

## DETERMINAÇÃO DA PRESENÇA DE FUNGOS ANEMÓFILOS E LEVEDURAS EM UNIDADE DE SAÚDE DA CIDADE DE FRANCISCO BELTRÃO – PR

Lílian Henzen Flores<sup>1</sup>; Sideney Becker Onofre<sup>2</sup>.

### RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi isolar e identificar fungos filamentosos anemófilos e leveduras em uma unidade hospitalar no município de Francisco Beltrão – PR. O estudo foi realizado durante os meses de março a junho de 2007. As áreas avaliadas foram a unidade de terapia intensiva (UTI) e os apartamentos, ambos climatizados artificialmente sem proteção por filtros HEPA (High Efficiency Particulate Air). As coletas foram realizadas em dois períodos, logo após a limpeza dos ambientes e ao final do expediente. Sendo esta pesquisa do tipo descritiva com natureza quantitativa. Para o isolamento de fungos anemófilos foi realizada a metodologia de sedimentação em placas com ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol, com exposição das mesmas por 30 minutos nos locais previamente determinados. Para o levantamento das leveduras, foram utilizados swabs, os quais foram friccionados sobre maçanetas de portas e cabeceiras de camas. Após as coletas, os swabs foram armazenados em tubos de ensaio contendo água peptonada tamponada (APT). Todas as amostras de swabs foram inoculadas por esgotamento em meio Sabouraud dextrose, isoladas as colônias e subcultivadas por um período de 24 a 48 horas antes da inoculação em meio cromogênico, CHROMagar® Candida. A partir dos resultados obtidos, pode-se verificar que nos apartamentos e na UTI foram isolados 18 gêneros fúngicos. Duas espécies de *Candida* foram identificadas nos apartamentos: *Candida albicans* e *Candida tropicalis*. Após a limpeza, foi possível isolar e identificar um número menor de colônias, quando comparado com o levantamento realizado no final do expediente.

**Palavras-chave:** fungos anemófilos, leveduras, meio cromogênico, unidade de saúde.

### DETERMINATION OF THE PRESENCE OF ANEMOPHILOUS FUNGI AND YEAST AT A HEALTH UNIT OF FRANCISCO BELTRÃO CITY (PR)

#### ABSTRACT

The objective of this study was to isolate and identify the filamentous anemophilous fungi and yeast in a health unit of Francisco Beltrão - PR. The study was carried out from March to June 2007. The evaluated areas were the intensive therapy unit (ITU) and the rooms, both artificially acclimated without protection by HEPA filters. The collections were carried through in two periods, soon after the cleaning and at the end of the working journey. Petri plates were used for the collections of the fungi, containing 20 mL of Sabouraud agar + chloramphenicol, exposed to the sites previously determined by a period of 30 minutes. For the survey of the yeast, swabs were used, which were rubbed on door handles, bed headboards, etc. After collecting, the swabs were stored in assay tubes containing buffered peptonized water (BPW). All the samples of swabs were inoculated by exhaustion in Sabouraud dextrose at 4°C, the colonies isolated and subcultivated for a period of 24 to 48 hours before the inoculation in chromogenic medium, CHROMagar® Candida. In results, we verified that in the apartments and the UTI 18 genders of fungi and two species of *Candida* were isolated. In the identification of *Candida* spp it was possible to detect the presence of only two species in the apartments, *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. After the cleaning, it was possible to isolate and identify a reduced number of colonies, when compared with the survey carried out at the end of the afternoon.

**Key words:** anemophilous fungi, yeast, chromogenic agent, health unit.

## INTRODUÇÃO

Os fungos estão amplamente distribuídos na natureza, seu habitat é o mais variado

possível: ar, terra, água, reino vegetal, animais domésticos e silvestres e alimentos, como queijos, bebidas, produtos lácteos e excretas. Os fungos anemófilos são encontrados no ar atmosférico e têm sua incidência influenciada por fatores como a localidade, estação de ano,

<sup>1</sup> Biomédica – Laboratório de Microbiologia do Curso de Biomedicina da Universidade Paranaense – UNIPAR – Unidade Campus Francisco Beltrão – PR – E-mail: liliannfloress@hotmail.com.

