

Incidência de fungos anemófilos do gênero *Aspergillus* presentes no ar durante o período de reforma em ambiente hospitalar

Incidence of airborne spoilage fungi and identification from *Aspergillus* Genus present in hospital atmosphere during the period of reforms

Andréia Gaio¹; Mário L. Teixeira¹; Alexandre Meneghello Fuentefria^{2*}

RESUMO - Com o intuito de caracterizar a frequência de fungos anemófilos do gênero *Aspergillus* em ambiente hospitalar durante o período de reformas, coletou-se o ar interno e externo do Centro de Terapia Intensiva (CTI) adulto e, o ar do centro cirúrgico, em dois diferentes pontos. O primeiro, há cerca de um metro da reforma e, o segundo ponto, há 10 metros de distância. As coletas foram realizadas em um hospital do oeste do estado de Santa Catarina, durante o mês de fevereiro de 2008, nos períodos da manhã e da tarde, três vezes por semana. Foram coletadas 52 amostras, onde houve o isolamento de 323 colônias de fungos anemófilos, sendo que destes, 11 amostras (21%) continham colônias típicas de *Aspergillus*, das quais nenhum era da espécie *A. niger* ou *A. flavus*, ou seja, as 32 colônias (10%) isoladas pertenciam exclusivamente à espécie *A. fumigatus*. A caracterização dos fungos de ambientes internos de áreas críticas de hospitais tem sido mundialmente reconhecida como importante medida visando reduzir substancialmente a morbidade, mortalidade e os altos custos hospitalares. O monitoramento de contaminantes ambientais em hospitais deve ser frequentemente realizado, principalmente em áreas especiais com pacientes imunocomprometidos, sujeitos à exposição de patógenos do meio ambiente.

Palavras-chave: *Aspergillus* sp.; fungos anemófilos; reforma; infecção hospitalar.

SUMMARY - With the intention of characterizing the frequency of airborne spoilage fungi from *Aspergillus* genus in hospital atmosphere during the period of reforms, was collected the internal and external air of adult Intensive Therapy Center (ITC) and the air of the surgical center, in two different places. The first, about a meter of the reform and the second point, there are 10 meters away. The collections were accomplished in the west hospital from Santa Catarina state, during the month of February of 2008, in the period of the morning and of the afternoon, three times a week. Starting from 52 samples, there was the isolation of 323 colonies of airborne fungi, and of these, 11 samples (21%) had typical colonies of *Aspergillus* genus, none of which was the species *A. niger* or *A. flavus*, ie, the 32 colonies (10%) isolates belonged exclusively to the species *A. fumigatus*. The characterization of the moulds of internal atmospheres of critical areas of hospitals has globally been recognized as important measure seeking to reduce the morbidity, mortality and the high hospital costs substantially. This way, the environmental sources monitority should be realized, mainly in special rooms with immunosuppressed patient, subjects to the exhibition of pathogen environment.

Keywords: *Aspergillus*; airborne spoilage fungi; built; hospital infection.

INTRODUÇÃO

A infecção hospitalar (IH), conceitualmente considerada como toda infecção adquirida ou transmitida no espaço hospitalar, se tomou um problema de saúde pública, principalmente após o aparecimento de microrganismos multiresistentes aos antimicrobianos usados rotineiramente na prática hospitalar¹. As doenças ocasionadas geralmente possuem risco de morte, embora seja mais ocorrente em pacientes com baixa resistência ou devido a microrganismos de alta patogenicidade^{1,2}. A infecção hospitalar é influenciada principalmente por três fatores principais: a virulência do microrganismo, a suscetibilidade do hospedeiro e o ambiente hospitalar. Entretanto, a preocupação com o controle rigoroso da contaminação do ambiente, por ser um fator emergente, ainda está sendo implantado na maioria dos hospitais brasileiros, principalmente no tocante a microbiota fúngica, embora seja conhecida sua

importância principalmente em áreas críticas como centro cirúrgico e unidade de terapia intensiva¹.

