

# UTILIZAÇÃO DO FORMALDEÍDO, EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES, ASSOCIADO OU NÃO AO CLORETO DE SÓDIO, NA CONSERVAÇÃO DE TECIDOS DE OVINOS

SANT'ANA, A.P.F.<sup>1\*</sup>; DIAS, I.C.G.<sup>1</sup>; SADDI, L.G.C.<sup>1</sup>; ZANI, F.L.<sup>1</sup>;  
OLIVEIRA, F.S.<sup>1</sup>

## RESUMO

A correta fixação e conservação de peças anatômicas nos laboratórios de anatomia é extremamente importante para se evitar a contaminação e conseqüentes problemas respiratórios, neurológicos e imunes nas pessoas que mantêm contato com as mesmas, como professores, técnicos e alunos. Os agentes conservantes mais comuns são o formaldeído, a glicerina, o álcool etílico e o fenol. Este trabalho visou avaliar a utilização do formaldeído, em diferentes concentrações, associado ou não ao cloreto de sódio, na conservação de tecidos em ovinos. Foram utilizados 10 grupos com diferentes concentrações de formaldeído, com ou sem solução de cloreto de sódio a 30%, um grupo contendo apenas essa solução a 30% e um grupo-controle contendo apenas água, todos em triplicata. Em cada um dos frascos foi colocado um fragmento de músculo, além de fragmento de jejuno. As peças foram fixadas e conservadas em solução de formaldeído a 10%, lavadas em água corrente para retirada do excesso do conservante e colocados nos frascos plásticos. As amostras foram analisadas visualmente todos os dias, durante 12 meses, objetivando-se detectar alterações na turbidez da solução e presença de contaminantes. Em caso de suspeita de contaminação, as soluções eram analisadas microbiologicamente. As amostras contendo apenas água desenvolveram contaminantes entre 12 e 16 dias, as com formaldeído 0,6125% entre 33 e 63 dias e as amostras com formaldeído 1,25%, entre 41 e 153 dias de experimento. Foram identificados *Pseudomonas sp*, *Aspergillus flavus*, *E. coli* e *Penicillium sp*, como agentes contaminantes. Concluiu-se que o cloreto de sódio a 30%, em associação ou não com o formaldeído, foi eficaz na conservação de peças anatômicas. As amostras com solução de formaldeído a partir de 2,5% também demonstraram eficácia como conservantes. As amostras não-eficientes como conservantes apresentaram contaminação por microrganismos muito patogênicos ao homem.

**PALAVRAS-CHAVE:** formaldeído, conservação, peça, anatomia.

## INTRODUÇÃO

Em laboratórios de anatomia, a contaminação por fungos nas peças anatômicas pode desencadear, em alunos e profissionais, quadros de alergia em decorrência da grande exposição de esporos fúngicos suspensos no ar (CORRÊA, 2003). Essa exposição prolongada e intensa a aerossóis de determinados fungos está associada a distúrbios dos sistemas nervoso central, respiratório e imune (JOHANNING et al., 1996).

Para que não haja deterioração dos tecidos, as peças anatômicas são fixadas. A fixação é extremamente importante, pois mantém os tecidos firmes,

---

<sup>1</sup> Universidade Estadual de Maringá (UEM), Curso de Medicina Veterinária, Campus Umuarama, PR. Av. Colombo, 5790 – Maringá, PR. CEP 87020-900.

insolúveis e protegidos (RODRIGUES, 1998). Assim, a boa conservação das peças, além de não permitir a deterioração do material, também evita a proliferação de patógenos que poderão causar doenças nas pessoas que freqüentam o laboratório (CORRÊA, 2003).

Para a conservação de peças anatômicas são utilizadas substâncias que impedem a proliferação de microorganismos. As mais comuns são o formaldeído, a glicerina, o álcool etílico e o fenol. O formaldeído é o fixador e conservante mais utilizado, comumente em solução aquosa a 10%. Por ser barato e penetrar rapidamente nos tecidos (seis milímetros em doze horas) é amplamente utilizado nos laboratórios de anatomia (RODRIGUES, 1998). O formaldeído é um líquido claro, volátil e tóxico que quando inalado ou ingerido, ou em contato direto com a pele, torna-se irritante para as mucosas e conjuntiva ocular. Em 1995, a Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) o classificou como cancerígeno e teratogênico (INCA, 2007).

