

IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS ANEMÓFILOS E DE SUPERFÍCIE COM POTENCIAL PATOGÊNICO EM AMBIENTE DE CONTATO DIRETO E COM GRANDE CIRCULAÇÃO DE PESSOAS

Bruna gabriela Kliemaschewsk Antunes ¹

Professora Orientadora: Ma. Walquirya borges simi ²

RESUMO

Os fungos anemófilos são microrganismos contaminantes em ambientes fechados, com grande circulação de pessoas, e onde há o contato direto entre uma pessoa e outra. Estes ambientes por si só, que possuem refrigeração por ar condicionado, costumam ser úmidos e em alguns momentos do dia, quentes, sendo propício para o crescimento e proliferação de fungos com potencial patogênico. O objetivo foi quantificar e qualificar as possíveis espécies patogênicas encontradas nestes espaços, afim de dar relevância médica à estas, para caracterizar possíveis doenças transmitidas por estes microrganismos, se tratando de alergias, micoses ou até mesmo infecções. Este trabalho trata-se de uma pesquisa exploratória, realizando técnica de coleta de amostras por Sedimentação Passiva, que trata-se da abertura de placas de Petri com ágar Sabouraud com Cloranfenicol, tendo uma duração de aproximadamente 15 a 20 minutos de abertura e swab para coletas em superfícies. Este estudo se trata de um estudo quantitativo e qualitativo, e os locais analisados foram um teatro da capital Matogrossense e um shopping, situado na cidade de Cuiabá. Foram encontradas 47 colônias nos locais estudados e 4 gêneros diferentes, sendo 3 deles causadores de patologias, por isso conclui-se que após serem realizadas as pesquisas, foram encontrados 4 gêneros e 5 espécies, sendo um total de 47 colônias contabilizadas, portanto, os objetivos propostos para esta pesquisa, foram realizados com êxito.

PALAVRAS CHAVES:fungos anemófilos, ambiente fechado, patogênico, colônias.

¹Aluna do curso de Biomedicina no UNIVAG – Centro Universitário de Várzea Grande.

²Professor(a) do curso de Biomedicina do UNIVAG – Centro Universitário de Várzea Grande.

INTRODUÇÃO

Aproximadamente 4 milhões de pessoas podem ter infecções causadas por fungos no Brasil a cada ano, de acordo com estudo feito por Juliana Giacomazzi, da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre. Desse número aproximado, 2,8 milhões dessas infecções são causadas por *Candida* spp e 1 milhão por *Aspergillus* spp., avançando em pessoas que possuem suas defesas naturais enfraquecidas, por conta do uso de medicamentos administrados contra a rejeição de órgãos transplantados, câncer ou AIDS, o uso irregular ou em excesso de antibióticos ou de procedimentos invasivos como catéteres e sondas em unidades de terapia intensiva (UTI) (FIORAVANTI et al. 2014).

É de grande relevância o estudo da microbiota contaminante do ar, em especial as áreas de compartilhamento, pois há algum tempo, os fungos eram definidos como inofensivos, mas com a redução das defesas naturais do ser humano, que é causada por doenças e medicamentos, pouco a pouco estes microrganismos se tornaram injuriosos e se disseminaram em silêncio, e assim nos dias atuais, causam infecções graves e em alguns casos são resistentes a antifúngicos e até mesmo levam à morte (FIORAVANTI et al. 2014).

A alteração das condições ambientais, indicam várias fontes possíveis de contaminação por via aérea e diversos fatores que desencadeiam no desequilíbrio do meio ambiente, dentro de um conceito conhecido como “triângulo epidemiológico”, que se trata de um tradicional modelo de estudo das causas e efeitos das doenças infectocontagiosas (incluindo os agentes mecânico, físico, químico, biológico, também no hospedeiro: idade, sexo, grupo étnico, ocupação, hábitos e costumes, além do meio que abrange o ambiente: físico, biológico, social e econômico) (SILVA et al, 2015).

A qualidade do ar interior (QAI) se tornou tema de relevância mundial, pois é devido as alterações no estilo de vida que as pessoas permanecem a maior parte do tempo de suas vidas em ambientes

climatizados artificialmente em seu interior, e assim, 14 m³ de ar são consumidos por dia (CAMPOS et al, 2017).

