

CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA FÚNGICA NAS CLÍNICAS E CENTRO CIRÚRGICO DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS (UFAM)

Eduardo Aroucha Roland ¹, Sônia Maria da Silva Carvalho ², Maria Ivone Lopes da Silva³

¹ Discente do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil

² Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal do Amazonas, Docente Associada IV e Chefe da Divisão de Biotecnologia do Centro de Apoio Multidisciplinar (CAM) da Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil

³ Doutora em Ciências Biológicas (Botânica) pela Universidade de São Paulo, Docente Titular da Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil

Resumo

Os fungos anemófilos liberam no ambiente estruturas reprodutivas chamadas esporos, que ao serem transportados pelo ar, são capazes de propagar a espécie, ao encontrar um substrato viável. Com o objetivo de analisar a microbiota fúngica e a qualidade do ar dos ambientes clínico-cirúrgicos da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), utilizou-se um método qualitativo de coleta desses fungos, por meio da deposição dos esporos em placas de Petri com meios de cultura, expostas nos locais por 20 minutos e após, incubadas à 25°C por 15 a 30 dias. Decorrido este período, as colônias foram contadas, descritas morfológicamente, repicadas e identificadas. Para avaliar a diversidade fúngica, optou-se por realizar duas coletas em períodos distintos, sendo a primeira na estação seca, em setembro de 2018, e a segunda na estação chuvosa, em fevereiro de 2019. Na primeira coleta houve um total de 196 colônias, sendo 122 (62,25%) classificadas como *Mycelia sterilia*, micélio estéril sem gênero e espécie específicas; dentre os identificados, os gêneros *Cladosporium sp* com 45 colônias (22,96%) e *Penicillium sp* com 20 (10,20%) foram os mais prevalentes. Na segunda coleta houve uma redução do número de colônias para 126, sendo 83 (65,9%) classificadas como *Mycelia sterilia*, e dentre os identificados, os mais prevalentes foram os gêneros *Aspergillus sp* (17,4 %) com 22 colônias, sendo 11 da espécie *A. flavus*, e o gênero *Penicillium sp* com 5 colônias (3,9%). A pesquisa foi importante para ampliação dos estudos sobre fungos anemófilos e na sua repercussão nociva para saúde humana.

Palavras-chave: fungos, diversidade, repercussão, saúde

CHARACTERIZATION OF THE FUNGAL MICROBIOTA IN THE CLINICS AND
SURGICAL CENTER OF THE FACULTY OF DENTISTRY, FEDERAL
UNIVERSITY OF AMAZONAS

Eduardo Aroucha Roland ¹, Sônia Maria da Silva Carvalho ², Maria Ivone Lopes da Silva³

¹ Student of the Dentistry Course, Federal University of Amazonas, Manaus, Amazonas, Brazil

² Doctor in Biotechnology from the Federal University of Amazonas, Associate Professor IV and Head of the Biotechnology Division of the Multidisciplinary Support Center (CAM) of the Federal University of Amazonas, Manaus, Amazonas, Brazil

³ Doctor in Biological Sciences (Botany) from the University of São Paulo, Titular Professor of the Federal University of Amazonas, Manaus, Amazonas, Brazil

Abstract

Anemophilous fungi release reproductive structures known as spores into the environment, which when transported by the airflow, are capable of propagating the species when they find a viable substrate. Aiming to analyze the fungal microbiota and the air quality of the clinical-surgical environments of the Faculty of Dentistry of the Federal University of Amazonas (UFAM), we used a qualitative method to collect these fungi by depositing the spores in Petri dishes with culture media, exposed in the locations for 20 minutes, after which they were incubated at 25°C for 15 to 30 days. After this period, the colonies were counted, morphologically described, repotted and identified. In order to evaluate the fungal diversity, two collections were made in different periods, the first during the dry season in September 2018 and the second during the rainy season in February 2019. In the first collection there was a total of 196 colonies, however 122 (62.25%) could not be identified because they were *Mycelia sterilia*, sterile mycelium without any specified genus or species, however, among those identified, the genera *Cladosporium* sp with 45 colonies (22.96%) and *Penicillium* sp with 20 colonies (10.20%,) were the most prevalent. In the second collection, there was a reduction in the number of colonies to 126, of which 83 (65.9%) were classified as *Mycelia sterilia*, and, among those identified, the most prevalent were the genera *Aspergillus* sp (17.4%) with 22 colonies, 11 of which were of the species *A. flavus*, and the genus *Penicillium* sp with 5 colonies (3.9%). This research was important for the expansion to the study of anemophilic fungi and their harmful repercussion to human health.

