

## Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics

Journal homepage: [www.ipebj.com.br/forensicjournal](http://www.ipebj.com.br/forensicjournal)



### Proposta de Protocolo para Análise Histopatológica Forense das Vias Aéreas de Cadáveres Carbonizados

#### Proposal of Protocol for Forensic Histopathological Analysis of the Airways of Charred Bodies

Rafaella Marques Barbosa<sup>1,\*</sup>, Ívia Carla Nunes Ferreira<sup>1</sup>, Roberta Reila Almeida  
Carvalho<sup>1</sup>, Samir Fernandes Braga<sup>1</sup>, Ana Bheatriz Oliveira<sup>2</sup>, Solon Diego Santos  
Carvalho Mendes<sup>3</sup>, Joara de Paula Campos<sup>4</sup>, Rhonan Ferreira Silva<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Patologia Forense, Polícia Científica, Goiânia, GO, Brasil

<sup>2</sup> Programa de Pós-graduação, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil

<sup>3</sup> Departamento de Odontologia e Antropologia Forense, Polícia Científica, Goiânia, GO, Brasil

<sup>4</sup> Divisão de Investigação de Cena de Crime, Polícia Científica, Aparecida de Goiânia, GO, Brasil

\* Corresponding author. E-mail: [rafaellamb.med@gmail.com](mailto:rafaellamb.med@gmail.com). Phone: +234 802 954 3243

Received 24 June 2024; Accepted 31 October 2024

**Resumo.** A determinação da causa da morte em necropsias de vítimas carbonizadas é desafiadora devido às alterações estruturais causadas pelo fogo. Essencialmente, busca-se saber se o fogo atingiu a vítima enquanto viva ou após sua morte. Exames complementares, como a pesquisa histológica de fuligem nas vias aéreas, são frequentemente necessários para auxiliar o médico legista nesses casos. A presença de fuligem abaixo da laringe indica que a vítima estava respirando durante o incêndio, sugerindo vitalidade. Durante a fixação do material para exame histológico, pode ocorrer uma reação entre o formol e o sangue, resultando em um pigmento escuro semelhante à fuligem, especialmente em tecidos em autólise post mortem. Esse pigmento artefactual pode ser confundido com fuligem durante o exame histológico. Para mitigar esse problema, sugere-se a coleta de amostras do sistema respiratório durante a necropsia e sua fixação em álcool 70%, uma abordagem econômica, simples e replicável. Esse método visa evitar a formação do pigmento indesejado, permitindo análise histopatológica mais precisa. A partir de uma revisão bibliográfica e do manual do Procedimento Operacional Padrão do IML de Goiânia, foi desenvolvido um protocolo padronizado para análise histopatológica das vias aéreas de cadáveres

carbonizados. Este protocolo visa minimizar o impacto dos pigmentos artefatuais, facilitando a interpretação dos vestígios para uma análise pericial mais eficaz. Por ser de baixo custo, espera-se que esse protocolo possa ser adotado e incorporado rotineiramente pelos serviços de Patologia Forense, melhorando a precisão na determinação da causa de morte de vítimas carbonizadas.

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

**Abstract.** Determining the cause of death in autopsies of carbonized victims is challenging due to structural changes caused by fire. Essentially, the goal is to ascertain whether the fire affected the victim while alive or post-mortem. Additional tests, such as histological examination for soot in the airways, are often necessary to assist forensic pathologists in these cases. The presence of soot below the larynx indicates that the victim was breathing during the fire, suggesting vitality. However, during the fixation of tissues for histological examination, a reaction between formaldehyde and blood can produce a dark pigment similar to soot, especially in tissues undergoing post-mortem autolysis. This artifactual pigment can be mistaken for soot during histological examination. To mitigate this issue, it is recommended to collect samples from strategic areas of the respiratory system during autopsy and fix them in 70% alcohol, which is an economical, simple, and reproducible method. This approach aims to prevent the formation of unwanted pigment, thereby enabling more precise forensic histopathological analysis. Based on a literature review and the Standard Operating Procedure manual of the Goiânia Forensic Institute, a standardized protocol has been developed for the histopathological analysis of airways in carbonized cadavers. This protocol aims to minimize the impact of artifactual pigments, facilitating the interpretation of traces for more effective forensic analysis. Due to its cost-effectiveness, it is expected that this protocol can be routinely adopted and incorporated by Forensic Pathology services, enhancing accuracy in determining the cause of death in carbonized victims.

