

**Isolamento de fungos em equipamentos de ar condicionado instalados em biblioteca das
Faculdades Integradas de Patos-FIP**

Antonio José de Jesus Evangelista*
Mário Régio Aguiar Diniz*
Ademir de Araujo Medeiros*
Reginaldo Gonçalves de Lima-Neto**
Patrícia Cariolano de Oliveira**

Resumo - Estudos envolvendo isolamento fúngico em equipamentos de ar condicionado localizados em ambientes internos são relevantes tendo em vista que muitos estudantes passam longos períodos de tempo nestes locais. O presente estudo teve como objetivos: isolamento e purificação de fungos obtidos a partir de equipamentos de ar condicionado instalados na Biblioteca Central das Faculdades Integradas de Patos; análise dos aspectos macroscópicos das culturas e comparação percentual entre o número de amostras isoladas. As amostras foram coletadas e isoladas em meio de cultura Ágar Sabourad Dextrose adicionado de cloranfenicol (50mg/L). Foram observados os seguintes resultados: isolamento e purificação de quatro colônias de fungos filamentosos e três colônias de levedura. Pode-se concluir que fungos filamentosos e leveduras estão presentes em amostras provenientes de ar condicionado e podem ser isolados com base na metodologia utilizada nesse trabalho. Além disso, a implantação da coleção de cultura de fungos contribuirá para o desenvolvimento de estudos futuros na área de pesquisa e extensão.

Palavras-chave: Análise fúngica; Ar condicionado; Ambiente interno; Microbiologia clínica.

Abstract - Studies involving fungal isolation in air conditioning equipment placed into closed environments are relevant since many students spend a long periods of time in these places. This study aims to assess the level of fungal contamination in the air conditioning equipment placed into Central Library of Faculdades Integradas de Patos-PB, Brazil in order to make a correlation with the maintenance conditions. The samples were isolated and purified in Sabourad Dextrose Agar medium plus chloramphenicol (50 mg/L) for analysis of the macroscopic and microscopic aspects of the cultures. The study enabled the observation of the following results: isolation and purification of four filamentous fungi colonies and three yeast colonies. Filamentous fungi and yeasts can be isolated from the air conditioning equipment and the methodology used in this work was adequate. Furthermore, the implementation of the culture collection of fungi contributes to the development of prospective studies in research and extension area.

Keywords: Fungal analysis; Air conditioning; Indoor; Clinical microbiology.

* Graduando do curso de Bacharelado em Biomedicina das Faculdades Integradas de Patos-FIP, Patos, Paraíba, Brasil.

** Professor (a) do curso de Bacharelado em Biomedicina das Faculdades Integradas de Patos-FIP, Patos, Paraíba, Brasil.

E-mail do autor: tony_biomed@hotmail.com

INTRODUÇÃO

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) define ambientes climatizados como espaços físicos isolados estabelecidos por dimensões e instalações próprias, submetidos a processos de climatização artificial visando o conforto térmico e a redução da temperatura. Pesquisas envolvendo isolamento de fungos em ambientes climatizados são relevantes uma vez que grande parte da população passa longos períodos de tempo nesses ambientes sobretudo em bibliotecas (NASCIMENTO, 2011) e em instituições de ensino (MESQUITA e ARAÚJO, 2006). Desta forma, a população que mantém contato com esse tipo de ambiente está exposta aos contaminantes biológicos presentes nesses locais (LEE e AWBI, 2004).

Estudos envolvendo a qualidade interna do ar em ambientes fechados tornaram-se mais relevantes após o surgimento da construção de edifícios selados na década de 70, os quais possuem sistemas automatizados que promovem a circulação do ar em seu interior (SILVA, 2010).