Keywords: fungi, diversity, repercussion, health

Introdução

Os fungos são seres eucariontes, heterotróficos, uni ou pluricelulares, pertencentes ao reino Fungi. Estão extensamente distribuídos no meio ambiente, encontrando-os no ar, água, solo, animais domésticos e silvestres, excretas e em vários alimentos como produtos lácteos, bebidas e queijos. (LACAZ *et al.*, 2002; SILVA *et al.*, 2021). Em ambientes internos, a qualidade do ar está se tornando interesse mundial, a medida em que a mudança do estilo de vida da população, ao frequentar, em boa parte da vida, ambientes climatizados artificialmente, aumenta. (ANTUNES *et al.*, 2021).

A formação da alta quantidade de propágulos, como esporos e micélio vegetativo, determinam a eficácia da disseminação dos fungos, sendo o ar atmosférico seu principal carreador, transportando-os a longas distâncias através do vento. Esses fungos que utilizam o ar como fonte de disseminação, são conhecidos como anemófilos. Estes possuem importância tanto por serem biodeteriorantes de diversos substratos, quanto por serem agentes causadores de alergias respiratórias tais como rinites alérgicas e asma brônquica. (TRABULSI e ALTERTHUM, 2015).

O desenvolvimento dos fungos é facilitado pelas condições climáticas nos trópicos, fazendo com que suas células, tais como esporos ou partículas de hifas, sejam transportados para a atmosfera, tornando-se anemófilos, com potencial alergizante. (FONSECA e CONCEIÇÃO, 1977). Outros fatores também estão associados as concentrações e diversidade fúngicas no ar, como a estação do ano, temperatura, umidade relativa do ar, radiação solar, pressão barométrica e poeira domiciliar. (SILVA *et al.*, 2021).

A diversidade fúngica do ar varia em cada cidade ou região, podendo apresentar-se diferente ou semelhante, devido a dispersão desses microorganismos pelo ar atmosférico. A exposição do indivíduo a estes aeroalérgenos, pode desencadear processos alérgicos, principalmente respiratórios, onde o nível de importância médico-clínico, se deve à intensidade de exposições. Ainda que exista o conhecimento da associação entre fungos anemófilos e quadros de hipersensibilidade do trato respiratório, há a carência de publicações a respeito nas cidades brasileiras. (MEZZARI *et al.*, 2003).

Um ambiente contaminado pode desencadear a perda de produtividade decorrentes de sintomas como fadiga, sonolência, cansaço, fraqueza, apatia, náusea, coriza, tontura, dor de cabeça, dificuldade de concentração, urticária, irritação e secura na pele, falta de ar, irritação no nariz e na garganta, rinite alérgica, asma brônquica, entre outros. (LIMA M.L.F., LIMA J.S. e SILVA 2019).

Alguns destes estudos, demonstram que os fungos verificados no ar atmosférico são praticamente os mesmos encontrados na superfície corpórea do homem e de diversos animais. Fungos anemófilos também estão presentes nos ambientes internos e, geralmente, refletem a diversidade encontrada no ambiente externo, no entanto, a concentração de fungos presentes no ar do ambiente interno, não deve exceder ao do ambiente externo; exceto caso encontrem um meio adequado para reprodução e consequente colonização e multiplicação, levando ao aumento do número de fungos no ambiente interno; ou quando certa espécie suplanta as demais. Esses casos demonstram um desequilíbrio no ambiente interno e por isso há a necessidade em investigar e sanar a causa. (TRABULSI e ALTERTHUM, 2015).

