

LEVANTAMENTO DA MICROBIOTA FÚNGICA EM CLÍNICA DE FISIOTERAPIA DE UM CENTRO UNIVERSITÁRIO DE PRÁTICAS SUPERVISIONADAS

Ribeiro MM¹, Rodrigues SFC¹, Cardoso PGR², Belo RAS¹, Pereira SS¹, Silva ACR¹, Khouri, S¹

¹ UNIVAP/FCS/NUFABI/Laboratório de Microbiologia, Av. Shishima Hifumi 2911, Urbanova, S.J.Campos, SP, 12244-000, fone: +55 12 3947 1044, suelenfunashima@hotmail.com ; soniak@univap.br; monik_maira@hotmail.com; ricardob@univap.br; shl_sp@yahoo.com.br; carolzinha6666@hotmail.com

² UNIVAP/Centro de Práticas Supervisionadas, Av. Shishima Hifumi 2911, Urbanova, S.J.Campos, SP, 12244-000, fone +55 12 3947 1086, patgc@univap.br

Resumo: O ar atmosférico das clínicas é considerado um meio de dispersão de esporos fúngicos, e estes podem causar processos alérgicos e problemas respiratórios em seus ocupantes e em pacientes imunocomprometidos, sendo de grande importância nos últimos anos, pelo seu aumento progressivo e pelas elevadas taxas de morbidade e mortalidade. Sendo assim, o presente estudo teve por objetivo analisar, quantitativamente e qualitativamente, a microbiota fúngica anemófila das clínicas de Fisioterapia. A coleta foi realizada pela exposição estática das placas e também pelo método de amostrador de ar. Em seguida, foi realizado o isolamento e identificação, segundo protocolo de identificação do Laboratório de Microbiologia - NUFABI. Através das culturas positivas, foram identificadas as amostras, determinando assim os agentes mais freqüentemente isolados, que foram os gêneros *Phaeocremonium parasiticum* e *Cladosporium spp*, fato este que pode desencadear doenças respiratórias, com redução de função pulmonar em pacientes imunocomprometidos.

Palavras-chave: Fungos Anemófilos; Ambientes Hospitalares; Controle
Área do Conhecimento: Biomedicina

Introdução

Os fungos que possuem dispersão aérea são denominados anemófilos, possuindo a capacidade de colonizar diferentes substratos e habitats de forma singular e muito eficiente (ESQUIVEL P et al.,2003). Em função disso, não existem ambientes livres da presença fúngica, pois estes se propagam em locais habitados, além de poderem sobreviver a grandes variações de temperatura, baixa taxa de umidade, em grandes variações de pH e em baixas concentrações de oxigênio, sendo comum a exposição a propágulos fúngicos e seus metabólitos, principalmente em ambientes internos como escritórios, escolas, hospitais e residências (CHAO HJ et al.,2002).

O ar atmosférico torna-se, via de regra, o meio de dispersão mais utilizado dos fungos, não se resumindo apenas aos esporos. Com isso, fragmentos de micélio vegetativo tornam-se porções viáveis destes organismos durante o processo de disseminação aérea (ALEXOPOULOS CJ et al .,1996). A eficiência deste processo está associada à grande produção de esporos e propagação de porções miceliais, sendo estes disseminados quando o fungo encontra-se na sua fase assexuada, principalmente (ZAITZ C, et al.,1998).

O laboratório de microbiologia tem um papel importante nas diversas etapas da investigação

epidemiológica, pois auxilia diretamente no diagnóstico de infecções e na identificação de pacientes com infecção ou colonização, cabendo-lhe realizar, quando necessário, estudos para estabelecer as diferenças e semelhanças entre microrganismos, realizar estudos do ambiente hospitalar e treinar o pessoal para as atividades de controle (ALBUQUERQUE, H. S. T. et al.,1997).

De acordo com o Centers for Disease Control and Prevention, a via respiratória é responsável por 18% das causas da infecção hospitalar, sendo considerada como a principal causa de morte. Procedimentos como a aspiração traqueal, manipulação de circuitos ventilatórios ou tubos endotraqueais, possuem geração de fluídos contaminados (paciente espirrando, tossindo ou falando) e o uso de aerossóis podem carrear patógenos por contato direto ou veiculados pelo ar (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION.,1990).

Assim o presente estudo teve por objetivo analisar, quantitativamente e qualitativamente, a microbiota fúngica anemófila das clínicas de Fisioterapia, visando estabelecer em controle destes microrganismos, nestes ambientes.