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

## 1. 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<sup>1</sup>.

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<sup>2</sup>.

A preparação inicial para os exames histopatológicos inclui a fixação do tecido para prevenir sua autólise. O formol, substância utilizada com a finalidade de preservar tecidos biológicos, é um fixador químico que atua alterando a estrutura terciária das proteínas por meio da ligação cruzada com formaldeídos em sítios específicos<sup>3,4</sup>. O álcool 70% é um fixador alternativo livre de aldeídos, conhecido há décadas, porém pouco utilizado na rotina dos laboratórios de anatomia patológica, que atua alterando a estrutura terciária das proteínas ao retirar a água e desestabilizar as ligações hidrofóbicas<sup>4,5</sup>. A fixação por esta substância apresenta como desvantagem a possibilidade de encolhimento tecidual, endurecimento, lise parcial ou total de eritrócitos, além de aumentar a inflamabilidade do ambiente. Entretanto, os tecidos preservados em álcool 70%, apresentam boa fixação e visualização das estruturas. Frequentemente, é possível identificar a presença de vacúolos ao redor dos núcleos nas imagens histológicas, indicando retração tecidual devido à desidratação<sup>5</sup>. Esse composto é utilizado principalmente na conservação de pequenos fragmentos de tecido, o que permite uma rápida penetração e fixação<sup>6</sup>.

O uso de formol 10% como fixador apresenta como desvantagem a possibilidade de se apresentarem pigmentos artefatuais, como o pigmento

formalínico, originado da reação do formol ácido com a hemoglobina do sangue<sup>7</sup>. Este pigmento possui características morfológicas semelhantes à fuligem quando observado ao microscópio óptico o que pode gerar confusão na interpretação da lâmina pelo patologista forense. A presença do pigmento indesejado pode gerar resultados falso-positivos 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. Diante disto, a SEPAF desenvolveu um método alternativo de fixação tecidual para aumentar a confiabilidade dos exames histopatológicos nestes casos, utilizando 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<sup>8</sup>. 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, surge a necessidade de estabelecer um protocolo padronizado de procedimentos que seja viável administrativamente, de baixo custo e que seja efetivo para ser incorporado pelos serviços Oficiais de Perícia Médico-Legal. Sendo assim, este trabalho tem como objetivo propor um protocolo específico e padronizado para a análise histopatológica forense das vias aéreas de cadáveres carbonizados desde a coleta de amostras, acondicionamento e preparação das lâminas, visando minimizar o impacto dos pigmentos artefatuais na análise histopatológica forense e propiciar a correta visualização e interpretação dos vestígios que serão alvo da análise pericial.

## 2. Materiais e métodos

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, além da pesquisa bibliográfica, foram utilizadas as informações que constam sobre patologia forense e que estão disponíveis no manual de Procedimento Operacional Padrão (POP) do Instituto Médico Legal Aristoclides Teixeira (IML-AT), em Goiânia-GO<sup>9</sup>.

### 2.1 Manual de procedimento operacional padrão (POP) do IML-Goiânia

O exame necroscópico de vias aéreas de corpos carbonizados é 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 são inicialmente analisadas "a fresco" (sem fixação) e são retiradas amostras de aproximadamente 2,0 x 2,0 cm da traqueia, brônquio e parênquima pulmonar distal. Esses três fragmentos são acondicionados em frasco Falcon, contendo álcool 70% suficiente para cobrir completamente os fragmentos, para o processo de fixação. O restante do bloco cardiopulmonar é acondicionado em saco de evidência contendo formol 10%, como é feito rotineiramente. Todas as amostras são devidamente identificadas e fechadas com lacre numerado da instituição e encaminhadas, juntamente com a requisição de exame histopatológico, para a Seção de Patologia Forense<sup>9</sup>.