Com base na Resolução-RE Nº 9 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2003), foram determinadas medidas de referência, para a manutenção da qualidade do ar, em ambientes internos climatizados de uso público e coletivo já existentes e aos que serão instalados. Existe, portanto, o Valor Máximo Recomendável (VMR) para contaminação microbiológica, devendo ser ≤ 750 ufc/m³ de fungos, para a relação I/E $\leq 1,5$; sendo I correspondente a quantidade de fungos presentes no ambiente interno e E a quantidade de fungos referentes ao ambiente externo. É necessário investigação caso os valores de fungos presentes em um ambiente interno, exceda os valores do VMR ou se a relação I/E for $> 1,5$; a fim de solucionar os focos de contaminação. Foi também classificado como inadmissível a presença de fungos toxigênicos e patogênicos.

Segundo Sousa e Fortuna (2011), a profissão cirurgião-dentista possui certas atividades voltadas a excisão de tecidos contaminados, na presença de fluidos corporais (sangue e saliva), por meio de motores de alta rotação que contaminam o entorno com aerossóis, espalhando gotículas que podem infectar equipamentos, o ar e acessórios, com microrganismos. Verificou-se que durante os atendimentos odontológicos, os níveis de contaminantes no ar aumentaram, mostrando, portanto, se tratar de uma área tanto contaminante como contaminada, principalmente devido a aerolização de materiais biológicos, como sangue e saliva, e aqueles com potenciais tóxicos.

Nesse sentido, Lacaz, *et al.* (2002), afirma que, o aumento de infecções oportunistas nosocomiais está relacionado com a evolução de tratamentos medicamentosos ou cirúrgicos em indivíduos imunocomprometidos por doenças infecciosas, em transplantados de maneira geral, pós-operatório de várias cirurgias cardíacas, neoplasias e hemopatias. Além disso, existem fungos consideravelmente relacionados com a alergia respiratória, sendo esses: os filamentosos, hialinos ou demácios e as leveduras.

Segundo a literatura, cerca de 1 bilhão de pessoas são acometidas por infecções fúngicas (superficiais, subcutâneas e invasivas) anualmente, sendo que cerca de 1,6 milhões de pacientes evoluem à óbito decorrente principalmente de micoses com comprometimento sistêmico. Nota-se que apesar da baixa incidência comparada a outras infecções, ainda assim, exibem percentuais de mortalidade acentuadas, acometendo principalmente pacientes com grave deterioração imunológica. (NEUFELD, 2020). Cerca de 4 milhões de pessoas, por ano, são afetadas por infecções fúngicas no Brasil. (ANTUNES *et al.*, 2021).

Ainda se tem empecilho para determinar a relevância de fungos alergizantes em quadros de rinite e asma alérgicas, grande parte em consequência da incompreensão da microbiota fúngica em que a população se encontra submetida. Para monitorar a ocorrência de doenças alérgicas causadas por fungos inalados, faz-se necessário conhecer a quantidade e qualidade de amostras isoladas, a frequência que ocorre determinado fungo e o total de exposições do indivíduo ao ambiente. (MEZZARI *et al.*, 2003).

Durante o período pandêmico causado pelo vírus SARS-CoV-2, estimulando, em alguns organismos, o desenvolvimento da COVID-19; houve um aumento crítico de internações e tratamentos que prejudicam a resposta imunológica dos pacientes. Dessa forma, foi também esperado, um aumento de coinfeções por microrganismos, dentre eles os fungos. A relevância está na possibilidade do agravamento dos sintomas, dificuldade de cura, piora do prognóstico e no aumento das taxas de mortalidade. (NEUFELD, 2020).

Em relação ao custeio do tratamento das micoses sistêmicas, ela poderá ser dispendiosa, podendo ultrapassar o valor de 115 mil dólares por paciente, caso seja utilizado o fármaco Anfotericina B em complexo lipídico, a droga mais cara e eficiente em infecções invasivas. Além disso, um fator comprometedor tanto para saúde humana, quanto para os gastos em tratamentos, é a resistência das drogas atuais tanto em plantas, animais e humanos, devido ao tratamento profilático longo ou empírico utilizando a

mesma droga, a carência em diversidade química e na insistência dos mesmos fungicidas em tratamentos repetidos. (MOROSINI, 2019).