As infecções fúngicas de origem hospitalar passaram a ter grande importância nos últimos anos, pelo seu aumento progressivo e pelas elevadas taxas de morbidade e mortalidade^{2,3}. Algumas dessas infecções são de origem endógena, entretanto, muitas outras podem ser adquiridas por via exógena. Nesta, a principal forma de dispersão dos fungos no ambiente hospitalar é feita através de insetos, água, funcionários, pacientes e/ou transeuntes e, principalmente, pelo ar atmosférico através dos ventos^{4,5,6}.

Os fungos causam vários tipos de micoses, sendo as oportunistas aquelas que apresentam maior interesse clínico, devido a sua gravidade. A aspergilose é uma micose oportunista causada por diferentes espécies do gênero *Aspergillus*, sendo *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus* e *A. nidulans* as espécies mais frequentes, sendo considerada, dentre as infecções por fungos anemófilos, a que mais comumente ocorre^{4,5,7}.

Recebido em 04/08/2008

Aprovado em 02/02/2010

¹Curso de Farmácia - Universidade do Contestado - UnC

²Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA; Departamento de Análises - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

A determinação da composição e concentração de microrganismos anemófilos de áreas internas e externas, de locais críticos em hospitais tem sido pouco pesquisada, mas alguns estudos têm enfatizado sua importância, devido ao aparecimento de agentes de infecções nosocomiais⁸. Pesquisas na última década observaram que o trabalho de demolição em hospitais estão associados com o aumento da contagem de colônias no ar externo e interno, não-protetidos com filtros HEPA (*High Efficiency Particulate Air*), os quais somente voltam aos níveis basais após cerca de uma semana do seu término^{9,10}.

Assim, levando em conta a importância da monitorização dos bioaerossóis fúngicos, principalmente em ambientes que necessitam rígido controle microbiológico, como em ambulatórios e ambientes hospitalares, se faz necessária a avaliação da contaminação em condições especiais, como numa reforma. Por isso, o objetivo deste estudo foi analisar a presença de fungos anemófilos do gênero *Aspergillus* em ambiente hospitalar, durante o período das obras de reformulação do Centro Cirúrgico (CC) e de áreas aos redores do Centro de Terapia Intensiva (CTI), em um hospital do oeste de Santa Catarina.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado durante todo o mês de fevereiro de 2008, exatamente no período de demolição de paredes, nas áreas internas do CC, e de um prédio próximo (20 metros) ao acesso secundário da CTI.

As coletas de ar no CC foram realizadas no ambiente interno de duas salas, 1 e a 6, respectivamente. Primeiramente, num ponto próximo (cerca de um metro) ao isolamento de área feito pelo responsável da obra (sala 1) e, em outro ambiente mais distante (sala 6), ao final do corredor, há uma distância de cerca de 10 metros. No ambiente interno do CTI adulto, a coleta foi realizada próxima à entrada secundária do setor, bem como na parte externa a esse acesso. As coletas foram feitas três vezes por semana, duas vezes por dia (no final da manhã e no final da tarde), no período de um mês, totalizando 52 coletas.

Placas de Petry contendo Ágar Sabouraud foram expostas aos ambientes por aproximadamente 15 minutos e há uma altura de 1 metro e 20 centímetros de acordo com Gambale *et al.* (1993)¹¹. Este método baseia-se na sedimentação de esporos dos fungos anemófilos, sobre a placa em questão, colocada em posição horizontal. Após este período, as placas foram levadas ao laboratório de Microbiologia da Universidade do Contestado (UnC), Campus de Concórdia, SC. As placas após a exposição, foram mantidas por quatro dias em estufa a 25°C, sendo iniciada a classificação a partir deste dia. A identificação foi feita por microscopia direta da colônia na placa e pela técnica do microcultivo, de acordo com Lacaz *et al.* (2002)¹² e Neufeld (1999)¹³. Somente as colônias com características do fungo do gênero *Aspergillus* foram identificadas e classificadas a espécie.