Algumas doenças como Aspergilose Broncopulmonar Alérgica e Asma Severa com Sensibilização aos fungos, aparecem como principais síndromes subseqüentes da hipersensibilização de fungos causadores de alergias. Além de serem os principais causadores destes quadros alérgicos, os fungos anemófilos têm um papel relevante, agindo como principais agentes de infecções oportunistas e invasivas hospitalares. Sendo assim, *Aspergillus fumigatus* se em 80% como o principal patógeno causador das infecções fúngicas oportunistas invasivas de sítio respiratório (POZZER et al. 2017).

Diante disso, o objetivo deste trabalho se dá por isolar e identificar fungos com potencial patogênico em ambientes fechados e com grande circulação de pessoas, sobretudo em shopping's com enfoque para fungos anemófilos e de superfícies. Através deste objetivo, foram identificadas espécies fúngicas e patogênicas, além de quantificar as espécies.

METODOLOGIA

Esta pesquisa foi realizada de forma exploratória sendo que a maior parte das pesquisas envolveu os levantamentos bibliográficos, e coleta de amostras do ar (GERHARDT; SILVEIRA, 2009).

Este projeto referiu-se a um estudo qualitativo e quantitativo. Tais métodos não se anulam. Apesar de existirem diferenças entre ambos, os mecanismos qualitativos contribuem com o trabalho de pesquisa, trazendo um misto de passos de cunho racional e que agrega sentido, sendo assim capaz de contribuir para a melhor percepção dos fenômenos, já o método quantitativo contribui para o estudo aprofundado dos resultados encontrados (POPE E MAYS, 1995).

O método para a coleta de amostras, é mais conhecido por Técnica de Sedimentação Passiva, que se trata da abertura de Placas de Petri com uma

duração de 15 minutos contendo Ágar Sabouraud com Cloranfenicol, para evitar o crescimento bacteriano, e identificação fúngica, por técnica de Riddell (microcultivo).

A técnica de Ridell consistiu em dispor um bloco de ágar PDA pequeno no centro de uma lâmina esterilizada. Após isso, foi semeado nos quatro lados do bloco e uma lamínula maior que o bloco foi depositada sobre ele para facilitar a leitura em microscópio (CORABI-ADELL; C.M.M; ICHIKAWA, 2003).

Além da coleta por meio do Swab, que consiste em utilizar uma haste plástica flexível grande, que ao entrar em contato com a superfície desejada, coletará materiais apenas com o contato, e através da técnica de estriamento, foi realizada a passagem destes microrganismos para recipientes conhecidos como Placas de Petri, que contêm nutrição necessária para o crescimento dos microrganismos, nutrições estas, conhecidas como meios.

Após a realização das coletas, que ocorreram com o auxílio de placas contendo ágar Sabouraud com Cloranfenicol, as mesmas placas foram levadas ao laboratório de Microbiologia do Laboratório Escola do Univag para serem armazenadas em ambiente propício, para que durante o período de espera, haja crescimento de fungos nas placas.

Em seguida, houve um período de aguardo para crescimento microbiano, os dados encontrados nas placas (referentes a cor, textura e relevo das colônias), foram registrados em livro de observações, e assim, foram feitas análises qualitativas e quantitativas destes microrganismos, em microscópio.

Foram utilizados meios seletivos, como ágar batata e sabouraud, baseados na análise quantitativa, e por meio da contagem de colônias, analisamos cada espécie. Já na análise qualitativa, utilizamos a identificação por micromorfologia de cada organismo. Assim, foi possível analisar e confirmar a presença ou não de potencial patogênico. Além disso, foram feitas análises de dados, com apresentação de tabelas, gráficos e interpretação estatística dos resultados obtidos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fungos anemófilos estão diretamente ligados a casos clínicos relacionados a patologias do aparelho respiratório (SILVA, ET AL. 2017).