SPICHER e PETERS (1976) verificaram a resistência de diferentes microorganismos ao formaldeído e seu efeito antimicrobiano em diversas concentrações. *Pseudomonas* sp., *Klebsiella* sp. e *Salmonella* sp. mostraram-se mais susceptíveis ao formaldeído que *Staphylococcus* sp. Os fungos mostraram-se mais resistentes que as bactérias, sendo o *Aspergillus niger* mais resistente que *Candida albicans*. SOLOMON (1975) reportou que o *Aspergillus* é um fungo predominante em ambientes fechados e que permanece em nuvens de esporos no ar podendo penetrar no interior de estruturas e contaminar o ambiente interno.

Como se sabe, o cloreto de sódio, mais comumente conhecido como sal de cozinha, é um importante conservante alimentar, que visa preservar alimentos ao longo do tempo na tentativa de evitar a deterioração para uso futuro. Qualquer bactéria que entre em contato com soluções de altas concentrações salinas (até 30%) morrem rapidamente por desidratação, pois a água do citoplasma passa muito rapidamente para o exterior da parede celular por osmose (CIÊNCIA, 2006).

BRUN et al. (2002) mantiveram pericárdio canino em solução com 1,5g de sal por ml de água tridestilada, por um período mínimo de 90 dias, visando a utilização do mesmo na reparação do músculo reto abdominal de ratos wistar. O meio de conservação não apresentou qualquer contaminação por bactérias e fungos, além de manter as características estruturais do pericárdio. A mesma solução foi utilizada por BRUN et al. (2004), além da solução de glicerina a 98%, como conservantes de centros frênicos caninos utilizados na reparação de defeitos musculares em ratos wistar, não apresentando qualquer tipo de contaminação.

Com o objetivo de se testar a viabilidade de diferentes conservantes de tecidos biológicos (formaldeído e cloreto de sódio, associados ou não) em diferentes concentrações, desenvolveu-se esse trabalho.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 10 grupos com diferentes concentrações de formaldeído, com ou sem solução de cloreto de sódio a 30%. Além destes, foram utilizados um grupo contendo apenas essa solução a 30% e um grupo-controle contendo apenas água, totalizando 12 grupos (Tabela 1). Todo o processo foi realizado em triplicata. Assim, 36 frascos plásticos de capacidade total de 500ml, transparentes e com tampa não-hermética foram utilizados, simulando o ambiente ocorrido nos recipientes onde são mantidas as peças nos Laboratórios de Anatomia em todo o país.

Em cada um dos frascos foi colocado um fragmento de 27cm<sup>3</sup> (três centímetros no comprimento, largura e altura) de músculo pélvico de ovino adulto (músculos

bíceps femoral), além de fragmento de três centímetros do jejuno do mesmo animal. Estas peças anatômicas foram mantidas no Laboratório de Anatomia Animal do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Maringá – Campus de Umuarama, PR, e foram previamente fixadas e conservadas, ambas com solução de formaldeído a 10%, há aproximadamente dois anos. Foram descartados os fragmentos com suspeita de quaisquer sinais de contaminação.

Os fragmentos de músculo e jejuno foram obtidos mediante utilização de paquímetro digital (Tesla®) e colocados em solução recém-preparada de formaldeído a 10% para nova conservação durante uma semana e conseqüentemente melhor infiltração tissular. Após esse período, foram lavados em água corrente por 72 horas para retirada do excesso do conservante e colocados nos frascos plásticos devidamente identificados, em triplicata, com a solução a ser analisada.

Tabela 1. Distribuição dos grupos (G) de diferentes concentrações de formaldeído (F), associado ou não ao cloreto de sódio (C), como conservantes de tecidos de ovino.

<b>G1</b>	<b>G2</b>	<b>G3</b>	<b>G4</b>	<b>G5</b>	<b>G6</b>
<b>Água</b>	F10%	F10%	F5%	F5%	F2,5%
		<b>C30%</b>		<b>C30%</b>	
<b>G7</b>	<b>G8</b>	<b>G9</b>	<b>G10</b>	<b>G11</b>	<b>G12</b>
F2,5%	F1,25%	F1,25%	F0,6125%	F0,6125%	<b>C30%</b>
<b>C30%</b>		<b>C30%</b>		<b>C30%</b>	