RESULTADOS

Fungos potencialmente patogênicos e toxigênicos foram isolados em todos os ambientes e, em ambos períodos (Figura 1). Foram coletadas 52 amostras, onde houve o isolamento de 323 colônias de fungos anemófilos, sendo que destes, 11 amostras (21%) continham colônias típicas de *Aspergillus*, dos quais nenhum era da espécie *A. niger* ou *A. flavus*, ou seja, as 32 colônias (10%) isoladas pertenciam exclusivamente à espécie *A. fumigatus*.

A figura 1 ilustra o número de cepas de fungos anemófilos isolados em cada ambiente no período da manhã e da tarde em fevereiro de 2008, sendo que apenas as cepas de *A. fumigatus* foram isoladas.

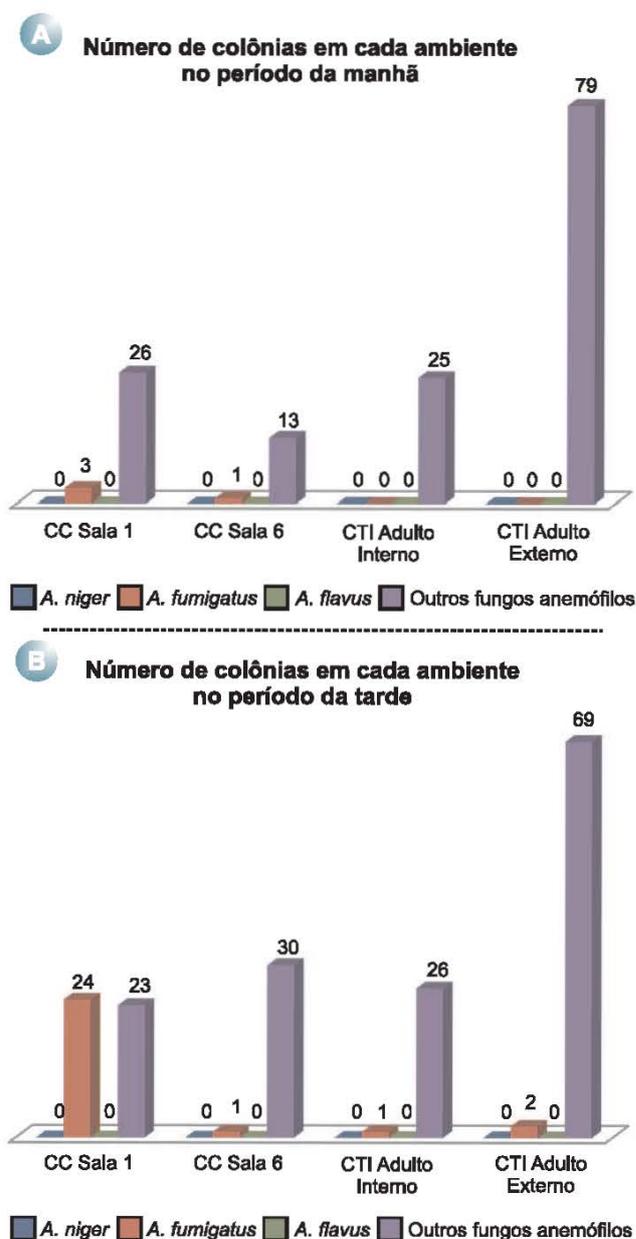


Figura 1: Número de colônias de fungos anemófilos isolados do centro cirúrgico e CTI adulto no período da manhã (A) e no período da tarde (B) em coleta realizada em fevereiro de 2008.