Existem vários fatores que podem contribuir para o aumento da concentração de fungos presentes em um ambiente interno climatizado, dentre eles podemos destacar os aparelhos de ar condicionado, as pessoas que circulam nesses espaços e o piso do local (AFONSO, 2006). Sabe-se ainda que, equipamentos de ar condicionado quando não são submetidos à manutenção adequada, tornam-se reservatórios para o crescimento fúngico devido ao acúmulo de umidade no aparelho (GAUER, 2008). A falta de limpeza ou a desinfecção incorreta nos dutos e filtros de ar refrigerado propicia que os fungos se desenvolvam nesses aparelhos, podendo ocasionar a contração de doenças respiratórias, infecciosas ou alérgicas, por parte dos ocupantes desses ambientes (CARTAXO, 2007).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a poluição de ambientes internos é reconhecida como uma das grandes ameaças à saúde pública em todo mundo. As doenças relacionadas com a qualidade do ar nesses ambientes são classificadas como Síndrome dos Edifícios Doentes (SED). A primeira norma para ambientes climatizados no Brasil surgiu com a morte do Ministro das Comunicações Sérgio Mota, ocorrida em 20 de agosto de 1998, provável vítima da SED. Essa portaria de nº 3.523/GM, de 28 de agosto de 1998, aprova a regulamentação referente aos procedimentos técnicos de limpeza, remoção de sujidades por métodos físicos e manutenção do estado de integridade e eficiência de todos os componentes dos sistemas de climatização artificial (AFONSO, 2005).

A probabilidade de um indivíduo vir a desenvolver algum problema de saúde relacionado à inalação de esporos fúngicos, está relacionada a diversos fatores, tais como: tempo e frequência de exposição, suscetibilidade individual e interações entre agentes biológicos e químicos no ambiente (FLANKLIN, 2006).

Tomando como referência todos os aspectos citados anteriormente, o presente estudo teve como objetivo geral realizar o isolamento de fungos obtidos a partir de amostras de ar condicionado proveniente de equipamentos instalados na Biblioteca Central Flávio Sátiro Fernandes das Faculdades Integradas de Patos – FIP, Paraíba – Brasil. Os objetivos específicos foram: isolar e purificar as amostras de fungos isoladas em meio de cultura Ágar Sabourad Dextrose adicionado de cloranfenicol (50mg/L); observar e analisar os aspectos morfológicos e macroscópicos das culturas isoladas; realizar comparação percentual entre as colônias de leveduras e as colônias de fungos filamentosos isoladas e armazenar os fungos isolados para realização de estudos futuros.

MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção, serão apresentados os principais procedimentos e equipamentos utilizados para a realização desse estudo, bem como serão descritos detalhadamente os locais de trabalho, materiais utilizados e metodologia, conforme texto a seguir.

Locais de trabalho

O presente estudo foi realizado nas Faculdades Integradas de Patos (FIP), onde as amostras foram coletadas na Biblioteca Central Flávio Sátiro Fernandes e analisadas no Laboratório de Ciências Básicas, ambos localizados à Rua Horácio Nóbrega S/N, Bairro Belo Horizonte, na cidade de Patos, Estado da Paraíba, Brasil.

O motivo pelo qual este local foi escolhido para a realização deste trabalho, foi o fato da biblioteca possuir um número significativo de usuários cadastrados em seu banco de dados, cerca de 2600 clientes, segundo a direção. Essa grande quantidade de pessoas registradas favorece uma circulação semanal em média de 300 pessoas, as quais estão expostas aos contaminantes biológicos que circulam no local. A climatização da biblioteca é realizada de maneira automatizada por 07 equipamentos de ar condicionado, os quais garantem a circulação de ar no interior do ambiente e assegura o conforto térmico do local em uma área de aproximadamente 1000m².

A limpeza dos equipamentos é realizada pelos funcionários, uma vez por semana. As manutenções preventivas e corretivas são realizadas semestralmente por uma empresa terceirizada.

Materiais utilizados

Para isolamento dos fungos, foram utilizadas placas de Petri e tubos de ensaio contendo meio de cultura Ágar Sabouraud Dextrose adicionado de cloranfenicol (50mg/L). Equipamentos como microondas e autoclave foram utilizados para preparação do meio de cultura e alças de platina foram destinadas à manipulação dos microorganismos. Para a manutenção e armazenamento das amostras, foi utilizada a geladeira disponível no Laboratório de Ciências Básicas das FIP.

Metodologia

A metodologia desse estudo foi realizada de acordo com a Resolução 09 de 16 de janeiro de 2003, da ANVISA, que regulamenta a Norma Técnica 001 (NT 001), a qual descreve sobre a coleta de fungos em ambientes internos.