<sup>2</sup>Biólogo, Professor Titular da Universidade Paranaense – UNIPAR – Unidade Campus Francisco Beltrão – PR. – E-mail: sideney@unipar.br.

umidade do ambiente, entre outros (1, 2). Gambale, Purchio e Paula (3) estudaram a influência da temperatura, pressão barométrica, pluviometria, umidade relativa, velocidade do vento e insolação horária na dispersão aérea de fungos mais comumente isolados do ar atmosférico da cidade de São Paulo e verificaram que todos esses fatores interferem na população desses fungos.

Um grande número de fungos, encontrados na poeira e no ar desempenha papel importante na patologia médica. Processos alérgicos como rinite, asma alérgica (caso de aspergilose broncopulmonar alérgica), alveolite alérgica extrínseca (quase sempre doenças ocupacionais), sinusite alérgica não invasiva e micoses pulmonares bem determinadas são algumas das manifestações eventualmente provocadas pela microbiota fúngica exógena (1).

Fungos filamentosos, hialinos ou demácios diversos fazem parte de um universo significativo de promotores de quadros de alergia respiratória, sofrendo variações de acordo com diferentes condições ambientais. O fungo filamentoso do gênero *Aspergillus* tem sua frequência significativamente aumentada no outono, enquanto o *Penicillium* predomina no inverno. Fica evidente a importância das investigações aeromicológicas, que permite estabelecer calendários fúngicos, qualitativa e quantitativamente, capazes de orientar o alergista quanto à seleção dos extratos fúngicos adequados e quanto a utilização em provas diagnósticas (9) (4).

Os fungos anemófilos pertencem a diversos gêneros e espécies e quase todos são contaminantes, isto é, podem ser isolados facilmente do ar, utilizando-se meios de cultura adequados. Numerosos métodos foram propostos para o estudo da microbiota fúngica do ar. O processo mais empregado consiste em expor placas de ágar Sabouraud durante 15 a 30 minutos em determinados ambientes, com posterior identificação das colônias dos fungos que se desenvolverem (3,5).

As infecções fúngicas nosocomiais tornam-se, cada vez mais frequentes com os avanços da terapêutica medicamentosa ou cirúrgica, em pacientes imunocomprometidos por doenças infecciosas, neoplasias, hemopatias, nos transplantados em geral no pós-operatório de diversas cirurgias cardíacas (3, 5, 6).

Silva; Franceshine e Candido (7) estudaram a microbiota fúngica do ar e de pisos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (Belo Horizonte, Brasil), perfazendo um total de 2.940 coletas, dentre estas verificou-se 9.064 colônias fúngica isoladas, nas quais foram identificados vários fungos anemófilos, principalmente *Mycelia sterilia* (26,90%), *Cladosporium* (65,03%), *Aspergillus* (37,08%), *Fusarium* (22,10%), *Penicillium* (19,86%), *Aureobasidium* (18,40%), *Curvularia* (16,20%) e *Nigrospora* (15,30%) (6).

Em ambientes climatizados, o acúmulo de umidade e material orgânico em bandejas de ar-condicionado pode torná-las poderosas fontes dispersoras de bioaerossóis. A habilidade dos fungos em causar doenças em humanos parece ser um fenômeno acidental, com raríssimas exceções, e estaria associada ao estado imunitário do indivíduo e a sua exposição ambiental (2, 8, 9).

Entre as 150 espécies de fungo descritas como patogênicas aos seres humanos estão as leveduras, que podem causar diversos quadros infecciosos com formas clínicas localizadas ou disseminadas. As portas de entrada no hospedeiro são as vias aéreas superiores ou quebra na barreira epidérmica após traumatismos com objetos perfuro-cortantes (10).

Dentre as espécies descritas, leveduras do gênero *Candida* são os maiores agentes de infecção hospitalar e representam um desafio para a sobrevivência de pacientes com doenças graves e aqueles em período pós-operatório. Hospitais norte-americanos com sistema de vigilância notificaram *Candida* como sexto patógeno nosocomial e a quarta causa mais comum de infecções de corrente sanguínea, adquiridas em hospitais (11).

