

COMPARAÇÃO DE TRÊS TÉCNICAS PARA ISOLAMENTO DE FUNGOS EM SUPERFÍCIES

MATTEI, A.M.^{1*}; MADRID, I.M.¹, SANTIN, R.¹, ALBANO, A.P.¹, SCHURBERT, R.N.²; CARAPETO, L.P.³, MARTINS, A.⁴; ANTUNES, T.A.¹; MEIRELES, M.C.A.⁵

INTRODUÇÃO

O ambiente hospitalar, incluindo o ar, a água e as superfícies inanimadas que cercam o paciente, guarda íntima relação com as infecções hospitalares, podendo proporcionar focos de contato e de transmissão de agentes infecciosos (ANDRADE et. al, 2000).

Os contaminantes biológicos ou bioaerossóis, como fungos, bactérias, algas, ácaros e amebas utilizam-se de matéria particulada (pólen, fragmentos de insetos, escamas de pele humana e pêlos) como substrato, no qual se multiplicam, dobrando a população a cada 20 segundos, pois dependem do parasitismo celular para reprodução (AFONSO et. al, 2004).

As infecções fúngicas receberam destaque, nos últimos anos, devido o aumento de pacientes imunocomprometidos, pela utilização de quimioterapias, uso abusivo de glicocorticóides e antibióticos, doenças imunossupressoras, como AIDS em humanos e o vírus da imunodeficiência felina (FIV) e leucemia viral felina (FeLV) em felinos. Estes fatores podem contribuir para instalação de micoses oportunistas.

O monitoramento da contaminação ambiental fúngica deve ser recomendado para detectar aumentos da densidade de conídios, avaliar a eficiência da filtração do ar e a desinfecção de instrumentos, equipamentos e mobiliários pertencentes a locais como, hospitais, clínicas, consultórios e outros (NESSA et. al, 2001). Além disso, deve-se dispensar uma maior atenção aos profissionais de saúde, pois suas mãos podem servir como fonte de infecção de levedurosos para pacientes internados em UTIs (NASCENTE et. al, 2007).

Para realização da desinfecção de superfície, vários agentes químicos desinfetantes podem ser utilizados. Deve-se ter conhecimento sobre cada um desses produtos, principalmente em aspectos como: mecanismo de ação sobre os microrganismos, toxicidade para o manipulador e ação deletéria para o equipamento a ser desinfetado, sendo assim, uma escolha adequada do desinfetante proporcionará o sucesso do processo de desinfecção (SILVA & JORGE, 2002).

Tendo em vista esta necessidade de monitoração fúngica antes e após a desinfecção, o presente estudo teve como objetivo comparar três técnicas para o isolamento de fungos em superfícies de ambientes veterinários.

1 Programa de Pós-graduação em Veterinária – Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário, s/nº; CEP 96010-600, Capão do Leão/RS, antonella.mattei@hotmail.com

2 Estagiário do Laboratório de Doenças Infecciosas – Setor Micologia (UFPeI)

3 Departamento de Clínicas Veterinária (UFPeI)

4 Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias (UFRGS)

5 Departamento de Veterinária Preventiva - Laboratório de Doenças Infecciosas – Setor Micologia (UFPeI)

MATERIAL E MÉTODOS

As coletas foram realizadas antes e após a desinfecção da mesa do consultório do hospital veterinário na cidade de Pelotas/RS.

O desinfetante utilizado para a limpeza deste local era à base de cloreto de benzalcônio a 0,5% diluído em água.

Para cada técnica foram utilizados oito *swabs* estéreis previamente autoclavados, sendo que deste, quatro eram embebidos em solução salina estéril e os outros quatro estavam secos, quatro fitas adesivas estéreis e 10 placas de superfície contendo ágar Sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol.

Na técnica do *swab*, coletou-se antes da desinfecção, quatro áreas de 400 cm² cada, da mesa do consultório utilizando dois *swabs* embebidos em solução salina estéril e dois *swabs* secos. Após cinco minutos da desinfecção, as mesmas áreas de superfície da mesa foram coletadas novamente, como descrito anteriormente.

No laboratório, os tubos com os *swabs* foram agitados durante 30 segundos, sendo retirado 0,1 mL da solução, o qual foi diluído em 0,9 mL de solução salina estéril, fazendo assim diluições até 10⁻⁵. Posteriormente, 0,1 mL de cada diluição foi semeada em placas de Petri contendo ágar Sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol, incubadas a 32°C por cinco dias (COUTINHO et. al, 2007).