Os frascos plásticos foram mantidos no Laboratório de Anatomia Animal do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Maringá – Campus de Umuarama, PR. Para cada frasco foram preparados 300ml de solução, o que foi suficiente para que todos os fragmentos ficassem totalmente cobertos. As amostras foram analisadas visualmente todos os dias, durante 12 meses, objetivando-se detectar alterações na turbidez da solução e a presença de contaminantes. Em caso de suspeita de contaminação, cinco ml da solução foram colocados em frascos plásticos estéreis do tipo coletor universal, identificados com etiquetas e enviados ao Laboratório de Microbiologia da UNESP, Campus Jaboticabal, SP, para realização de cultura e identificação de possíveis bactérias e fungos. Mediante uso de swabs estéreis, as amostras foram semeadas em ágar Sabouraud e em ágar triptona-soja (TSA) por 48 horas a uma temperatura de 36°C, para identificação de fungos. As bactérias também foram identificadas através da cultura, cultivadas em placas de Petri em meio nutritivo comum.

## RESULTADOS

Os resultados da cultura das amostras microbiológicas estão demonstrados conforme as tabelas 2 e 3.

Tabela 2. Dias de experimento e contaminação das amostras do grupo controle (água) e dos grupos com diferentes concentrações de formaldeído.

Dias de Experimento	Contaminação das Amostras
12	Água (1 e 2)
16	Água (3)
33	F 0,6125% (3)
41	F 1,25% (2)
44	F 0,6125% (1)
63	F 0,6125% (2)
127	F 1,25% (1)
153	F 1,25% (3)

Tabela 3. Identificação dos microrganismos nas amostras contaminadas.

Amostras Contaminadas	Microrganismos
Água 1	<i>Pseudomonas</i> sp e <i>Aspergillus flavus</i>
Água 2	<i>E. coli</i> e <i>Penicillium</i> sp.
Água 3	<i>E. coli</i>
F - 0,6125% (1)	<i>Pseudomonas</i> sp
F - 0,6125% (2)	<i>Pseudomonas</i> sp
F - 0,6125% (3)	<i>Pseudomonas</i> sp
F - 1,25% (1)	<i>Pseudomonas</i> sp
F - 1,25% (2)	<i>Pseudomonas</i> sp
F - 1,25% (3)	<i>Pseudomonas</i> sp

Não houve contaminação em nenhuma amostra contendo cloreto de sódio a 30%, isoladamente ou associado à diferentes concentrações de formaldeído.

Na amostra 1 de água, formaldeído (F) 0,6125% (amostras 1, 2 e 3) e F 1,25% (amostras 1, 2 e 3) foram encontradas *Pseudomonas* sp.

Foi encontrado *Aspergillus flavus* na amostra 1 de água, juntamente com *Pseudomonas* sp. Na amostra de água 2, foram observados *Escherichia coli* e *Penicillium* sp (Figura 1).

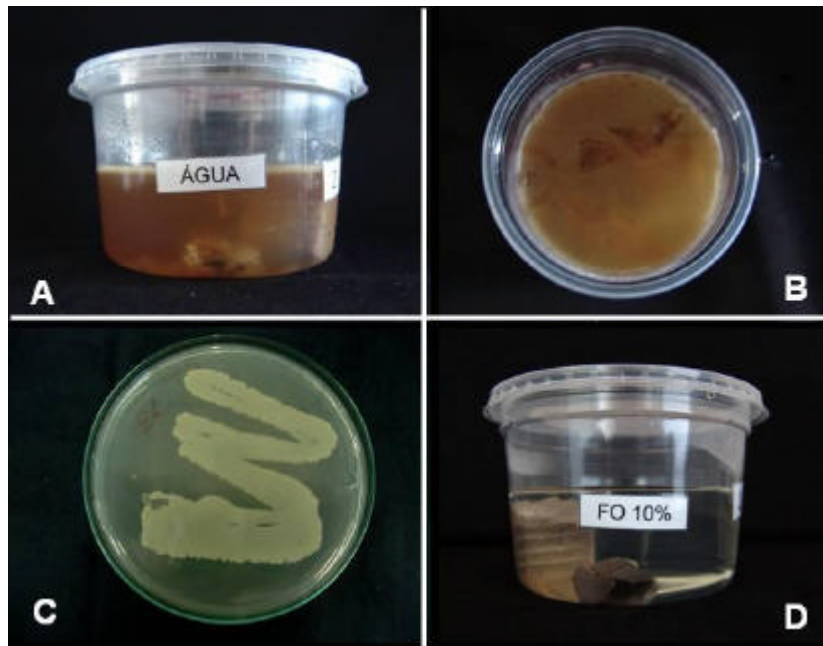


Figura 1 – “A”: vista lateral da amostra número 2 de água, 15 dias após o início do experimento; a mesma amostra visualizada por cima em “B”; em “C” observa-se crescimento de microorganismo em placa de Petri por cultura da amostra 1 de formaldeído 0,6125%. “D”: vista lateral de solução de formaldeído a 10%, na qual percebe-se a transparência da mesma, indicando ausência de contaminação microbiológica.