No laboratório de patologia forense, as amostras são analisadas da seguinte forma: as vísceras fixadas em formol são seccionadas em cortes sagitais de aproximadamente 2,0 cm, em busca de anormalidades macroscópicas. Em seguida,

são selecionados fragmentos representativos de cerca de 2,0 x 2,0 cm da traqueia, brônquio e parênquima pulmonar distal.

Os fragmentos obtidos "à fresco" e fixados no álcool etílico 70% e os fragmentos selecionados da amostra fixada em formol 10% são 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 parafinização, 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<sup>9</sup>.

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 são reexaminadas por dois observadores médicos patologistas forenses da seção, 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 é o modelo Eclipse E200 da marca Nikon. As lentes objetivas do microscópio utilizadas na análise e registros das imagens foram as de 10X e 40X.

Na etapa de análise qualitativa das lâminas é pesquisada a presença de fuligem nas vias aéreas, sendo 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 é 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 considerada pequena quantidade, entre 33% e 66% moderada quantidade e mais de 66% grande quantidade.

### 3. Resultados

As constatações encontradas na literatura associadas às orientações gerais disponibilizadas no POP-IML-Goiânia 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:

Na necropsia, proceder à inspeção macroscópica das vias aéreas por meio da abertura do lúmen do trato respiratório.

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 médico-legista responsável pelo 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 médico-legista examinador deve ser colhido material para exame histológico.

A fim de coletar as amostras para pesquisa histológica de fuligem, 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<sup>10</sup>.

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<sup>11)</sup> 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.

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 lacre 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 lacre para que não se percam durante o transporte.

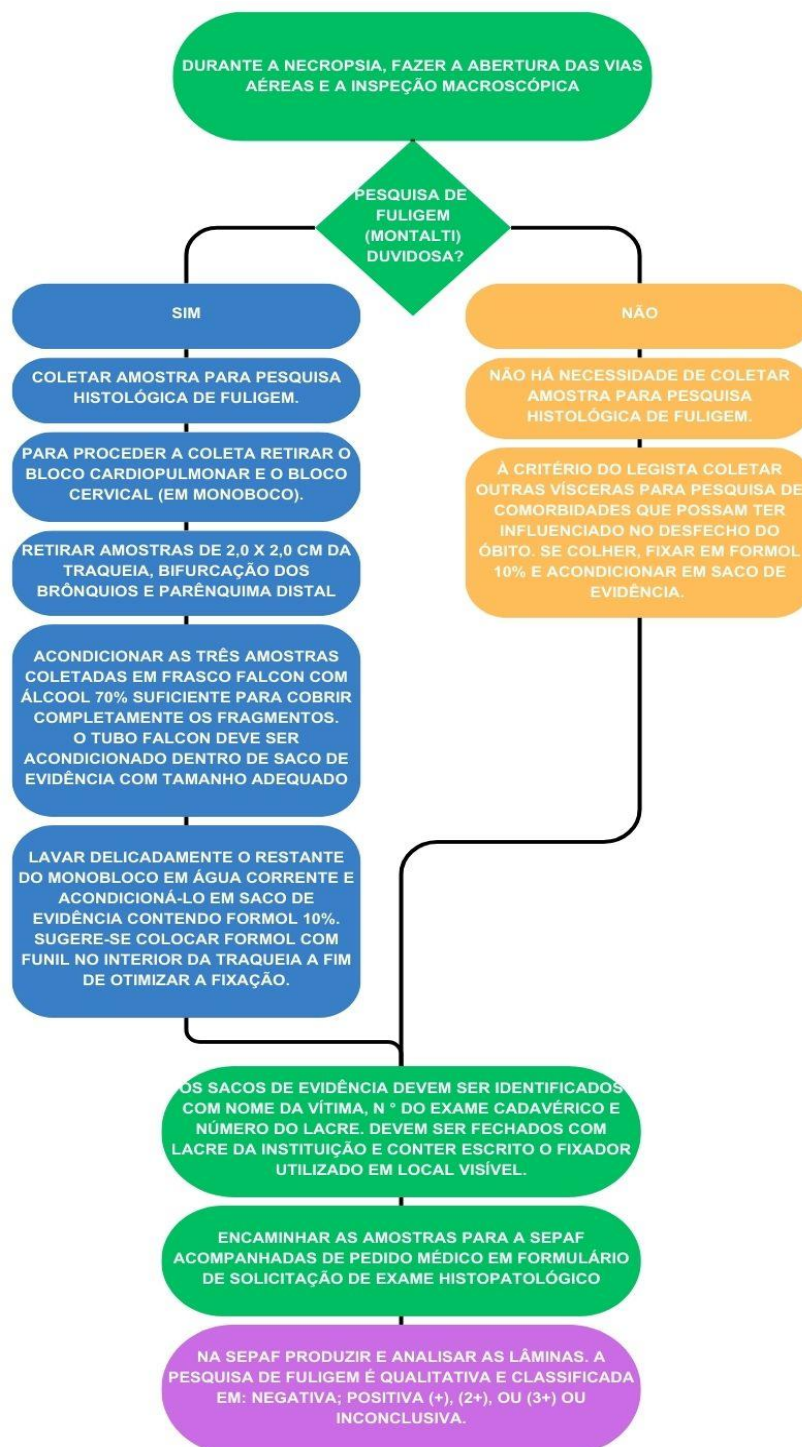
Confeccionar pedido médico com os dados da vítima, histórico do fato, achados necroscópicos relevantes, incluindo a presença ou não do sinal de Montalti, e a hipótese diagnóstica do legista responsável pela necropsia para o caso em questão. Após a chegada deste exame no laboratório de patologia, os materiais (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”<sup>9</sup>.