Devido a importância de espécies fúngicas na promoção de infecções em ambientes hospitalares, este trabalho objetivou isolar, quantificar e identificar os principais fungos anemófilos e leveduras do gênero *Candida* presentes em ambientes de uma unidade hospitalar do município de Francisco Beltrão – PR.

## MATERIAIS E MÉTODOS

## Local de realização

O estudo foi realizado em uma unidade hospitalar do município de Francisco Beltrão - PR, em dois ambientes, durante os meses de março e junho de 2007. Os ambientes estudados foram a Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e os apartamentos, ambos climatizados artificialmente com ar condicionado e/ou ventilador, porém sem proteção por filtros HEPA (high efficiency particulate air). As coletas do ar das áreas críticas foram realizadas em dois períodos, uma pela manhã, logo após a limpeza dos ambientes e outra à tarde ao término do expediente.

## Amostragem

Para as coletas foram utilizadas placas de Petri contendo 20 mL de meio de ágar Sabouraud com cloranfenicol, que foram expostas nos locais previamente determinados por um período de 30 minutos.

No mesmo período, foram coletadas amostras de leveduras patogênicas do tipo *Cândida* spp. Para isso foram coletados com swab das maçanetas, leitos e aparelhos telefônicos na UTI no período da manhã (UTI-M) e na UTI no período da tarde (UTI-T) e nos apartamentos. Após as coletas os swabs foram armazenados em tubos de ensaio contendo água peptonada tamponada (APT).

Todos os isolados foram estocados em ágar Sabouraud dextrose a 4°C e subcultivados por um período de 24 a 48 horas antes da inoculação em meio cromogênico, CHROMagar® *Candida*.

Após as coletas todo material foi transportado para o Laboratório de Microbiologia da Universidade Paranaense – Campus de Francisco Beltrão, onde foram incubados sob a ação de duas temperaturas: 28 e 36°C, por seis dias.

Após esse período realizou-se a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) dos fungos e leveduras e os valores foram apresentados utilizando-se a seguinte padronização: + (raramente) - ++ (baixo índice) - +++ (médio) - ++++ (alta frequência) - ++++ - (em todas as amostras).

## Identificação dos fungos

A identificação dos fungos anemófilos foi baseada na associação dos aspectos macroscópicos com as características microscópicas do exame direto da cultura primária. Posteriormente, foram confirmadas pelas características de esporulação no microcultivo com meio ágar Sabouraud com cloranfenicol (1, 6, 9, 12, 13, 14, 15).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos após o levantamento realizado estão resumidos na Tabela 1. Verifica-se com isso, que fungos potencialmente patogênicos e toxigênicos foram isolados em ambos ambientes nos dois períodos. Nos apartamentos e na UTI foram isolados 18 gêneros fúngicos e duas espécies de *Cândida* sp.

A análise quantitativa da contagem de colônias, entre os dois períodos, manhã e tarde, foram diferentes na UTI e nos apartamentos, sendo que na parte da manhã após a limpeza, foi possível isolar e identificar um número menor de colônias, quando comparados com o levantamento realizado no final da tarde, após o expediente, antes da limpeza rotineira.

Os gêneros fúngicos predominantes durante a manhã na UTI e nos apartamentos avaliados foram: *Cladosporium* spp, *Fusarium* sp, *Penicillium* sp, *Aspergillus* sp e *Paecilomyces* sp. Outros gêneros fúngicos foram detectados, tanto na UTI, quanto nos apartamentos, destacando, *Alternaria* spp, *Trichoderma* sp, *Phoma* sp, *Nigrospora* sp, *Goetrichum* sp, *Verticillium* sp, *Gliocladium* sp, *Bipolaris*, sp, *Chaetomium* sp, *Acremonium* spp, *Epicoccum* sp e *Cryosporium* sp.

Após o levantamento realizado, foi possível detectar a presença de duas espécies de *Candida* sp., isoladas nos apartamentos avaliados. Essas duas espécies, foram identificadas como *Candida albicans* e *Candida tropicalis*, sendo que a espécie *Candida albicans* foi mais frequente no período da tarde.

