

DETECÇÃO DE FUNGOS ANEMÓFILOS CONTAMINANTES DE AMBIENTE EM LABORATÓRIO DE MICOLOGIA

BRUNA DANIELA DOS SANTOS VALLE ^{*1}; OTÁVIA DE ALMEIDA MARTINS¹;
ÂNGELA LEITZKE CABANA¹; JOSIARA FURTADO MENDES¹; RENATA
OSORIO DE FARIA ¹; MÁRIO CARLOS ARAÚJO MEIRELES¹

¹Universidade Federal de Pelotas

*Autor correspondente- brunadvalle@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Os fungos estão distribuídos na natureza e seu habitat é bastante variável, como ar, terra, água, animais e alimentos (BERNARDI *et al.*, 2006). Fungos anemófilos são encontrados no ar atmosférico e sua incidência é fortemente influenciada pela localidade, estação de ano e umidade do ambiente (JOSEP *et al.*, 1999). Estes pertencem a diversos gêneros e espécies e alguns são considerados fungos contaminantes de ambiente, podendo ser isolados facilmente do ar, fato este que prejudica a rotina de laboratórios, devido ao risco de contaminação de amostras, influenciando em diagnósticos e experimentos (ANDERSEN *et al.*, 2009).

A concentração de fungos no ambiente depende de fatores como densidade populacional, intensidade das trocas de ar, limpeza e desinfecção ambiental, além do potencial ubíquo de alguns fungos, mantendo-os no ambiente e em determinadas superfícies por longos períodos (FALVEY; STREIFEL, 2007). Neste contexto, os fungos filamentosos e leveduriformes principalmente os pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Rhodotorula* são apontados como importantes causadores de micoses oportunistas e contaminantes de ambiente (PFALLER; DIEKEMA, 2007). O objetivo deste trabalho foi identificar e determinar os fungos presentes em ambientes do laboratório de Micologia da Faculdade de Veterinária – UFPel.

2. METODOLOGIA

A coleta de amostras foi realizada no laboratório de micologia da Faculdade de veterinária da Universidade Federal de Pelotas-UFPel, durante os meses de março e abril de 2014. Foram testados cinco ambientes denominados como- sala, cozinha, bancada, fluxo laminar e estufa de incubação. As coletas foram realizadas no início e final da semana, sendo identificadas como coleta um e coleta dois de cada semana, totalizando 14 semanas.

Placas de Petri foram distribuídas em duplicata, contendo meio de cultura ágar Sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol e foram expostas durante 20 minutos no ambiente, localizadas a um metro do chão (MINAMI, 1985; CLSI, 2008). Após a exposição ao ambiente, as placas foram colocadas em estufa de incubação a 25°C com observação diária por até 48hs. A determinação das colônias que houveram crescimento foi realizada pelas características macroscópicas e microscópicas através exame direto das colônias com lactofenol azul de algodão e chaves de identificação para fungos filamentosos e leveduriformes (BARNETT & HUNTER, 2002). Realizou-se ainda a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) dos fungos e leveduras presentes nas