Métodos

Área de coleta

As amostras foram coletadas em ambientes internos referentes a três clínicas e um centro cirúrgico, para análise e controle da qualidade do ar da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Amazonas (UFAM).

Coleta dos fungos anemófilos

Foi realizada a primeira coleta durante a estação seca, no dia 24 de Setembro de 2018, onde as placas foram dispostas sobre apoios, a cerca de 50 cm a 1 metro do chão, com espaçamento de aproximadamente 1 a 2 metros entre si e ficaram expostas por 20 minutos em cada ambiente.

Como afirma Zaitz, *et al.* (2017), a técnica de sedimentação em placa de Petri é uma das mais utilizadas, consistindo no depósito de propágulos no meio de cultura, formando colônias após multiplicação e crescimento dos fungos. Embora seja uma técnica qualitativa, fornece informações sobre os fungos mais frequentes, variação sazonal e isolamento dos fungos, podendo serem utilizados no diagnóstico de alergias.

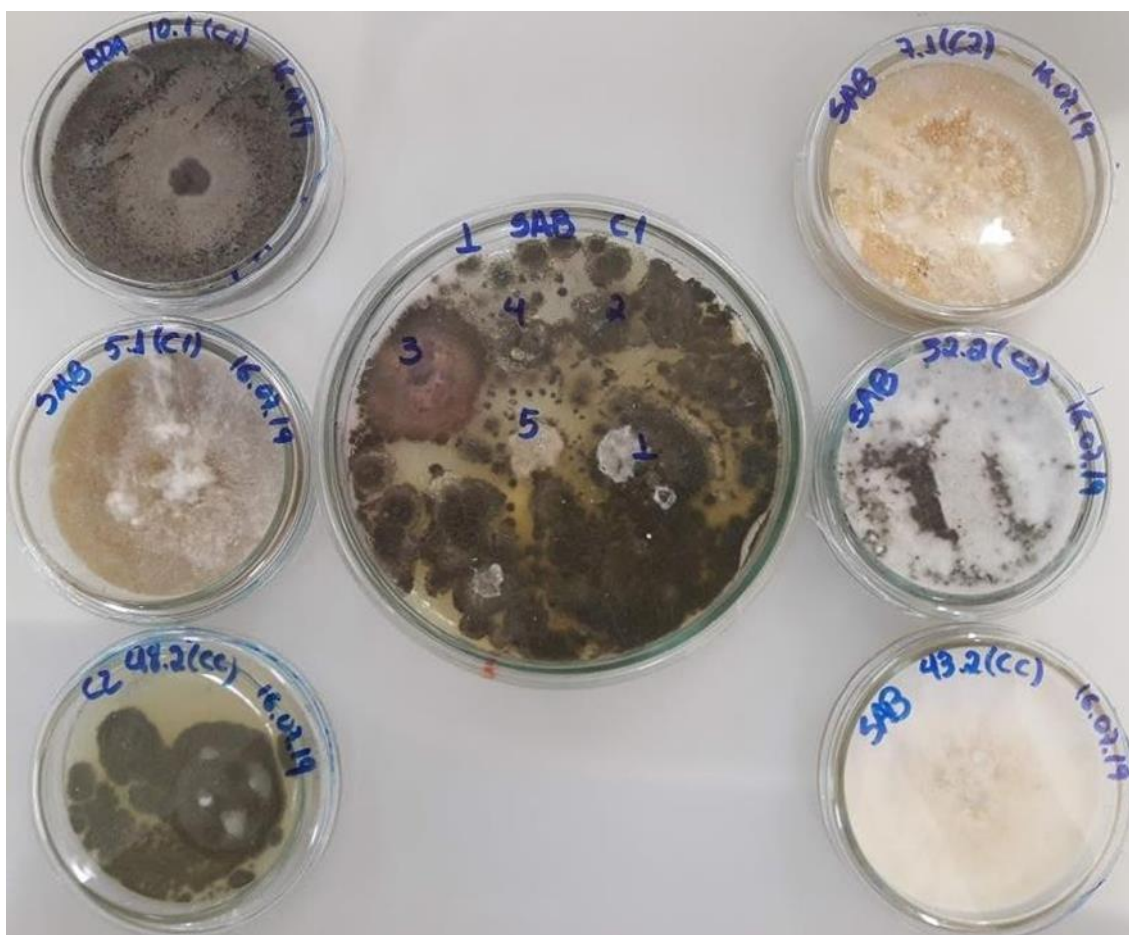
A coleta foi realizada por meio da técnica de sedimentação dos esporos em meio de cultura. As placas de Petri (90mmx20mm) continham os meios de cultura: Sabouraud Dextrose Ágar (SDA), Ágar-Batata-Dextrose (BDA) e Ágar-Czapek – CZ. A quantidade de placas de Petri utilizadas foi calculada com base nas dimensões de cada ambiente a ser pesquisado, atribuindo às clínicas um e dois, localizadas no térreo e que ocupam o mesmo ambiente, respectivamente 12 e 9 placas; a três, que está localizada no primeiro andar, 21 placas; e a um centro cirúrgico, localizada no térreo e utilizado durante um semestre no ano, 6 placas.