Como citado anteriormente, no centro cirúrgico as coletas foram realizadas em uma sala (sala 1) próxima a separação feita para a reforma e, em uma segunda sala (sala 6), ao final do corredor, distante aproximadamente 10 metros da obra. Nas duas primeiras semanas, período intensivo de demolição de paredes, houve um aumento de isolados de fungos tanto no CC quanto no CTI (Tabela 2), principalmente no período da tarde (Figura 1), diminuindo gradualmente no passar das duas semanas seguintes, evidenciando a importância do monitoramento ambiental para a orientação de medidas preventivas. Na Tabela 2 pode-se observar que o *Aspergillus fumigatus* foi encontrado durante seis coletas consecutivas a cada dois dias. Nas últimas três coletas não houve isolamento de *A. fumigatus* em nenhum dos ambientes.

As coletas realizadas no CTI adulto coincidiram com o período de demolição de uma edificação próxima 20 metros.

Tabela 1 - Microcultivos realizados para identificação de fungos do gênero *Aspergillus* isolados no centro cirúrgico (CC) e no centro de terapia intensiva para adulto (CTI).

Amostra	Ambiente	Espécie	Data/Período
1	CC Sala 1	<i>A. fumigatus</i>	07/02-Tarde
2	CC Sala 1	<i>A. fumigatus</i>	07/02-Tarde
3	CC Sala 1	Não <i>Aspergillus</i>	07/02-Tarde
4	CC Sala 6	Não <i>Aspergillus</i>	07/02-Tarde
5	CTI Ad Interno	<i>A. fumigatus</i>	07/02-Tarde
6	CC Sala 1	<i>A. fumigatus</i>	11/02-Manhã
7	CC Sala 6	<i>A. fumigatus</i>	11/02-Manhã
8	CC Sala 1	<i>A. fumigatus</i>	13/02-Manhã
9	CTI Ad Externo	Não <i>Aspergillus</i>	13/02-Manhã
10	CTI Ad Externo	Não <i>Aspergillus</i>	13/02-Manhã
11	CC Sala 1	<i>A. fumigatus</i>	15/02-Tarde
12	CC Sala 6	Não <i>Aspergillus</i>	15/02-Tarde
13	CTI Ad Interno	Não <i>Aspergillus</i>	15/02-Tarde
14	CTI Ad Externo	Não <i>Aspergillus</i>	15/02-Tarde
15	CC Sala 1	<i>A. fumigatus</i>	18/02-Tarde
16	CC Sala 6	<i>A. fumigatus</i>	18/02-Tarde
17	CTI Ad Interno	Não <i>Aspergillus</i>	18/02-Tarde
18	CTI Ad Externo	<i>A. fumigatus</i>	18/02-Tarde
19	CC Sala 1	<i>A. fumigatus</i>	20/02-Manhã

Tabela 2 - Número de cepas de *Aspergillus* isoladas dias amostrados no centro cirúrgico (CC) e no centro de terapia intensiva para adulto (CTI).

Dia	<i>A. fumigatus</i>	
	CC	CTI Ad
1	16	1
2	2	0
3	1	0
4	1	1
5	8	1
6	1	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0

Os achados encontrados no ambiente interno ao CTI adulto, ou seja, internamente na sala, são inferiores aos encontrados no ambiente externo, no corredor de acesso, podendo observar que o ar contaminado no ambiente externo pela demolição não foi veiculado para o interior da unidade. Em relação ao turno de coleta, os esporos de *A. fumigatus* estiveram mais presentes no período da tarde, no ambiente externo à unidade, embora o número de isolados de outros fungos anemófilos foi bem maior (Figura 1).

DISCUSSÃO

Os fungos apresentam uma variação muito ampla em sua incidência, de acordo com a estação do ano, temperatura, umidade relativa do ar, hora do dia, velocidade e direção dos ventos, presença de atividade humana e tipo de climatização dos ambientes^{6,7,12,13}.

A determinação da quantidade e diversidade de microrganismos anemófilos, de ambientes internos e externos, em áreas críticas de hospitais, tem sido pouco pesquisada, mas alguns estudos têm enfatizado sua importância, principalmente devido ao aumento desses agentes em infecções nosocomiais^{3,4,8,7}. O número de estudos que abordam o tema no Brasil ainda é pequeno, assim há poucos dados relativos à microbiota fúngica de hospitais. Silva (1983)¹⁴ verificaram a microbiota fúngica do ar e de pisos de um hospital e encontraram principalmente *Cladosporium* spp. (65,0%), *Aspergillus* spp. (37,1%), *Fusarium* spp. (20,1%), *Penicillium* spp. (19,8%) e outros em menor porcentagem.