A NT 001 estabelece que para a coleta de fungos em um ambiente interno, deve-se coletar em meio de cultura Ágar Sabourad Dextrose, Ágar Batata Dextrose ou Ágar Extrato de Malte distribuído em uma placa de Petri previamente esterilizada, que deve ficar aberta e exposta durante um intervalo de tempo que pode variar entre 5 a 15 minutos. O número mínimo de amostras para uma área de 1000m² construídos é de uma amostra, segundo a NT 001. Após esse procedimento, as amostras devem permanecer em temperatura ambiente durante sete dias para favorecer o crescimento das colônias.

Tomando como referência as instruções citadas acima, e com o intuito de aumentar a probabilidade de que fossem isoladas somente colônias fúngicas, foram coletadas quatro amostras em meio de cultura Ágar Sabourad Dextrose adicionado de cloranfenicol (50mg/L). O cloranfenicol à 50mg/L inibe o crescimento bacteriano favorecendo com que só sejam isoladas colônias fúngicas. As placas contendo o meio de cultura foram abertas e expostas alternando os condicionadores de ar durante 5 minutos de forma que o ar proveniente do equipamento mantivesse contato com as placas. Após a coleta, as amostras foram mantidas a temperatura ambiente durante sete dias, para favorecer o crescimento fúngico. Decorrido esse tempo, as amostras foram manipuladas e purificadas dentro de uma câmara de fluxo laminar

para evitar contaminação, em seguida, foram distribuídas por semeio em esgotamento (quatro estirações paralelos) em outras placas contendo o mesmo meio de cultura utilizado no procedimento anterior. Após sete dias de incubação, foram analisados os aspectos morfológicos e macroscópicos das colônias isoladas. Após essa análise, foi feito o repique das colônias em tubos de ensaio contendo meio de cultura específico e foram acondicionados em temperatura ambiente durante sete dias. Transcorrido o período de incubação, os isolados foram armazenados na geladeira para posteriores estudos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os principais resultados obtidos no desenvolvimento desse estudo serão descritos e discutidos nessa seção de acordo com os objetivos previamente estabelecidos.

Colônias fúngicas isoladas

Foram isoladas sete colônias fúngicas, das quais três são colônias de leveduras e as quatro colônias restantes são de fungos filamentosos.

Características morfológicas e macroscópicas das colônias isoladas

Depois de purificadas, as colônias foram analisadas de acordo com seus aspectos morfológicos e macroscópicos. As características observadas são apresentadas nas Tabelas 1 e 2 mostradas a seguir.

Tabela 1 – Características das colônias de leveduras isoladas a partir de equipamentos de ar condicionado.

Colônias leveduriformes	Características das colônias
Colônia 1	Colônia de cor amarelada, delgada, com aspecto mucóide aderida no meio de cultura.
Colônia 2	Colônia de cor amarelada, espessa, com aspecto mucóide aderida no meio de cultura.

Colônia 3	Colônia de cor creme-amarelada, espessa, com aspecto mucóide aderida no meio de cultura.
-----------	--

Tabela 2 – Características das colônias de fungos filamentosos isolados a partir de equipamentos de ar condicionado.

Colônias de fungos filamentosos	Características das colônias
Colônia 1	Colônia de coloração acinzentada, de aspecto consistente, firmemente aderida no meio de cultura.
Colônia 2	Colônia de coloração marrom-enebecida, de aspecto friável.
Colônia 3	Colônia de coloração verde-enebecida, de aspecto friável.
Colônia 4	Colônia de coloração creme, de aspecto algodinoso e friável.

Comparação percentual entre as colônias fúngicas isoladas

A comparação percentual entre as colônias fúngicas isoladas é descrita na Figura 1 mostrada a seguir.