**Tabela 1** - Fungos anemófilos e leveduras do gênero *Candida* sp. detectados.

Fungos filamentosos	Frequência de UFC / Ambiente avaliado			
	Gênero	UTI - M	UTI - T	Apto - M
<i>Cladosporium</i> spp	+++	++++	++++	++++
<i>Fusarium</i> spp	+++	++++	+++	++++
<i>Penicillium</i> spp	+++	++++	+++	++++
<i>Aspergillus</i> spp	++	++++	+++	++++
<i>Paecilomyces</i> spp	++	+++	++	+++
<i>Alternaria</i> spp	+	++	++	+++
<i>Monilia</i> spp	+	++	++	+++
<i>Trichoderma</i> spp	+	++	++	+++
<i>Phoma</i> spp	+	+	++	++
<i>Nigrospora</i> spp	+	+	++	++
<i>Goetrichum</i> spp	+	+	++	++
<i>Verticillium</i> spp	+	+	++	++
<i>Gliocladium</i> spp	+	+	++	++
<i>Bipolaris</i> spp	+	+	++	++
<i>Chaetomium</i> spp	+	+	+	++
<i>Acremonium</i> spp	+	+	+	++
<i>Epicoccum</i> spp	+	+	+	+
<i>Crysosporium</i> spp	+	+	+	+
<i>Candida albicans</i>	-	-	+	++
<i>Candida tropicalis</i>	-	-	+	+

+ (raramente) - ++ (baixo índice) - +++ (médio) - ++++ (alta frequência) - ++++ - (em todas as amostras). UFC – unidades formadoras de colônias. UTI-M – Coletas realizadas na Unidade de Terapia Intensiva no período da Manhã. UTI-T - Coletas realizadas na Unidade de Terapia Intensiva no período da Tarde.

Os resultados obtidos neste trabalho, coincidem com os resultados obtidos por Martins-Diniz et al., (4), quando monitoraram a presença fungos anemófilos em um hospital da cidade de Araraquara, Estado de São Paulo. Os fungos filamentosos isolados no centro cirúrgico, *Cladophialophora* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. e *Aureobasidium* sp. estavam presentes nos 10 pontos internos avaliados. *Fusarium* sp. foi isolado de todas as salas, no período da manhã e em nove, dos 10 pontos, no período da tarde. *Aspergillus* sp. foi encontrado em quatro dos 10 pontos no período da manhã.

Com relação ao levantamento realizado, buscando observar a presença de leveduras do gênero *Candida* sp., os dados obtidos neste trabalho, também coincidem com resultados obtidos por Martins-Diniz et al., (4), pois do total de 91 levantamento colhidos do mobiliário de ambientes hospitalares, 44% foram positivas

para presença de leveduras. O gênero *Candida*. foi predominante (70%), seguido por *Trichosporon* spp.. *Candida guilliermondii* prevaleceu no ambiente, principalmente nas maçanetas, em 52% do total, onde também se isolou *C. lusitaniae* (5,0%), *C. parapsilosis* (3,0%), *Candida* sp. (10%) e *Trichosporon* sp. (30%). *Trichosporon* sp. foi isolado de todos os ambientes pesquisados, predominando nas maçanetas e no ar do ambiente interno às UTIs.

Os fungos apresentam variações muito amplas 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.

A determinação da composição e concentração de microrganismos anemófilos de áreas externas ou internas, em áreas críticas de hospitais tem sido pouco pesquisada, mas alguns estudos têm enfatizado sua importância, devido ao aparecimento desses agentes em infecções nosocomiais (4).

Assim, o monitoramento de fontes ambientais deve ser realizado, principalmente em salas especiais com pacientes imunocomprometidos, sujeitos à exposição de patógenos do meio ambiente. Dessa maneira, será possível orientar medidas cabíveis para o controle desses patógenos, bem como a terapia mais adequada a ser instituída.

## CONCLUSÃO

Com a realização deste trabalho, foi possível isolar e identificar 18 gêneros de fungos filamentosos patogênicos e ou alergênicos, além de identificar duas espécies de leveduras. A principal levedura isolada e identificada foi a *Candida albicans* e a segunda foi a *Candida tropicalis*.