Degobbi e Gambale (2008), afirmam que existem diversas metodologias afim de quantificar fungos, porém, enfatizam não existir metodologia alguma que seja ótima para qualquer situação, portanto, o pesquisador poderá ser treinado de maneira eficaz para que saiba selecionar o melhor método para a análise dos resultados.

Assim também, D. Mendonça (2011), afirma que infecções causadas pelas espécies de *Aspergillus*, podem causar diversas doenças nos humanos, principalmente em hospedeiros imunocomprometidos.

Segundo E. Schuster et al. (2002), *Aspergillus niger* são fungos patogênicos, causadores de infecções pulmonares e otomicoses. Tendo em vista este estudo, feito por E. Schuster et al. (2002) nesta pesquisa nota-se contaminação aérea e de superfícies causadas por *Aspergillus niger*, em todos os ambientes estudados. Por isso, foi possível notar a presença de fungos com potencial patogênico nestes ambientes.

Tabela 1- Apresentação das espécies, local e método escolhido para coleta

ESPÉCIE	LOCAL	MÉTODO
<i>Aspergillus niger</i>	Carpete C.T	Swab
<i>Aspergillus niger</i>	Cadeira C.T	Sedimentação passiva
<i>Aspergillus niger</i>	Palco de madeira C.T	Swab
<i>Aspergillus niger</i>	Cadeira de pano C.T	Swab
<i>Aspergillus niger</i>	Coxia C.T	Sedimentação passiva
<i>Aspergillus niger</i>	Corredor parte de baixo S.P	Sedimentação passiva
<i>Aspergillus niger</i>	Corrimão escada S.P	Swab
<i>Aspergillus niger</i>	Corredor parte de cima S.P	Sedimentação passiva
<i>Aspergillus niger</i>	Mesa S. P	Swab

<i>Aspergillus niger</i>	Parapeito colônia 2 S.P	Swab
<i>Aspergillus niger</i>	Parapeito colônia 3 S.P	Swab
<i>Aspergillus niger</i>	Parte de baixo corredor de roupas S.P	Sedimentação passiva
<i>Aspergillus flavus</i>	Porta de saída C.T	Swab
<i>Aspergillus flavus</i>	Banheiro S.P	Sedimentação passiva
<i>Mucor sp.</i>	Parapeito colônia 1 S.P	Swab
<i>Nigrospora sp.</i>	Porta de saída S.P	Swab
<i>Fusarium sp.</i>	Banco S.P	Swab

FONTE: PRÓPRIA

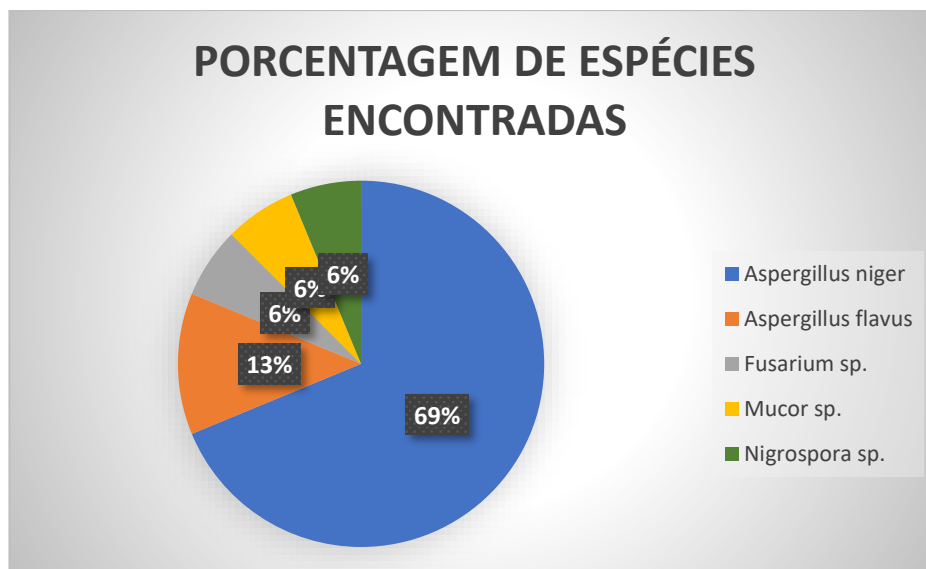
Legenda: C.T Cine Teatro Cuiabá e S.P Shopping Popular de Cuiabá

Hedayati et al. (2007) relatam que *Aspergillus flavus* foi descrito pela primeira vez por Link em 1809. *A. flavus* também é causador de aspergilose invasiva, perdendo apenas para *A. fumigatus*, é a principal espécie de *Aspergillus* que infecta insetos, sendo também a causa mais comum de infecção superficial.