Metodologia

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Instituição, Protocolo nº H169/CEP2009.

A pesquisa foi realizada no Centro de Práticas Supervisionadas (CPS) nas clínicas de Cardiologia e Pneumologia da Universidade do Vale do Paraíba (Univap) no período de março de 2010 a junho de 2010.

Coleta de amostras por exposição estática interna do ambiente:

A coleta foi feita através de exposição estática de placas de Petri abertas contendo o meio ágar-Batata em 2 pontos determinados, durante 15 minutos. Após, as placas foram fechadas e identificadas, com algarismos arábicos de 1 a 7 de acordo com o local de exposição seguidos da letra "A" (ex.: 5A). As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Ciências e Saúde da Universidade do Vale do Paraíba, onde foram incubadas, em posição invertida, à temperatura ambiente por um período de até 10 dias e posteriormente selecionadas e identificadas de acordo com os protocolos estabelecidos no setor responsável.

Coleta de amostras por amostrador de ar (SKC®):

A coleta foi feita através do caldo de Sabouraud acoplado na bomba de vácuo durante 15 minutos, após este tempo, desacoplar o sistema e tampar o frasco de coleta com tampa estéril. Levar imediatamente para o laboratório de microbiologia para o processamento da amostra. Coletar cerca de 0,2 ml (200µl) e plaquear em Agar Batata (DFCC) após a inoculação espalhar com uma alça de drigalski. Incubar por 7 dias para análise de presença ou ausência de colônias fúngicas. Decorrido o tempo necessário de incubação fizemos análise da microbiota fúngica coletada, através de aspectos macroscópicos e microscópicos.

Determinação de Unidades Formadoras de Colônias - Análise Quantitativa:

Após o período de incubação das placas, serão contadas as colônias obtidas do ambiente, com o auxílio de um contador de colônias CP 608.

Isolamento e Identificação das colônias- Análise Quantitativa:

Para obtenção de culturas puras para armazenamento e futuro processamentos, as colônias predominantes destas culturas, crescidas nos cultivos das placas de Petri, foram semeadas em tubos inclinados contendo ágar-Batata e em seguida incubados. Após o crescimento, as colônias também foram semeadas em placas de Petri com meio ágar-Batata e incubadas,

realizando as análises macroscópicas e microscópicas para posterior identificação.

Análise macroscópica das colônias:

Foi realizada a documentação fotográfica do verso e reverso da colônia predominante de cada amostra obtida.

Montagem para análise microscópica- Técnica de Microcultivo

A fim de se observar às estruturas microscópicas e identificar os gêneros fúngicos, foi adotada a Técnica do Microcultivo em Lâmina, utilizando ágar-Batata. Após o crescimento fúngico, foram montadas lâminas com o corante azul-de-lactofenol, e realizada a observação microscópica, realizando posteriormente sua documentação fotográfica (LACAZ et al.,2002).

Resultados

Através da coleta pelos métodos de amostrador de ar e exposição estática das placas obtivemos a seguinte porcentagem de UFC, ver Tabela 1.

Tabela 1- Comparação de Métodos quanto à eficácia de captação de Unidades Formadoras de Colônias (UFC)

Métodos Utilizados	Pneumologia	Cardiologia	Total
Amostrador de ar SKC®	56,25%	42,86%	99,11%
Exposição estática de placas	90%	64%	154%

Tabela 2- Média de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por diferentes métodos de análise

	Exposição por placa	Amostrador de ar
Pneumologia	76 UFC/placa	49 UFC/mL
Cardiologia	7 UFC/placa	12 UFC/mL

Tabela 3- Porcentagem de Fungos encontrados nas Clínicas

Fungos	Pneumologia	Cardiologia
<i>Scopulariopsis spp</i>	2%	0
<i>Phaeoracremonium parasiticum</i>	11%	3%

<i>Cladosporium spp</i>	4%	1%
<i>Curvularia spp</i>	1%	1%
<i>Mucor spp</i>	2%	0
<i>Bipolaris spp</i>	0	1%
<i>Fusarium spp</i>	2%	0
<i>Penicillium spp</i>	1%	2%
<i>Cladophialophora carrioni</i>	0	1
<i>Aspergillus spp</i>	0	2%
<i>Exophiala spinifera</i>	2%	1%

Discussão

De acordo com Moretti (2007), a infecção hospitalar tem aumentado nos últimos anos e os fungos têm tido uma grande participação, sejam os fungos filamentosos, sejam leveduras, causando graves problemas, muitas vezes fatais. A identificação e o controle destes fungos nos vários ambientes hospitalares são de fundamental importância para os profissionais de saúde e toda a sua equipe, para os pacientes que freqüentam estes locais, como também para os futuros profissionais de saúde.