## DISCUSSÃO

Houve contaminação por fungos nos tecidos que foram mantidos em soluções classificadas como impróprias para conservação, como sugerido por CORRÊA (2003). A bactéria mais comumente observada nessas soluções foi a *Pseudomonas* sp, e fungos do gênero *Aspergillus*, como descrito por SPICHER e PETERS (1976).

A solução aquosa de cloreto de sódio a 30% mostrou-se extremamente eficiente na conservação dos tecidos, não sendo observado crescimento de microorganismos durante o período analisado, similarmente ao descrito por BRUN et al. (2002), que mantiveram pericárdio canino por um período mínimo de 90 dias em solução hipersaturada de cloreto de sódio e BRUN et al. (2004), que conservaram centro frênico canino em glicerina, ambos para fins cirúrgicos, não ocorrendo contaminação em nenhum dos casos.

## CONCLUSÃO

Concluiu-se que o cloreto de sódio a 30%, em associação ou não com o formaldeído, foi eficaz na conservação de peças anatômicas. As amostras com solução de formaldeído a partir de 2,5% também demonstraram eficácia como conservantes. As soluções com concentração inferior a 2,5% de formaldeído e as amostras-controle apresentaram contaminação, evidenciando uma concentração mínima necessária de formaldeído para conservação das peças anatômicas. As amostras não-eficientes como conservantes apresentaram contaminação por microrganismos muito patogênicos ao homem.

## REFERÊNCIAS

- BRUN, M.V.; PIPPI, N.L.; DREIMEIER, D.; CONTESINI, E.A.; BECK, C.A.C.; CUNHA, O.; PINTO FILHO, S.T.L.; ROEHSIG, C.; STEDILE, R. Solução hipersaturada de sal como conservante de pericárdio canino utilizado na reparação do músculo reto abdominal de ratos Wistar. *Ciência Rural*. Santa Maria, v. 32, n. 6, 2002.
- BRUN, M.V.; PIPPI, N.L.; DREIMEIER, D.; CONTESINI, E.A.; BECK, C.A.C.; CUNHA, O.; PINTO FILHO, S.T.L.; ROEHSIG, C.; STEDILE, R.; SILVA, T.F. Solução hipersaturada de sal ou de glicerina a 98% como conservantes de centros frênicos caninos utilizados na reparação de defeitos musculares em ratos Wistar. *Ciência Rural*. Santa Maria. v. 34. n. 1. 2004.
- CIENCIA viva. Conservantes. Disponível em <http://www.new.cienciaviva.pt/docs/itqbconservantes.pdf>. Acesso em 16 fev 2007.
- CORRÊA, W.R. *Isolamento e identificação de fungos filamentosos encontrados em peças anatômicas conservadas em solução de formol a 10%*. São José dos Campos, 2003. 59 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba, 2003.
- INCA. Formol ou formaldeído. Disponível em [http://www.inca.gov.br/conteudo\\_view.asp?id=795](http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=795). Acesso em 22 fev 2007.
- JOHANNING, E.; BIAGINI, R.; HULL, D.; MOREY, P.; JARVIS, B.; LANDBERGIS, P. Health and immunology study following exposure to toxigenic fungi (*Stachybotrys chartarum*) in a water-damaged office environment. *Internal Archives of Occupation and Environmental Health*. v. 68, n. 4, p. 207-218, 1996.
- RODRIGUES, H. Técnicas anatômicas. Vitória, ES. 222 p.1998.
- SOLOMON, W.R. Assessing fungus prevalence in domestic interiors. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. v. 56 n. 3 p. 235-242, 1975.
- SPICHER, G.; PETERS, J. Microbial resistance to formaldehyde. I Comparative quantitative studies in some selected species of vegetative bacteria, bacterial spores, fungi, bacteriophages and viruses. *Zentralblatt fur Bakteriologie*. v. 163, n 5-6. p 486-508. 1976.