Lílian Henzen Flores  
Sideney Becker Onofre

*Endereço para correspondência:* Universidade  
Paranaense – UNIPAR – Unidade Campus  
Francisco Beltrão – Av. Júlio Assis Cavalheiro,  
2000 – Bairro Industrial – 85601-060 – Francisco  
Beltrão – PR.  
e-mail: sideney@unipar.br

Recebido em 16/12/09  
Revisado em 05/02/10  
Aceito em 06/08/10

## REFERÊNCIAS

- (1) JOSEP, G.; JOSEPA G.; ALBERTO M. S. Developments in fungal taxonomy. **Clin. Micr. Rev.**, v.12. n.3, p.454-500, 1999.
- (2) BERNARDI, E.; DA COSTA. E. L. G.; DO NASCIMENTO J. S. Fungos anemófilos e suas relações com fatores abióticos, na praia do Laranjal, Pelotas, RS; **Rev. Biol. Ciências da Terra**; v.6, n.1. p.234-239. 2006.
- (3) GAMBALE, W.; PURCHIO, A.; PAULA, C. R. Periodicidade diária de fungos anemófilos na cidade de São Paulo, Brasil. **Rev. Microbiol.**, v.12, n.4, p.176-181, 1981.
- (4) MARTINS-DINIZ, J. N.; SILVA, R. A. M.; MIRANDA, T. E.; MENDES-GIANINI, M. J. S. Monitoramento de fungos anemófilos e de leveduras em unidade hospitalar. **Rev. Saúde Pública**. v.3, n.39, p.398-405. 2005.
- (5) GAMBALE, W.; PURCHIO, A.; PAULA, C.R. Influência de fatores abióticos na dispersão aérea de fungos na cidade de São Paulo, Brasil. **Rev. Microbiol.**, v.14, n.3, p.204-214, 1983.
- (6) LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C.; HEINS-VACARI, E. M.; MELO, N. T. **Trat. Micol. Méd. Lacaz**. São Paulo: Sarvier; 2002.1104p.
- (7) SILVA, J. O.; FRANCESHINE, A. S., CANDIDO, R. C. Presença de leveduras em fezes de indivíduos aparentemente saudáveis e de pessoas com sintomas de infecção fúngica. **Revista. Inst. Adolfo Lutz**, 61(2): 113-120, 2002.
- (8) TÁVORA, L.G.F.; GAMBALE, W.; HEINS-VACCARI, E.M.; ARRIAGADA, G.L.H.; LACAZ, C.S.; SANTOS, C.R.; LEVIN, A.S. Comparative performance of two air samplers for monitoring airborne fungal propagules. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.36, p.613-616, 2003.
- (9) CARLILE M.J.; WATKINSON S.C. **The Fungi**. Harcourt Brace & Company, London, 1996. 674p.
- (10) MENDES-GIANNINI, M. J. S.; MELHEM, M. S. C. **Fungos** in: Ferreira, A.W.; Ávila, S.L.M. Coord. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p.333-403.
- (11) FUNDER, S. **Practical mycology: manual for identification of fungi**. New York: Hafner, 1968. 146p.
- (12) RODRIGUES, P. C. R, et al, Infecção Hospitalar “Sensibilidade a antifúngicos em amostras hospitalares do gênero *Candida*” **XXII Cong. Brás. Microb.** XXII Congresso Brasileiro de Microbiologia - Laboratório de Leveduras Patogênicas –ICB/USP, 2003. Disponível em: < [http:// www.icb.usp.br/~crpmicol/materiais/infeccaohospitalar.pdf](http://www.icb.usp.br/~crpmicol/materiais/infeccaohospitalar.pdf)>. Acesso em: 11de agosto de 2007.
- (13) BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. Minnesota: Burgess Publishing Company, 1972. 241p.
- (14) CHAPMAN, J.A. How relevant are pollen and mold spore counts to clinical practice?. **Ann. All. Ast. Immunol.**, v.84, p.467-468, 2000.
- (15) MEZZARI, A.; PERIN, C.; SANTOS JÚNIOR, S. A.; BERND, L. A. G. Airborne fungi in the city of Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. **Ver. Inst. Med. Trop.**, v.44, n.5, p.269-272, 2002.