No presente estudo, foram avaliadas as clínicas de Pneumologia e Cardiologia do Centro de Práticas Supervisionadas (CPS) onde foram investigados os tipos de fungos presentes nestes ambientes, pois para o Centers for Disease Control and prevention, a infecção via respiratória é considerada a principal causa de morte.

O atendimento em clínicas de fisioterapia pode gerar fluídos contaminados quando paciente espirra, tosse ou fala e o uso de aerossóis pode carrear patógenos por contato direto ou pelo ar (Centers for Disease Control and Prevention; 1999).

Segundo Sidrim e Moreira (1999) alguns dos fungos identificados nesta pesquisa, como *Penicillium spp*, *Curvularia spp*, *Fusarium spp*, *Cladosporium spp* podem ser responsáveis por muitas doenças oportunistas como onicomicoses, ceratites, otites, quadros alérgicos, micotoxicoses, além de infecções urinárias, pulmonares e até sistêmicas. Entretanto, no presente estudo observou-se a presença de diferentes gêneros fúngicos tais como *Scopulariopsis spp*, *Phaeoacremonium parasiticum*, *Cladosporium spp*, *Curvularia spp*, *Mucor spp*, *Bipolaris spp*, *Fusarium spp*, *Penicillium spp*, *Cladophialophora carrioni*, *Aspergillus spp*, *Exophiala spinifera*, sendo que os gêneros *Phaeoacremonium parasiticum* e *Cladosporium spp* foram os mais freqüentes.

Desse modo, avaliar a presença desses fungos se torna importante, pois são responsáveis por reações alérgicas, principalmente em pacientes que já estão imunocomprometidos.

A transmissão pelo ar é uma considerável fonte de infecções fúngicas. Sabe-se que o tratamento destas em pacientes imunocomprometidos é difícil e que estas infecções são geralmente fatais. A prevenção vem ser a melhor medida de controle e, portanto conhecer a epidemiologia do ambiente hospitalar vem ser crucial no desenvolvimento de estratégias preventivas.

A identificação e o controle destes fungos nos vários ambientes hospitalares são de fundamental importância para os profissionais de saúde e toda a sua equipe, para os pacientes que freqüentam estes locais, permitindo, desta forma, avanços no diagnóstico e desenvolvimento de novos métodos de abordagem nestas patologias (MEZZARI et al., 2003). O isolamento da flora anemófila é importante na determinação da flora do ar de um determinado ambiente, no estudo da correlação de alergia e infecções com fungos. Além disso, a contagem de esporos de fungos no ar é um indicador usado para medir o grau de poluição do ar, porque os esporos fúngicos são ubíquos na natureza, fornecendo um bom índice de contaminação ambiental de relevância médica (ROTOR FILHO, 2004).

De acordo com os resultados obtidos, podemos observar maior crescimento na clínica de Pneumologia quando comparada com a clínica de Cardiologia, pois se trata de um ambiente úmido, com pouca ventilação, já na Cardiologia temos um ambiente mais arejado e com menos umidade, e houve a predominância dos gêneros *Phaeoacremonium parasiticum*, e *Cladosporium sp*.

Placas contendo meio de cultura destinadas ao crescimento microbiano e colocadas em ambientes, não oferecem segurança quantitativa, mas servem de alerta microbiológico (MC DONALD et al,1998). Amostra de ar por impactação com acelerador linear, onde o fluxo de ar é aspirado através de um filtro e cultivado em ágar extrato de malte, ágar Sabouraud Dextrose a 4%, ágar Batata Dextrose ou outro meio, é o método frequentemente citado como seguro em amostragens de ar, sendo também padronizado pelo Ministério da Saúde (BRASIL,MS,2000) brasileiro.

Dessa forma podemos sugerir que o método por exposição estáticas das placas, se mostrou mais eficaz, quando comparado com o método do amostrador de ar, pois os esporos dispersos no ar sedimentam na placa contendo o meio de cultura. Já com o amostrador de ar, estes mesmos esporos são capturados e diluídos em caldo antes de serem semeados em placa contendo meio de cultura.