placas de Petri expostas, para definição de uma estimativa de frequência desses fungos em cada ambiente de acordo com protocolo estabelecido pelo CSLI (2008).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos após o isolamento são descritos abaixo como: ambiente um, denominado de sala, os gêneros de fungos isolados foram *Fusarium* sp. (n=16 placas) totalizando 61 unidades formadoras de colônia (UFC), *A. seção flavi* (n= 9) totalizando 37 UFC, *Rhodotorula* sp. (n=11) totalizando 36 UFC, seguido por *Penicillium* sp. (n=13) totalizando 35 UFC e *Cladosporium* sp. (n=9) com 17 UFC. Os gêneros *Curvularia* sp., *Alternaria* sp., *A. seção fumigati*, *Paecilomyces* sp., *Rhizopus* sp. e micélio aéreo estéril foram encontrados em menores quantidades, com (n=3) totalizando 5 UFC, (n=3) com 4 UFC, (n=4) com 5 UFC, (n= 4) com 9 UFC, (n=4)com 6 UFC e (n= 6) totalizando 6 UFC respectivamente. No ambiente dois, denominado cozinha, o gênero dominante foi novamente o *Fusarium* sp. (n=19) com 86 UFC, seguido do *Cladosporium* sp. (n= 7) com 65 UFC, *Rhodotorula* sp. (n=7) com 45 UFC e *Penicillium* sp. (n=11) com 36 UFC. Em menores quantidades estavam *A.seção fumigati* (n=14) com 17 UFC, *Paecilomyces* sp. (n= 4) com 10 UFC e micélio aéreo estéril (n= 5) representado por 7 UFC. No ambiente três, denominado bancada, o gênero mais encontrado foi *A. seção flavi* (n=11 placas), importante fungo com representatividade patogênica, com 145 UFC, e *Fusarium* sp. (n=13) com 26 UFC, em números reduzidos estavam os gêneros *Curvularia* sp. (n=5) com 6 UFC, *Penicillium* sp. (n=8) com 10 UFC, *A. seção fumigati* (n=5) com 9 UFC, micélio aéreo estéril (n=8) com 5 UFC, *Rhodotorula* sp.(n=4) com 16 UFC e *Cladosporium* sp. (n=4) totalizando 4 UFC. No ambiente quatro, denominado fluxo laminar, o gênero predominante também foi o *A. seção flavi* (n= 14) com 80 UFC, em seguida o *Fusarium* sp. (n=19) com 48 UFC e o *Rhodotorula* sp. (n=7) com 21 UFC, em menores quantidades foram isolados, *Cladosporium* sp. (n=2) com 15 UFC, *Penicillium*, sp. (n= 5) com 15 UFC, *Paecilomyces* sp.(n= 3) com 9 UFC, micélio aéreo estéril (n=4) num total de 8 UFC e *A. seção fumigati* (n= 5) totalizando 7 UFC. No ambiente cinco, denominado estufa de incubação, o gênero predominante foi *Fusarium* sp. (n=21) com 78 UFC, seguido por *A. seção flavi* (n=9) com 64 UFC e *Penicillium* sp.(n=13) totalizando 45 UFC, em menores quantidades estavam *Cladosporium* sp. (n=6) com 11 UFC, *Rhodotorula*, sp. (n=4) com 7 UFC, *A. seção fumigati* (n=4 placas) com 7 UFC, *Alternaria* sp. (n=5) com 9 UFC e finalizando *Paecilomyces* sp. (n=3 placas) com apenas 3 UFC encontradas.

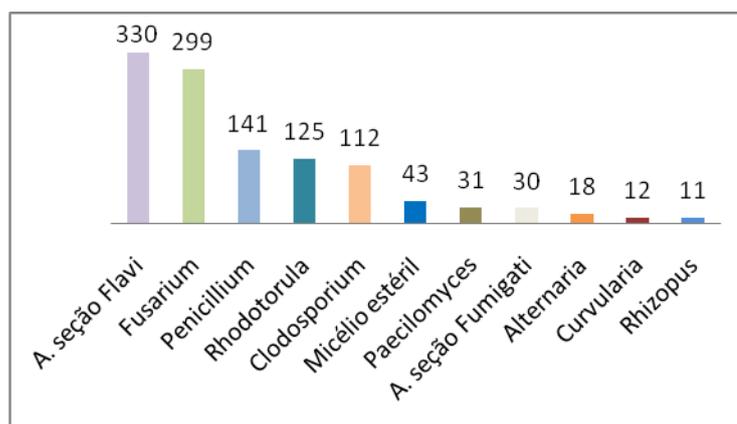


Grafico 1. Frequência geral de Unidade Formadoras de colônias (UFC) de diferentes gêneros fungicos isoladas nos cinco ambientes

A determinação de fungos anemófilos de áreas externas ou internas de ambientes laboratoriais tem sido pouco pesquisada, mas alguns estudos reforçam sua importância devido a contaminação de amostras, comprometendo diagnósticos (MARTINS-DINIZ *et al.*, 2005).

No presente estudo, em todos os ambientes foram isolados fungos contaminantes potencialmente patogênicos e toxigênicos (graf. 1), como os pertencentes a *Aspergillus* seção *flavi*, *Fusarium* sp., *Rhodotorula* e em menor quantidade *Aspergillus* seção *fumigati*, fungo filamentoso conhecidamente contaminante de ambiente e com caráter oportunista, causador de doenças principalmente respiratórias em indivíduos imunossuprimidos (XAVIER, 2003).

Em outros ambientes como clínicas veterinárias, hospitais e UTIs, a contaminação por fungos pode aumentar o risco de infecção em pacientes críticos, aumentando a frequência de infecções, porém o impacto na mortalidade ainda é controverso (BÉNET *et al.*, 2007).