Passado o tempo de exposição das placas de Petri, estas foram fechadas, identificadas e transportadas até o Laboratório de Micologia, do Departamento de Parasitologia da UFAM, onde ficaram incubadas à temperatura ambiente (25°C).

Observação e contagem das colônias

De acordo com a Resolução-RE N° 9 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2003), para permitir o crescimento, em geral, dos fungos, é necessário um tempo de 3 a 7 dias de incubação a 25 °C. No entanto, fungos da família Dematiácea, necessitam na maioria das vezes de 15 a 30 dias para se desenvolver.

Como observado na Figura 1, procedeu-se o acompanhamento do desenvolvimento das colônias nas placas de coleta e registro da quantidade formada por placas (UFC). Em seguida realizou-se a identificação por numeração e a descrição de todas as características macroscópicas das colônias registradas.



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 1- Placa de Petri da coleta ao centro e de isolamento na periferia

Técnica de repique

Após a fase de identificação macroscópica, as colônias foram repicadas, de acordo com a numeração, para tubos de ensaio contendo meios de cultura, para então se obter colônias de fungos isoladas.

Identificação

No método de identificação, foi realizado o estudo micromorfológico, com visualização direta nas lâminas, preparadas retirando-se pequenas porções da colônia fúngica cultivada em cada tubo de ensaio, sendo estas colocadas na superfície da lâmina contendo o corante Azul de Lactofenol e fragmentadas, para melhor visualização das estruturas dos fungos; sobrepondo em seguida a lamínula, para então observar ao microscópio.

Foi realizado posteriormente a técnica de microcultivo em câmara úmida (Riddel,1950), para confirmação dos gêneros visualizados inicialmente e para possível determinação das espécies, já que esta técnica permite identificar de forma mais segura os fungos, por meio da visualização da morfologia, tornando possível a identificação a nível de espécie.

Preservação dos fungos

Os fungos foram preservados através da técnica de água destilada estéril preconizado por Castellani (1939). Na preservação foram utilizadas culturas puras de fungos, cultivadas em placas de Petri até apresentar um bom crescimento (esporulação); em seguida foram cortados, pela margem da colônia jovem, blocos com cerca de 6 a 8 mm; sendo 10 desses blocos transferidos para frascos do tipo penicilina com cerca de 5 ml de água destilada estéril. Os frascos foram fechados e vedados com tampa de borracha e selados, com esmalte incolor, e mantidos à temperatura ambiente.

Resultados e Discussão

Por meio da visualização inicial em lâmina e da macromorfologia, foi possível identificar o gênero de alguns fungos, tais como: *Cladosporium sp*, *Penicillium sp*, *Paecilomyce ssp*, *Aspergillus sp*, *Fusarium sp* e *Verticillium sp*(em sequência de aparecimento do maior para o menor), como pode ser observado na Tabela 1. Porém, para uma maior e melhor identificação das espécies de fungos e confirmação dos gêneros isolados, foi empregado o método de microcultivo em câmara úmida (Riddel, 1950), permitindo a visualização mais detalhada das estruturas ou da micromorfologia dos fungos.