A limpeza do ambiente hospitalar é a melhor maneira de se controlar os níveis de contaminantes fúngicos, desde que realizados

corretamente seus procedimentos, o ideal seria que no ato desta limpeza ocorresse à “esterilização” do ambiente, o que não é possível, sendo assim quanto maior a efetividade do processo de limpeza, maior será a segurança do ambiente hospitalar quanto a riscos de contaminações fúngica aos pacientes bem como também aos profissionais que atuam neste ambiente. Em outra análise por mais que a limpeza seja realizada corretamente os fungos dispersos no ar não serão afetados, e somente as superfícies limpas terão uma redução considerável na carga fúngica, sendo assim de grande importância o controle da ventilação, a entrada de pessoas, materiais e a forma de limpeza deste ambiente para que estes fatores que às vezes passam por despercebidos não provoquem uma dispersão elevada de fungos neste ambiente.

Assim, a importância desse estudo, reside no fato de que, mesmo que muito desses fungos façam parte do ambiente, quando presentes em organismos de pessoas imunocomprometidas alteram a imunidade fisiológica, podendo causar uma série de problemas.

Sugerimos novos estudos que sejam avaliadas técnicas mais adequadas de desinfecção e higiene do local, buscando a prevenção da ocorrência de diferentes formas de contaminação.

As pesquisas sobre estes fungos contaminantes, colonizadores ou patogênicos nos ambientes hospitalares levará a um maior conhecimento e entendimento destes microrganismos, buscando uma conscientização cada vez maior da importância do controle da infecção hospitalar.

Conclusão

Os resultados obtidos no presente estudo permitiram sugerir que:

A avaliação através das coletas feitas após atendimento nos mostrou a presença de várias espécies de fungos no ambiente.

A análise entre métodos nos mostrou que a exposição estática das placas teve uma maior capacidade de isolar os fungos ambientais de cada setor analisado em relação ao amostrador de ar.

Foi encontrada uma grande diversidade fúngica nos ambientes investigados, fato este que pode desencadear doenças respiratórias, com redução de função pulmonar em pacientes imunocomprometidos.

Referências

ALBUQUERQUE, H. S. T. et al. Comissão de Controle de Infecção Hospitalar. In: FERRAZ, E.M.

Infecção em Cirurgia. Rio de Janeiro: MEDSI, 1997. P. 37-50.

ALEXOPOULOS CJ, MIMS CW, BLACKWELL M. Introductory mycology. 4 ed. New York: Wiley; 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação de Controle de Infecção Hospitalar. Manual de Controle de Infecção Hospitalar. Brasília, 1985. _____, Anvisa. Diário Oficial da União. Resolução 176 de 24 de outubro de 2000. Brasília, 2000.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Guidelines for preventing the transmission of tuberculosis in health-care settings with special focus on HIV-related issues MMRV, Atlanta, n.39, n.RR17, p.1-29, 1990.

CHAO HJ, SCHWARTZ J, MILTON DK, BURGE HA. Populations and determinants of airborne fungi in large office buildings. Environ Health Perspect. 2002; 110:777-82.

ESQUIVEL P, MANGIATERRA M, GIUSIANO G, SOSA MA. Microhongos anemófilos em ambientes abertos de dos ciudades del nordeste argentino. Bol Micol. 2003; 18:21-8.

LACAZ, C.S.; PORTO, E.; MARTINS, J.E.C. et al. *Tratado de micologia médica*. 9.ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

MC DONALD, L. et al. Outbreak of *Acinetobacter* spp. Bloodstream infection in a nusey associated with contaminated aerosols and air conditioners. *Pediatr. Infect. Dis. Journal*, v. 8, n.17, p.716-722, 1998.

MEZZARI A, PERIN C, SANTOS Jr AS, BERND LAG, GESU GD, Fungos Anemófilos e sensibilização em indivíduos atópicos em Porto Alegre RS. *Ver Assoc Med Bras* 2003;49(3):270-3.

MORETTI, M.L. (2007). A importância crescente das infecções fúngicas. *Revista Panamericana de Infectologia*. 9: 8-9.

ROTOR FILHO, N.A.R. (2004). Ecologia de fungos - isolamento e identificação de fungos do ambiente (habitat, via de dispersão e substrato).

SIDRIM, J.J.B.; MOREIRA, J.L.B. (1999). Fundamentos clínicos e laboratoriais da micologia Médica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

ZAITS C, CAMPBELL I, MARQUES AS, RUIZ LRB; SOUZA VM. *Compêndio de micologia médica*. São Paulo: Médica e Científica; 1998.