Como observado na Figura 1, houve um aumento no isolamento de *A. fumigatus* no período da tarde, o que caracteriza que neste turno houve um aumento da contaminação do ar pelos seus esporos. Apesar de haver sido colocado um isolamento da área pelos trabalhadores da obra, observa-se que as mesmas não foram suficientes para isolar a área e prevenir a contaminação.

No estudo de Martins-Diniz *et al.* (2005)⁸, sobre monitoramento de fungos anemófilos e de leveduras em unidade hospitalar, demonstraram que houve diferença significativa na contagem de fungos anemófilos em relação aos meses de amostragem. O gênero predominante foi encontrado em índices mais altos nos ambientes externos, quando comparados aos internos, principalmente no período da tarde. Esses resultados corroboram com os encontrados em nosso estudo, pois no centro cirúrgico pôde-se observar esta mesma diferença entre os índices do período da manhã e da tarde, sendo que a sala 1 (mais próxima à reforma) continha índices mais altos do que a sala 6 (mais distante da reforma). Já no CTI adulto, os índices encontrados também foram mais altos no ambiente externo, porém não houve diferença entre os períodos da manhã e da tarde, como observado na Figura 1.

Vários estudos sugerem que a distribuição de fungos, tanto em termos de concentração como nos diferentes gêneros existentes, variam entre as áreas geográficas e são influenciados por fatores ambientais e sazonais^{8,7,10,12,13,15,16}. Todos esses estudos demonstraram que o número de fungos encontrados em amostras obtidas de ar externo sofre variação

entre verão e inverno, sendo sempre encontrados em maior número no verão, ou seja, são encontrados números elevados de fungos em ambientes mais quentes e com alta umidade relativa do ar. Outro fator destacado pelos autores é em relação ao aumento do número de isolados no período da tarde, agora tanto em ambientes internos e externos, que está diretamente influenciado pela movimentação humana no local, que elevaria os esporos fúngicos depositados no chão. De qualquer forma, é importante ressaltar que o controle de ambiente, pelas comissões de controle de infecção hospitalar, obviamente também incluem o controle dos contaminantes aderidos ao piso do ambiente, principalmente em suas arestas².

Em nosso estudo, numa avaliação piloto antes do início da construção, demonstrou-se um número baixo de colônias isoladas, bem como após o término da obra. Esse dado corrobora com Bouza *et al.* (2002)⁹ que também observaram que a demolição de paredes em um hospital estava associada com aumento da contagem de colônias no ar externo e interno não-protetidos com filtros HEPA, voltando a níveis basais após 11 dias. Neste estudo *A. fumigatus* foi isolado em maior quantidade, seguido por *Penicillium* spp., *A. niger*, *A. flavus*, *Aspergillus* sp., *Fusarium* spp., dentre outras espécies.

CONCLUSÃO

A caracterização de fungos presentes no ar de ambientes internos e externos, de áreas críticas de hospitais, é uma medida de suma importância para reduzir a morbidade, mortalidade e o aumento dos custos hospitalares com medicação continuada.

Esse monitoramento deve ser realizado de forma periódica, principalmente em salas especiais com pacientes imunocomprometidos, que estão sujeitos à exposição de patógenos do meio ambiente. Desta forma é possível orientar medidas para o seu controle, bem como sensibilizar as autoridades de saúde para situações semelhantes quanto ao demonstrado neste estudo, salientando os riscos de alterações estruturais em ambientes que requerem alto controle microbiológico.