As fitas adesivas estéreis possuíam área de 35 cm² cada, sendo utilizadas duas fitas para cada coleta das amostras de superfície, as quais foram pressionadas sobre a superfície da mesa durante dois minutos antes da desinfecção e cinco minutos após a limpeza. Cada fita foi cultivada em placas de Petri contendo ágar Sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol e incubadas a 32°C por cinco dias (CARVALHO, 2005).

As placas de superfície possuíam uma área de 25,5 cm² cada e foram colocadas em contato com a superfície por 30 segundos, antes e após a desinfecção. Estas foram também incubadas conforme descrito nas outras técnicas (ANDRADE et. al, 2000).

Após o período de incubação, as colônias foram acompanhadas diariamente durante cinco dias e assim, classificadas, através da macroscopia, em filamentosas e leveduriformes, obtendo UFC/mL e UFC/cm² (ZAITZ et. al, 2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento de colônias fúngicas foi verificado tanto antes quanto após a desinfecção, através das três técnicas. Entretanto, ocorreu uma diminuição desse crescimento após a desinfecção, no qual o desejável para uma efetiva desinfecção seria que não houvesse crescimento fúngico.

Através da técnica do *swab* foi observado colônias fúngicas até a diluição 10⁻², antes e após a desinfecção, sendo verificado o crescimento de 33 UFC/mL de colônias filamentosas e 20 UFC/mL de colônias leveduriformes, conforme descrito na tabela 1.

Os *swabs* seco e umedecido apresentaram diferença na contagem de unidades formadoras de colônias, no qual houve maior UFC com a utilização de *swab* umedecido, além da presença de uma diversidade de colônias, no qual

não foi observado com *swab* seco. Coutinho et. al em 2007 realizou um estudo em telefones públicos utilizando a técnica do *swab*, no qual coletou 120 amostras e obteve isolamento de 34 gêneros, sendo *Penicillium* o gênero predominante, seguido de *Aspergillus*, *Phoma*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Phialophora*, *Sporothrix* entre outros. Em outro estudo, através da técnica de sedimentação e utilização de *swabs* foram isoladas 49 espécies de fungos filamentosos provenientes da superfície e mesa do consultório de clínicas e hospital veterinário (MATTEI et. al, 2006). Em vista disso, o objetivo do nosso trabalho não foi identificar os fungos isolados, mas podemos perceber que estes estão presentes mesmo após a desinfecção demonstrando a necessidade de um monitoramento constante para se ter o conhecimento da sua presença e eficiência de uma desinfecção.

Tabela 1. Contagem de colônias isoladas da superfície da mesa do consultório através da técnica do *swab*.

Desinfecção	Técnica	10 ⁰		10 ⁻¹		10 ⁻²	
		Filam.	Leved.	Filam.	Leved.	Filam.	Leved.
ANTES	<i>Swab</i> embebido	13	15	4	1	1	-
	<i>Swab</i> seco	9	1	3	-	-	-
DEPOIS	<i>Swab</i> embebido	1	1	1	2	-	-
	<i>Swab</i> seco	1	-	-	-	-	-
Total (UFC/mL)		24	17	8	3	1	0

Através da coleta com a fita adesiva e da placa de contato observou-se, em ambas, crescimento de colônias fúngicas antes da desinfecção e diminuição na contagem destas colônias após a desinfecção (Tabela 2).

Tabela 2: Isolamento de colônias filamentosas e leveduriformes obtidas através das técnicas de fita adesiva estéril e placa de contato da superfície da mesa do consultório antes e após a desinfecção.

TÉCNICA	DESINFECÇÃO ANTES		TOTAL UFC/cm ²
	Filament.	Leved.	
Fita adesiva estéril	17	3	20
Placa de contato	18	1	19
TÉCNICA	DESINFECÇÃO DEPOIS		TOTAL UFC/cm ²
	Filament.	Leved.	
Fita adesiva estéril	6	2	8
Placa de contato	4	3	7

