil.

zar bem, adiciona-se o catalizador.

O tempo de polimerização depende da quantidade do catalisador e do acelerador; entretanto, uma maior quantidade do Naftenato de Cobalto torna o bloco róseo.

## PROCEDIMENTOS PARA INCLUSÃO DO MATERIAL

### 1 - Fixação do Material

Fixar o material biológico em formol a 10% ou outro fixador qualquer e posteriormente lavar em água corrente a fim de eliminar o fixador.

### 2 - Desidratação

Colocar o material em uma série de álcool (a 40GL, 70GL, 96GL, e absoluto). Deixar o material 24 horas em cada solução.

### 3 - Diafanização

Colocar o material em misturas:

- a) álcool absoluto: 3 partes; estireno: 1 parte
- b) álcool absoluto: 1 parte; estireno: 1 parte
- c) álcool absoluto: 1 parte; estireno: 3 partes
- d) estireno.

Deixar por 12 horas em cada líquido.

Quando desejar o material biológico em cores naturais pode-se substituir o estireno por acetona, que não diafaniza a peça; neste caso, o material biológico não deve ficar muito tempo no poliéster (fase 4) pois, a própria resina contém 33% de estireno e este diafaniza o material.

Na fase 3D, pode-se utilizar uma solução de anidrido acético a 10% em estireno ou acetona, conforme o caso. Este procedimento é recomendado por Hofer & Lautenschlager (1964), a fim de evitar bolhas nos blocos.

### 4 - Embebição

- a) Colocar o material em uma solução de Polylyte em estireno ou acetona (conforme se desejar o material diafanizado ou com cores naturais) a 50%;
- b) colocar as peças na resina de poliéster pura.

### 5 - Emblocamento e polimerização

a) Preparo do molde: untar o molde (que poderá ser de vidro, metal polido ou polietileno); Kampmeier & Haviland (1951) recomenda o uso de madeira com uma solução saturada de cera de carnaúba em xilol; deixando-se secar, forma-se uma fina camada de cera que funciona como descolante.

b) Preparo da resina Polylyte:

- Polylyte 8001 . . . . . 100 cm<sup>3</sup>
- Naftenato de Cobalto . . . . . 0,05 cm<sup>3</sup>
- Peróxido de MEK . . . . . 1 cm<sup>3</sup>

São preparadas duas soluções A e B idênticas, com intervalo de 2 horas. Para o seu preparo, mistura-se o Naftenato de Cobalto à resina e, após total homogeneização, adiciona-se peróxido de MEK, homogeneizando bem.

c) Em seguida, verte-se a solução (A) no molde, até atingir a metade.

d) O material biológico que estava na resina Polylyte sem catalizador (fase 4B) é colocado em um recipiente, à parte, com um pouco da solução preparada na fase 5 B.

e) Após um período de duas horas, coloca-se o material no molde e verte-se a solução B, que é idêntica à solução A obtida em 5B. Deve-se ter o máximo cuidado de observar as mesmas proporções.

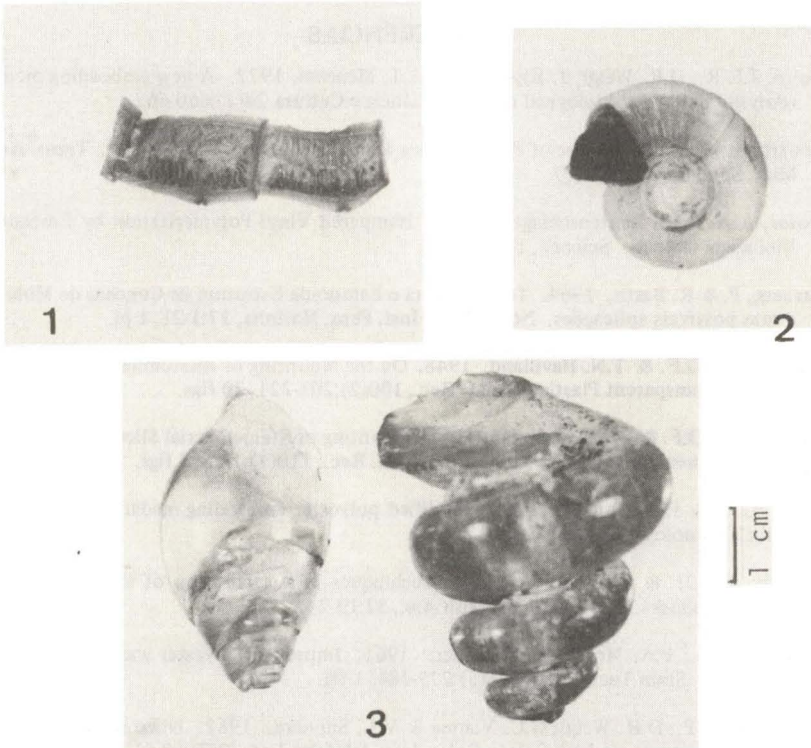
O preparo de duas soluções (A e B) com a mesma composição, tendo duas horas de diferença entre a 1ª e a 2ª, faz-se necessário visto termos que colocar a peça biológica no meio do bloco; sendo assim, a solução A endurecerá duas horas antes no molde, formando uma base para a colocação da peça. Antes de endurecer, o Polylyte passa para o estado gel; é nessa fase que a peça deve ser colocada, vertendo-se em seguida a solução B.