Hedayati et al. (2007) ainda ressaltam que sinusite granulomatosa crônica, ceratite, aspergilose cutânea, infecções de feridas e osteomielite são síndromes clínicas associadas a *A. flavus*. Além disso, enfatiza que esta espécie produz aflatoxinas, que são compostos naturais hepatocarcinogênicos, sendo eles os mais tóxicos e potentes já identificados.

Franco et al., (2020) afirmam que com o aumento do uso de condicionadores de ar em diversos ambientes, houve o crescimento vital dos seres vivos como bactérias, vírus, protozoários e fungos, e sendo assim, o uso destes equipamentos atrelados ao desenvolvimento urbano, a construção de moradias verticais, onde não há ventilação natural, e até a diminuição no tamanho e números de entradas e saídas de ar, aumentam a probabilidade do surgimento de doenças respiratórias, alérgicas e infecto-contagiosas relacionadas a estes microrganismos, confirmando o resultado encontrado nesta pesquisa, em que foram encontradas espécies com potencial patogênico em todos os locais estudados, sendo ambientes fechados, com condicionadores de ar além de serem ambientes com grande circulação de pessoas.

Os fungos estudados e isolados nesta pesquisa, segundo Rosa et al., (2008), têm os propágulos (células que originam outros fungos), dispersos ao ar, sendo assim inalados, e devido a grande propagação destes, podem causar manifestações alérgicas respiratórias como rinite e asma, podendo causar infecções oportunistas ainda.



FONTE: PRÓPRIA

Figura 1- Gráfico em forma de pizza, que traz em porcentagem o número de espécies encontradas

Ainda segundo Rosa et al., (2008), *Mucor* é responsável por zigomicoses, doença angioinvasiva, em indivíduos com diabetes descompensada. Todos estes fungos relatados, são comuns em ambientes onde não há ventilação adequada, com temperatura e umidade inadequadas e sem a higienização preventiva diz Rosa et al., (2008), além do que o fluxo de pessoas nestes locais e o uso de materiais compartilhados por pessoas sem proteção, facilita a aspiração dos fungos presentes e favorece doenças dos mais variados tipos.

Os fungos endofíticos, assim como o *Nigrospora sp.*, são fungos que podem habitar comumente plantas, ou seja, podem ser hospedeiros, sem causar nenhum dano a estas plantas (DIAS, 2012).

Tabela 2- Número de colônias encontradas

LOCAL ESTUDADO	NÚMERO DE COLÔNIAS	ESPÉCIES
----------------	--------------------	----------

Palco C.T	2 colônias	<i>Aspergillus niger</i>
Cadeira de pano C.T	5 colônias	<i>Aspergillus niger</i>
Cadeira aéreo C.T	3 colônias	<i>Aspergillus niger</i>
Corrimão rampa S.P	5 colônias	<i>Aspergillus niger</i>
Parte de cima (banco) S.P	1 colônia	<i>Fusarium sp.</i>
Porta de saída C.T	3 colônias	<i>Aspergillus flavus</i>
Porta de saída S.P	4 colônias	<i>Nigrospora sp.</i>
Parte de baixo (corredor de roupas) S.P	5 colônias	<i>Aspergillus niger</i>
Parte de cima aéreo S.P	3 colônias	<i>Aspergillus niger</i>
Banheiro aéreo S.P	4 colônias	<i>Aspergillus flavus</i>
Coxia aéreo C.T	5 colônias	<i>Aspergillus niger</i>
Carpete C.T	4 colônias	<i>Aspergillus niger</i>
Parapeito S.P	3 colônias	<i>Mucor sp.</i>
TOTAL DE COLÔNIAS: 47		

FONTE: PRÓPRIA

A quantificação fúngica total encontrada foi de 47 colônias, no entanto a diversidade fúngica encontrada foi de apenas quatro gêneros, *Aspergillus sp*, *Mucor sp*, *Nigrospora sp* e *Fusarium sp*, onde o gênero *Aspergillus sp* foi o mais encontrado com uma prevalência de 82%.