O gênero *Aspergillus*, um dos fungos mais isolados, possui mais de 300 espécies, com cerca de 20 espécies patogênicas, destacando *A. seção fumigati* e *A. seção flavi*, que contaminam o ambiente desprendendo milhares de conídios das suas fiáides e dispersando no ar (SIDRIM; ROCHA, 2004). Este gênero dá origem a grande quantidade de conídios pequenos, lisos ou rugosos e capazes de serem veiculados muito facilmente pelo ar, contaminando amostras de laboratório, humanos e animais imunossuprimidos, caracterizando doenças oportunistas (XAVIER, 2003).

A identificação do *Fusarium* sp. em nosso estudo, corrobora com estudos anteriores, os quais enfatizam a adaptabilidade desse organismo em ambientes diversos, apontando o *Fusarium* sp. como um dos principais fungos anemófilos do mundo, cuja inalação dos conídios pode acarretar em diversas patologias (MENEZES *et al.*, 2006).

Outro fungo isolado em vários ambientes foi o gênero *Rhodotorula* e segundo GOMES-LOPES (2005), essa levedura já foi considerada oportunista, entretanto nos últimos anos tem emergido como patógeno oportunista, causando diversas contaminações e infecções hospitalares.

4. CONCLUSÕES

Com a realização deste trabalho foi possível isolar e identificar 11 diferentes gêneros de fungos filamentosos potencialmente patogênicos e toxigênicos, dando ênfase a *A. seção flavi*, *A. seção fumigati* e o gênero *Fusarium* sp., além de um tipo de levedura, *Rhodotorula* sp. O principal fungo isolado e identificado foi o pertencente a *A. seção flavi* e o segundo *Fusarium* sp., ambos produtores de toxinas e com potencial oportunista.

Com isso, concluímos que o monitoramento de fontes ambientais deve ser realizado rotineiramente, para que seja possível orientar as medidas para o controle desses fungos contaminantes com potencial patogênico em ambientes fechados e de rotineira manipulação como os laboratórios de diagnóstico e pesquisa em micologia.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSEN, B.M.; RASCH, M.; KVIST, J.; TOLLEFSEN, T.; LUKKASSEN, R.; SANDVIK, L.; WELO, A. **Floor cleaning: effect on bacteria and organic materials in hospital rooms.** *Journal of Hospital Infection* v. 71, p. 57-65, 2009.
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated Genera of Imperfect Fungi.** By The American Phytopathological Society. 2002.
- BÉNET, T.; NICOLLE, M. C.; THIEBAUT, A.; et al. **Reduction of invasive Aspergillosis incidence among immunocompromised patients after control of environmental exposure.** *Clin Infect Dis*; 45:682-686, 2007.
- 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.
- CLSI – Clinical And Laboratory Standards Institute. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing os yeasts;** approved standard-third edition. CLSI document M27-A3. 3rd ed. PA: clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
- FALVEY, D.; STREIFEL, A. **Ten-year air sample analysis of Aspergillus prevalence in a university hospital.** *Journal of Hospital Infection.* v. 67, p. 35-41, 2007.
- GOMEZ-LOPEZ, A.; MELLADO, E.; RODRIGUEZ-TUDELA, J; CUENCA-ESTRELLA, M. **Susceptibility profile of 29 clinical isolates of Rhodotorula spp. and literature review.** *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* v. 55, p. 312–316, 2005.
- JOSEP, G.; JOSEPA G.; ALBERTO M. S. **Developments in fungal taxonomy.** *Clin. Micr. Rev.*, v.12. n.3, p.454-500, 1999.
- 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.
- MENEZES, E. A.; ALCANFOR, A. C.; CUNHA, F. A. **Fungos anemófilos na sala de periódicos da biblioteca de ciências da saúde da Universidade Federal do Ceará.** *RBAC.*, 38 : 155-158. 2006.
- MINAMI, P. S. **Micologia: Diagnóstico laboratorial das micoses.** Barueri-SP. Ed Manole. 1º ed. brasileira, p. 56-57. 2003.
- PFALLER, M.A.; DIEKEMA, D.J. **Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem.** *Clinical Microbiology Reviews.* v. 20, n. 1, p. 133–163, 2007.
- SIDIRM, J. ; ROCHA, M. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 388p.
- XAVIER, P.C.N. **Levantamento de contaminação fúngica em ambiente hospitalar e avaliação de eficiência do desinfetante à base de derivado de amônia quaternária.** *O Mundo da Saúde.* v. 27, p. 579-588, 2003.