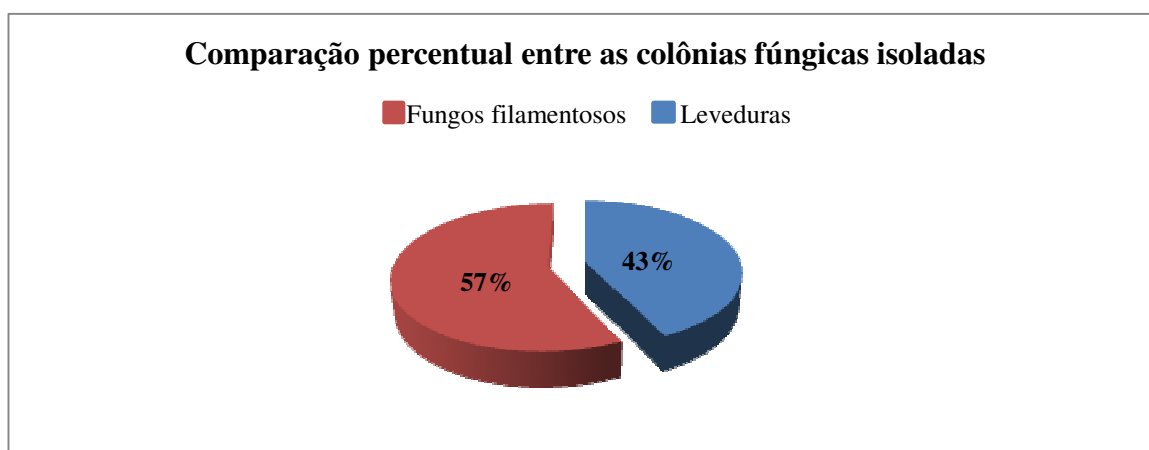


Figura 1 – Nesta figura, é comparado o percentual entre as colônias isoladas.

De acordo com a figura mostrada anteriormente, pode-se observar que o percentual de colônias de fungos filamentosos (57%) a qual corresponde exatamente a quatro colônias isoladas é superior ao percentual de colônias de leveduras isoladas (43%) referente a três colônias, totalizando sete colônias isoladas e purificadas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao término do presente trabalho, pode-se concluir que todos os objetivos previamente estipulados foram alcançados tais como: isolamento de diferentes tipos de fungos, sendo eles leveduras e fungos filamentosos; purificação dos isolados fúngicos em meio de cultura para serem analisados os aspectos morfológicos e macroscópicos das colônias fúngicas; comparação percentual entre o número de colônias isoladas para identificar a predominância de leveduras ou de fungos filamentosos no ambiente interno da biblioteca, que nesse caso a predominância foi de fungos filamentosos.

Vale ressaltar que a metodologia empregada nesse estudo foi adequada, pois possibilitou alcançar todos os objetivos almejados. Além disso, os isolados fúngicos purificados foram armazenados em geladeira para realização de estudos posteriores e assim, serem identificados, o que contribuirá de maneira significativa para o avanço da pesquisa científica nessa área.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFONSO, M. S. M. Condicionamento de ar em salas de operação e controle de infecção – uma revisão. **Revista Eletrônica de Enfermagem**. Goiânia, 2006.

AFONSO, M. S. M.; **Avaliação do controle da qualidade do ar ambiente condicionado em salas de operação no município de Goiânia – GO**. Goiânia, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução n. 9 de 16 de janeiro de 2003**.

CARTAXO, E. F.; GONÇALVES, A. C. L. C.; COSTA, F. R.; COELHO, I. M. V.; SANTOS, J. G. Aspectos de contaminação biológica em filtros de condicionadores de ar

instalados em domicílios da cidade de Manaus – AM. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 2, p. 202-211, 2007.

FRANKLIN, S. L.; **A qualidade do ar em um laboratório climatizado de anatomia patológica – avaliação dos agentes biológicos**. Rio de Janeiro, 2006.

GAUER, M. A.; SZYMANSKI, M. S. E.; PIAN, L. B.; SCHIRMER, W. N. A poluição do ar em ambientes internos. **VI Semana de Estudos da Engenharia Ambiental**. UNICENTRO, Campus Irati, 2008.

LEE, H.; AWBI, H. B. Effect of internal partitioning on indoor air quality of rooms with mixing ventilation - basic study. **Building and Environment**, v. 39, n. 2, p. 127-141, 2004.

MESQUISTA, M. S.; ARAUJO, F. M. Diagnóstico da qualidade do ar interno das edificações do campus da Unifor. **Revista Tecnologia**, Fortaleza, v. 27, n. 2, p. 163-170, 2006.

NASCIMENTO, G. C. **Avaliação da qualidade do ar em ambientes internos: biblioteca pública**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2011.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE - OMS. **Critérios de Qualidade do Ar**. Genebra, Suíça, 1999.

SILVA, A. F. S. **Avaliação da qualidade ambiental interior de um edifício climatizado artificialmente, com ênfase na análise do conforto térmico**. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2010.