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que ambientes fechados, com uso de condicionadores de ar, grande circulação de pessoas e contatos diretos, são ambientes propícios a proliferação de fungos com potencial patogênico, e tais organismos microscópicos afetam diretamente a saúde das pessoas, diariamente expostos a eles, visto que com o estilo de vida da sociedade atual, as pessoas passam a maior parte do tempo em ambiente climatizados e fechados.

Foi proposto como objetivos para esta pesquisa, determinar, quantificar e identificar a presença de fungos anemófilos e de superfícies e sua possível patogenicidade, verificando assim a influência destes fungos sobre a saúde das pessoas que frequentam tais ambientes estudados. Neste âmbito, importa dizer que todos os objetivos inicialmente lançados, foram alcançados, e os resultados podem ser constatados ao longo do trabalho.

No total, foram encontradas 47 colônias, entretanto, a diversidade fúngica foi de apenas 4 gêneros, *Aspergillus sp*, *Mucor sp*, *Nigrospora sp* e *Fusarium sp*, e pode-se observar a prevalência de *Aspergillus niger*, em 82%.

Embora a quantificação de fungos presentes não tenha ultrapassado os níveis considerados máximos permitidos para ambientes interiores, nota-se a ocorrência de influência da presença destes sobre a saúde das pessoas.

Ainda se observou que os ambientes estudados apresentaram potencialidades futuras de aumento do nível microbiano, especialmente fungos, levando em consideração a manutenção e limpeza dos filtros de ar condicionado que não é feita com frequência, aumentando deste modo as chances de contaminação com microrganismos.

Como sugestão a pesquisadores futuros, faz-se necessário outros estudos mais abrangentes, com parâmetros distintos de avaliação, como químicos, físicos e pesquisa de outros microrganismos, pois este trabalho percorreu apenas sobre contaminantes microbianos de origem fúngica.

REFERÊNCIAS

1. CAMPOS ET AL 2017 (CAMPOS, Flaviane de Moraes; GOLIN, Rossean; CAIXETA, Frederico César; SANCHES, Luciana; CAIXETA, Danila Soares. Avaliação quanti-qualitativa do ar interior de uma biblioteca pública do município de Cuiabá-MT. Engineering and Science, Mato Grosso, 2017.)
2. CINE TEATRO (MT). Cine Teatro. HISTÓRIA. Cuiabá, 2020. fotografia. Disponível em: <http://cineteatrocuiaba.org.br/historia/>. Acesso em: 8 nov. 2020.
3. CORABI-ADELL, C.; C.M.M, Lucon; ICHIKAWA, A. UMA TÉCNICA SIMPLES PARA OBSERVAÇÃO MICROSCÓPICA DE TRICHODERMA SPP. (HYPOCREALES) EM CULTURA DE LÂMINAS. UMA TÉCNICA SIMPLES PARA OBSERVAÇÃO MICROSCÓPICA DE TRICHODERMA SPP. (HYPOCREALES) EM CULTURA DE LÂMINAS, São Paulo, 2003. Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/suplementos/v70_3/resumo026.pdf. Acesso em: 12 out. 2020.
4. DIAS, Mussi. Fungos endofíticos associados a plantas medicinais. Endofíticos, [s. l.], 2012. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-05722012000200002&script=sci_arttext. Acesso em: 8 nov. 2020.
5. FIORAVANTI, Carlos. Aspergilose pulmonar e correlação entre as formas clínicas e a expressão diferencial de atributos de virulência em *Aspergillus fumigatus*. O ataque silencioso dos fungos : Espécies de *Candida* e *Aspergillus* causam infecções resistentes a medicamentos e matam mais que malária e tuberculose, São Paulo, p. 1-45, 2014.
6. FRANCO, Cassiano Ricardo; ESPINDOLA, Bianca; DA SILVA, Adrieli Cristina; LEE, Hwei Diana; DOS SANTOS, Leonilda Correia; WU, Feng Chung. ESTUDO DA PRESENÇA DO FUNGO *Aspergillus* sp. EM