O método de Ridell ou modificado por Harris, podem ser usados no cultivo dos fungos em lâmina, o que permite durante o exame microscópico, visualizar corretamente a morfologia desses microrganismos. A presença ou não de determinadas estruturas poderá indicar o gênero dos fungos coletados ou em alguns casos também a espécie, ou seja, com base na morfologia verificada microscopicamente, será possível uma melhor identificação dos fungos. (MEZZARI e CAUDURO, 1996).

A tabela 1 apresenta os gêneros de alguns fungos e os respectivos meios de cultura no qual se desenvolveram, frutos da primeira coleta realizada no mês de setembro de 2018, durante a estação seca. O período de crescimento dos fungos observados nesta pesquisa não excedeu o tempo de 15 dias, a despeito de se haver isolado fungos dematiáceos, que necessitam de 15 a 30 dias para o seu completo desenvolvimento. Como pode ser verificado, o fungo mais comumente encontrado foi do gênero *Cladosporium sp*, um fungo dematiáceo, seguido pelo *Penicillium sp*, fungo hialino. Nas demais amostras foi identificado uma espécie do grupo Niger, sendo esta o *Aspergillus niger*.

Os gêneros que foram isolados nos ambientes da Faculdade de Odontologia são frequentemente encontrados durante coletas de fungos anemófilos. Todos possuem potencial de patogenicidade humana.

Os gêneros isolados nesta primeira coleta, como descrito na literatura, são potenciais alergênicos e apresentam riscos de ocasionarem infecções mais graves, dependendo de alguns fatores relacionados ao ambiente e hospedeiro e, medidas de desinfecção ambiental e assepsia, devem ser tomadas para minimizar a exposição das pessoas a seus propágulos dispersos no ar, pela eliminação da presença destes fungos nos ambientes onde foram realizadas as coletas.

Não foram identificadas, em nível de gênero e espécie específicas, até o presente momento 122 colônias, por conta da ausência de formação de suas estruturas reprodutivas, apresentando estes apenas micélio, o que é denominado de *Mycelia sterilia*, significando micélio estéril. No entanto, preservar-se-á tais amostras para futuro estudo e possibilidade de identificação dos seus gêneros e/ou espécies.

Tabela 1- Quantitativo dos gêneros de fungos, por tipo de meio de cultura, encontrados durante a coleta, Set/2018, Manaus, AM

Meios de cultura Gêneros	Sabouraud	Ágar-Batata-	Ágar	Total	%
	Dextrose	Dextrose	Czapek		
	Ágar (SDA)	(BDA)	(CZ)		

<i>Cladosporium sp.</i>	33	7	5	45	22,96
<i>Penicillium sp.</i>	20	-	-	20	10,20
<i>Paecilomyces sp.</i>	-	4	-	4	2,04
<i>Aspergillus sp.</i>	-	1	1	2	1,02
<i>Aspergillusniger</i>	1	-	-	1	0,51
<i>Fusarium sp.</i>	-	1	-	1	0,51
<i>Verticillium sp.</i>	-	-	1	1	0,51
<i>Myceliasterilia</i>	46	46	30	122	62,25
Total	100	59	37	196	-
%	51,02	30,10	18,88	-	100

É possível constatar pela Tabela 1 acima e Figura 2 abaixo, que o maior quantitativo de fungos isolados, com um percentual de 51,02% foi encontrado no Meio SDA, confirmando o fato deste ser um meio Universal, que possui os constituintes essenciais para os fungos que são uma fonte de Carbono (glicose) e uma de Nitrogênio (peptona) e, assim sendo possibilitar o desenvolvimento da grande maioria dos fungos, sendo o CZ e BDA meios seletivos.