### 6 - Polimento

a) Após o preparo do bloco, deixar polimerizar pelo período de oito dias e, depois deste tempo, retirar o bloco do molde.

b) Com uma lima aparar as superfícies para que fiquem paralelas e posteriormente com uma lixa para metal.

c) Polir em um disco de ferro, em alta rotação, com Carborundum 400 e



FIGS. 1-3. 1, *Taenia* sp. corada com carmim acético e diafanizada; 2, *Biomphalaria glabrata*; 3, modelo interno da concha de *Astraea olfersi* e *Thaumastus* (*Thaumastus*).



posteriormente em Carborundum 800.

d) Por fim utilizar qualquer polidor de pintura de carro ou de metal (Kaol, Silvo ou similar).

### ALGUMAS OBSERVAÇÕES DE ORDEM PRÁTICA

a) As fases descritas neste processo servem para inclusão de tecidos moles. Para inclusão de conchas, ossos, dentes ou mesmo minerais, algumas das fases podem ser suprimidas (Fase 1) ou abreviadas (Fases 2 e 3).

b) O tempo em que o material fica embebido em cada líquido nas diversas fases, depende do tamanho da peça e de sua estrutura. Peças de tecidos moles com menos de 1 cm<sup>3</sup> devem ficar 12 horas; peças maiores devem permanecer 24 horas.

c) As conchas de moluscos devem ser perfuradas com brocas de dentista ou similar, a fim de facilitar a entrada da resina e a saída de ar.

d) Pode-se usar uma bomba de vácuo para a retirada do ar, quando a peça é embebida na resina (fase 4 b).

### AGRADECIMENTOS

Queremos deixar nossos agradecimentos ao Prof. Paulo F. Buhrnheim por suas sugestões.

### REFERÊNCIAS

- Coiro, J.R.R.; D.R. Weigl; J. Kisielius & J.A.T. Menezes, 1972. A new embedding medium (Polylite 8001) for biological material. *Ciência e Cultura* 24(7):660-662.
- Courtright, R.C. 1966. Use of Polyester as a Mounting Medium for Parasites. *Trans. Amer. Micr. Soc.*, 85(2):319-320.
- Hofer, A.A. & E. Lautenschlager. 1964. Hampered Vinyl Polymerization by Embedding Biological Objects. *Science*, 146.
- Jurberg, P. & R. Barth. 1964. Técnicas para o Estudo de Estrutura de Conchas de Moluscos e suas possíveis aplicações. *Notas Técn. Inst. Pesq. Marinha*, 17:1-21, 1 pl.
- Kampmeier, O.F. & T.N. Havilland. 1948. On the Mounting of Anatomical Museum Specimens in Transparent Plastics. *Anat. Rec.*, 100(2):201-221, 20 figs.
- Kampmeier, O.F. & E.W. Hospodar. 1951. Mounting of Stained Serial Slices of the Brain as Wet Specimens in Transparent Plastics. *Anat. Rec.*, 110(1):1-15, 3 figs.
- Kuhn, G.D. & E.L. Lutz Jr. 1958. Modified polyester embedding medium for sectioning. *Stain Technology*, 33(1):1-7.
- Shuster, C.N.Jr. & A.F. Eble. 1961. Techniques in Visualization of Organ Systems in Bivalve Mollusks. *Proc. Nat. Shellfish Ass.*, 52:13-24.
- Sydman, R.L.; P.A. Mottla & N. Feder. 1961. Improved Polyester wax Embedding for Histology. *Stain Technology*, 36(5):279-284, 1 fig.
- Vieira Filho, P.; D.R. Weigl; G.C. Vianna & V.L. Siqueira. 1962. Novo material de inclusão para Microscopia Eletrônica. *Bolm Inst. Adolpho Lutz*, 2(2):60-61.
- Weigl, D.R. & J. Kisielius. 1968. A inclusão em Crystic-Araldite na Microscopia Eletrônica. *Ciência e Cultura*, 20(3):657-660