REFERÊNCIAS

- 1- TACCONELLI, E. Screening and isolation for infection control. *J. Hosp. Infect.* 2009 [Epub ahead of print].
- 2- BARSANTI, M.C.; WOELTJE, K.F. Infection prevention in the intensive care unit. *Infect. Dis. Clin. North. Am.* 23:703-25, 2009.
- 3- ZILBERBERG, M.D.; SHORR, A.F. Fungal Infections in the ICU. *Infect. Dis. Clin. North. Am.*, 23: 625-42, 2009.
- 4- VONBERG, R.P.; GASTMEIER, P. Nosocomial aspergillosis in outbreak settings. *J Hosp Infect.*, 83: 246-54, 2006.
- 5- PFFALER, M.A. Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes of transmission. *Clin. Infect. Dis.*, 22: 89-94, 1996.
- 6- EAMES, I.; TANG, J.W.; LI, Y.; WILSON, P. Airborne transmission of disease in hospitals. *J. R. Soc. Interface*, 6: 697-702, 2009.
- 7- MEZZARI, A.; PERIN, C.; SANTOS, JR. A.S.; BERND, L.A.G.; GESU, G.D. Fungos anemófilos e sensibilização em indivíduos atópicos em Porto Alegre, RS. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, 49: 270-273, 2003.
- 8- MARTINS-DINIZ, J.N.; SILVA, R.A.M.; MIRANDA, E.T.; MENDES-GIANNINI, M.J.S. Monitoramento de fungos anemófilos e de leveduras em unidade hospitalar. *Rev. Saúd. Públ.*, 39: 396-405, 2005.
- 9- BOUZA, E.; PELÁEZ, T.; PÉREZ-MOLINA, J.; MARIN, M.; ALCALÁ, L.; PADILLA, P. Demolition of a hospital building by controlled explosion: the impact on filamentous fungal load in internal and external air. *J. Hosp. Infect.*, 52: 234-242, 2002.
- 10- OVERBERGER, P.A.; WADOWSKY, R.M.; SCHAPER, M.M. Evaluation of airborne particulates and fungi during hospital renovation. *Am. Ind. Hyg. Assoc.*, 56: 706-712, 1995.
- 11- GAMBALÉ, W.; PURCHIO, A. A influência de fatores abióticos na dispersão aérea de fungos na cidade de São Paulo. *Rev. Microbiol.*, 14:204-214, 1963.
- 12- LACAZ, C.S.; PORTO, E.; MARTINS, J.E.C.; HEINS-VACCARI, E.M.; MELO, N.T. Tratado de micologia médica Lacaz. 9. ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 1120p.
- 13- NEUFELD, P.M. Manual de micologia médica - Técnicas básicas de diagnóstico. 1. ed. Rio de Janeiro: Programa Nacional de Controle de Qualidade, 1999, 240p.
- 14- SILVA, M.G. Estudo da flora fúngica do ar e do piso do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, Minas Gerais (Dissertação de Mestrado) Instituto de Ciências Biológicas: Universidade Federal de Minas Gerais, 1982.
- 15- LEENDERS, A.C.A.P.; VAN BELKUM, A.; BEHRENDT, M.; LUIJENDIJK, A.D.; VERBRUGH, H.A. Density and molecular epidemiology of *Aspergillus* in air and relationship to outbreaks of *Aspergillus* infection. *J. Clin. Microbiol.*, 1752-1757, 1999.
- 16- TAVORA, L.G.F.; GAMBALÉ, W.; HEINS-VACCARI, E.M.; ARRIAGADA, G.L.H.; LACAZ, C.S.; SATOS, C.R., *et al.* Comparative performance of two air samples for monitoring airborne fungal propagules. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 36: 613-616, 2003.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Prof. Dr. Alexandre M. Fuentefria,
Universidade Federal do Pampa, Campus de Uruguaiana,
BR 472 - Km 592, - Uruguaiana, RS, CEP 97500-970, Brasil
e-mail: alexmf77@gmail.com

38°

Congresso Brasileiro de Análises Clínicas



11°

Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

26 a 29 de junho de 2011
Expo Unimed - Curitiba/PR

Realização



Todo mundo vai estar lá!