Realizar a análise das lâminas histológicas. Os patologistas forenses da Seção analisam as lâminas e procedem a pesquisa de fuligem. Esta é feita de forma qualitativa e graduada em positiva para fuligem, negativa para fuligem e inconclusiva. A pesquisa positiva pode ser dividida em: (+/3+), para as pequenas



quantidades de fuligem; (2+/3+), para as moderadas quantidades de fuligem e (3+/3+) para as grandes quantidades de fuligem. O critério adotado é visual.

Este protocolo está sumarizado na forma de fluxograma representado na Figura 1 com o objetivo de tornar prático o procedimento, disponível dentro das salas de necropsia.



**Figura 1.** Fluxograma do protocolo de exame necroscópico de vias aéreas de corpos carbonizados de acordo com as normas estabelecidas pelo procedimento operacional padrão do IML-AT.

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, Culling afirma que não é possível branquear, ou seja, eliminar, o pigmento formalínico<sup>15</sup>. Henwood 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. 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<sup>16</sup>.

Diante disso, pode-se inferir que padronizar procedimentos, especialmente na prevenção da formação do pigmento através da fixação das amostras em um meio diferente do formol, é mais eficiente 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 Sociedade Brasileira de Patologia recomenda a fixação de amostras de patologia cirúrgica em formol tamponado, o que, em tese, deveria mitigar a formação do pigmento formalínico<sup>17</sup>. Entretanto, esta redução não é observada, provavelmente devido ao fato de a degradação tecidual *post mortem* levar a uma acidificação dos tecidos e do sangue<sup>14</sup>. 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<sup>18</sup>.