Uma pesquisa realizada em enfermarias, no qual investigaram 52 colchões, obtendo um total de 520 placas, das quais 98,8% resultaram em

culturas positivas, sendo que 259 corresponderam ao período anterior à limpeza e 255 ao período posterior ao procedimento. Houve redução de culturas positivas em apenas quatro placas. Esse resultado sugeriu que a limpeza, da forma como vinha sido conduzida, poderia provocar o deslocamento da carga microbiana para outros pontos do colchão ao invés de diminuí-la. Assim, ocorria uma manutenção dessa quantidade de microorganismos, na qual já residia antes mesmo da limpeza (ANDRADE et. al, 2000). Isto pode ser confirmado através da redução pouco significativa após a desinfecção da mesa do consultório, no qual poderíamos sugerir que a limpeza pode não estar sendo conduzida de maneira adequada. Desse modo, necessitaria de um monitoramento constante para avaliar a resistência de certos microorganismos a alguns desinfetantes e adequar à concentração inibitória mínima frente aos desinfetantes mais utilizados na rotina.

Com a utilização da fita adesiva estéril, Carvalho coletou amostras de 52 leitos (26 leitos estavam contaminados por pacientes com *Staphylococcus aureus* e os outros 26 não, considerados assim, controle), ocorrendo isolamento dessa espécie em 50% de cada grupo, não havendo diferença estatística entre estes. O autor sugeriu que outros estudos deveriam ser realizados para elucidar a participação da contaminação ambiental no desenvolvimento de infecções hospitalares (2005).

Em posse destes resultados, podemos observar que através das três técnicas houve crescimento fúngico, mesmo após a desinfecção, embora tenha ocorrido diferença entre a contagem de colônias da coleta anterior e posterior a desinfecção.

CONCLUSÃO

Podemos concluir que a técnica de placas de contato demonstrou maior eficiência pela maior praticidade e confiabilidade nos resultados para coleta de fungos de superfície, além da necessidade de uma monitoração ambiental em locais com trânsito freqüente de animais, para que assim sejam adotadas medidas adequadas que diminuam a presença destes microorganismos.

AGRADECIMENTOS

CAPES, CNPq e FAPERGS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFONSO; M.S.; TIPPLE; A.F.; SOUZA; A.C.; PRADO; M.A.; ANDERS; P.S. A qualidade do ar em ambientes hospitalares climatizados e sua influência na ocorrência de infecções. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 06, n. 02, p. 181-188, 2004

ANDRADE D., ANGERAMI E.L., PADOVANI C.R. Condição microbiológica dos leitos hospitalares antes e depois de sua limpeza. **Rev. Saúde Pública**, v. 34, n. 2, p.163-9, 2000

CARVALHO, K.S. **Contaminação de superfície em enfermarias de pacientes com infecções por *Staphylococcus aureus* no hospital de clínicas da Universidade Federal de Uberlândia**. 2005. 63f. Dissertação (Mestrado em

Imunologia e Parasitologia Aplicadas) – Faculdade de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia/MG

COUTINHO, F.P.; CAVALCANTI M.S.; NETO F.C. Isolation of filamentous fungi from public telephones of the metropolitan region of city of Recife, PE, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 38, p.324-329, 2007

MATTEI, A.S.; MADRID, I.M.; COIMBRA, H.; CLEFF, M.B.; XAVIER, M.O.; MARTINS, A.A.; FONSECA, A.; MEIRELES, M.C.A; NOBRE, M.O. Isolamento de fungos filamentosos em hospital e clínicas veterinárias. **Anais do XVII Congresso Estadual de Medicina Veterinária**. Gramado, 2006.

NASCENTE, P., SANTIN, R., LUND, R., BUENO, M., FEIJÓ, A., CLEFF, M., MEIRELES, M.C. Leveduras isoladas em ambientes de UTI – estudo preliminar. **Anais do 5º Congresso Brasileiro de Micologia**. Recife, 2007

NESA, D., LORTHOLARY, J., BOUAKLINE ,A., BORDES, M., CHANDENIER,J., DEROUIN ,F., GANGNEUX, J. Comparative performance of impactor air samplers for quantification of fungal contamination. **Journal of Hospital Infection**. v.47, p.149–155, 2001

SILVA C.R.G & JORGE A.O.C. Avaliação de desinfetantes de superfície utilizados em Odontologia. **Pesqui Odontol Bras**. v.16, n. 2, p.107-114, 2002

ZAITZ, C.; RUIZ, L.R.B.; SOUZA, V.M.DE. **Atlas de Micologia Médica – Diagnóstico Laboratorial**. 2 ed. MEDSI. Rio de Janeiro, RJ. 2004. 167p.