AMBIENTE DE CIRCULAÇÃO PÚBLICA – ESTAÇÃO
CIÊNCIA/PARQUE TECNOLÓGICO ITAIPU – BR. Aspergillus, Paraná,
2020. Disponível em:
http://179.106.223.20:8000/porta_labi/publicacoes/Inp_Franco_SHEWC_2008_Estudo.pdf. Acesso em: 8 nov. 2020.

7. GERHARDT; SILVEIRA, 2009 (GERHARDT, Tatiana Engel; SILVEIRA, Denise Tolfo. Métodos de pesquisa. 1. ed. Rio grande do Sul: Universidade Federal Do Rio Grande do Sul, 2009. 120 p.)
8. GOMES ET AL 2015 (SILVA, Estácio Barreto; GOMES, Shirley Rangel. AR CONDICIONADO: HERÓI OU VILÃO EM UNIDADES DE TERAPIA INTENSIVA. Revista Interdisciplinar do Pensamento Científico, Rio de Janeiro, v. 1,
9. HEDAYATI, M. T.; PASQUALOTTO, A. C.; WARN, P. A.; BOWYER, P.; DENNING, D. W. Aspergillus flavus: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. Microbiology, Manchester, 2007. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/micro/153/6/1677.pdf?expires=1604851074&id=id&accname=guest&checksum=7AD5CF0B4C66F14FE01D6F6F0CA23C90>. Acesso em: 8 nov. 2020.
10. MESQUITA, Marcus. Shopping Popular se consolida como centro de compras: Camelódromo surgiu após retirada de ambulantes da região central de Cuiabá. Cuiabá, 7 ago. 2016. fotografia. Disponível em: <https://www.midianews.com.br/cotidiano/shopping-popular-se-consolida-como-centro-de-compras/270368>. Acesso em: 8 nov. 2020.
11. ROSA, Heitor; LEMOS, Janine de Aquino; COSTA, Carolina Rodrigues; SILVA, Maria do Rosário Rodrigues; FERNANDES, Orionalda de Fátima Lisboa. OCORRÊNCIA DE FUNGOS FILAMENTOSOS EM ACERVO DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS. FUNGOS, [s. l.], 2008. Disponível em: <https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/50963423/4033-15669-1->

PB.pdf?1482146336=&response-content-
disposition=inline%3B+filename%3DOcorrencia_De_Fungos_Filamentos
os_Em_Ace.pdf&Expires=1604856400&Signature=KUGIXDk~A02F~pvpi
JP50f0O~0tNVHfXaIVb-
Glue9pdWDPKBVjsTbeHdTSyUqXispNbcsqj3wo3KrlwqmNXCCK3gf9Ak
ce9~-43Xowml-eeefV-
0WbRBYISz2qzYYKtaOIO8Sznoq3Tm1ExwGWVH49r2mk28fowF6XZF
qFm1lwnw2F9SNPNRO~3ZYy4634wJyRc8jXeZYdzLXPN83hi3EwdgUQ
TQTaKWCCMEumUUj2rzikVuDI8ibn3PXihN-d8kJZ2k-
3LF~tj0VxkTOYP4kWt8duvsxGsMZ4DgMI-
1qPTWaqZbPenyWwC1T9Mrk7I1dTJUrzZPsofGrSClh-WzQ__&Key-
Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA. Acesso em: 8 nov. 2020.

12. SCHUSTER, E.; COLEMAN, N. Dunn; FRISVAD, J.; DIJAK, P. van. Sobre a segurança do *Aspergillus niger* - uma revisão. *Aspergillus niger*, [s. l.], 2002. DOI <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1032-6>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-002-1032-6>. Acesso em: 8 nov. 2020.
13. TORTORA 2005 (Tortora, Gerard J. Microbiologia. 8. Ed. [S. l.]: Artmed, 2005. 894 p. ISBN 9788536304885)