Considerando a importância da pesquisa histológica de fuligem nos casos nos quais há dúvida quanto a sua presença à macroscopia, das dificuldades geradas pela presença do pigmento formalínico artefactual nas lâminas histológicas e das dificuldades em remover o pigmento artefactual, justificou-se a criação de protocolo específico com realização de fixação tecidual alternativa que aborda a descrição da

coleta, acondicionamento e análise de amostras das vísceras de corpos carbonizados. O conjunto de procedimentos não apresenta dificuldades técnicas para ser implementado e pode ser realizado pela equipe responsável pela necropsia sem necessidade de recursos humanos adicionais. Além disto, possui baixo custo e utiliza, além dos materiais já disponíveis na sala de necrópsia, uma pequena quantidade de álcool 70%, material amplamente disponível e barato.

#### **4. 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 áreas inferiores (abaixo da laringe) representa prova inequívoca de respiração ativa da vítima durante o incêndio, o que considerado prova de vitalidade.

Considerando a metodologia empregada, foi possível construir um protocolo para estudo histopatológico 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, constituindo um protocolo reprodutível e aplicável em todos os serviços Oficiais de Medicina Legal.

#### **Referências**

1. Fanton L, Jdeed K, Tilhet-Coartet S, Malicier D. Criminal burning. *Forensic Sci Int.* 2006;158:87-93. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2005.04.040>
2. Knight P, Saukko P. *Knight's Forensic Pathology.* 4th ed. Boca Raton: CRC Press; 2016. <https://doi.org/10.1201/b13266>
3. Pinto IC. Avaliação de novos fixadores em anatomia patológica. 2010. Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular e Celular). Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal; 2010.
4. Nunes CS, Cinsa LA. Princípios do processamento histológico de rotina. *Rev Interdiscip Estud Exp.* 2016;8(único):31-40.
5. Molinaro EM, Caputo LFG, Amendoeira MRR. *Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde.* 2nd ed. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC; 2010.

6. Oliveira MO. 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.
7. Pizzolato P. Formalin pigment (acid hematin) and related pigments. *Am J Med Technol.* 1976;42:436-40.
8. Brasil. Decreto-Lei nº 2.848, de 7 de dezembro de 1940. Código Penal. Diário Oficial da União. Brasília, DF; 31 dez. 1940. Available from: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto-lei/del2848.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto-lei/del2848.htm). Accessed: 14 Mar 2024.
9. Instituto Médico-Legal Aristocles Teixeira. Manual do Procedimento Operacional Padrão do Instituto Médico-Legal Aristocles Teixeira. 1st ed. Goiânia, GO; 2011. 329 p.
10. Maiese A, Ciallella CC, 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.* 2022;12(1986).  
<https://doi.org/10.3390/diagnostics12081986>
11. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins and Cotran - Patologia - Bases patológicas das doenças. 10th ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2021.
12. Paiva LAS. 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.
13. Paiva LSA. Patologia forense nas mortes com evidente ação do fogo. *Saúde, Ética & Justiça.* 2006;11(1/2):1-7. <https://doi.org/10.11606/issn.2317-2770.v11i1-2p1-7>
14. Chatzopoulos K, Van Treeck B, Venable E, Serla V, Wirth T, Amirahmadi F, Peterson A, Lin PT. Formalin pigment artifact deposition in autopsy tissue: predisposing factors, patterns of distribution and methods for removal. *Forensic Sci Med Pathol.* 2020;16(3):435-41. <https://doi.org/10.1007/s12024-020-00240-5>
15. Culling CFA. Handbook of Histopathological and Histochemical Techniques. 3rd ed. England: Butterworths; 1974. <https://doi.org/10.1016/B978-0-407-72901-8.50008-1>
16. Henwood A. What is the best procedure to remove formalin pigment from formaldehyde-acetic acid-alcohol fixed tissues? *J Histotechnol.* 2010;33(3):109-11. <https://doi.org/10.1179/his.2010.33.3.109>
17. Sociedade Brasileira de Patologia. Manual de boas práticas em patologia. 1st ed. São Paulo, SP; 2021. 90 p.
18. Hall JE. Guyton e Hall Tratado de Fisiologia Médica. 14th ed. São Paulo: Gen Guanabara; 2021.