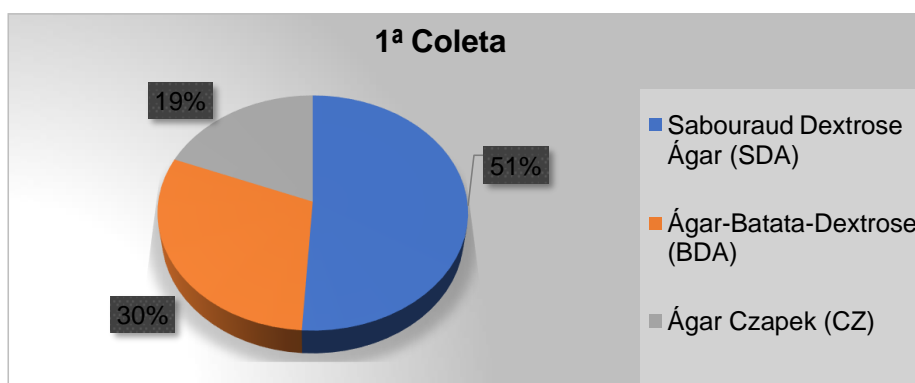


Figura 2- Quantitativo de colônias em relação ao meio de cultura

Na Tabela 2, é possível verificar a quantidade de gêneros encontrados por clínica e no centro-cirúrgico, a fim de comparar o nível de contaminação entre si. Durante a contagem, verificou-se que 49 colônias (25%) foram encontradas na clínica 1; 73 (37,25%) na clínica 2; 70 (35,71%) na clínica 3; e 4 (2,04%) no centro-cirúrgico, ainda não identificadas completamente denominadas de *Mycelia sterilia*. Também foi observado que em duas placas de Petri não houve crescimento de colônias, mesmo após

3 meses da coleta. Essas placas referem-se ao centro-cirúrgico, indicando um baixo nível de contaminação do local.

Tabela 2- Quantitativo dos gêneros de fungos encontrados por clínica e no centro-cirúrgico.

Local de Coleta	Clínica 1	Clínica 2	Clínica 3	CC
Gênero				
<i>Cladosporium</i> sp	16	20	9	-
<i>Penicillium</i> sp.	3	11	6	-
<i>Paecilomyces</i> sp.	1	2	1	-
<i>Aspergillus</i> sp.	1	-	1	-
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	1	-
<i>Fusarium</i> sp.	1	-	-	-
<i>Verticillium</i> sp.	-	-	1	-
<i>Myceliasterilia</i>	27	40	51	4
Total	49	73	70	4
%	25%	37,25%	35,71%	2,04%

CC: Centro-cirúrgico.

O gênero *Cladosporium* sp está associado às feo-hifomicoses cutâneas e sistêmicas ou disseminadas, podendo ocasionar desde oculomicoses, bolor fúngico pulmonar até lesões cerebrais. (LACAZ *et al.*, 2002).

O gênero *Penicillium* sp é um agente etiológico relacionado a infecções pulmonares, queratites, otomicoses, endoftalmites e infecções do trato urinário. Além disso, a infecção é adquirida pela inalação do fungo, havendo, portanto, um risco de infecção. (MARTINS, MELO e HEINS, 2005).

De acordo com Martins, Melo e Heins (2005), o fungo do gênero *Fusarium* sp é o agente mais comum dentre as hialo-hifomicoses causada por inoculação traumática. Diversas espécies podem causar queratites, endoftalmites, endocardites, fungemia e infecções disseminadas.

O gênero *Paecilomyces* sp é agente de variadas infecções, tais como: oculomicoses, pneumonias, sinusites, endocardites, fungemia e onicomicose, entre outros. Além de ser também a causa de várias infecções em animais. (MARTINS, MELO e HEINS, 2005).

A segunda coleta foi realizada em fevereiro de 2019, durante a estação chuvosa, utilizando os mesmos procedimentos da primeira coleta. De acordo com a Tabela 3, obteve-se menor número de colônias, num total de 126 colônias, sendo os gêneros mais prevalentes o *Aspergillus sp* em um total de 22 colônias (17,4%) sendo 11 da espécie *A. flavus* (8,7%); e o gênero *Penicillium sp* com 5 (3,9%). Além disso, 83 colônias não produziram estrutura reprodutiva, somente micélio e, portanto, não puderam ser identificadas sendo então classificadas como *Mycelia sterilia*.

Os dados indicam que o maior número de colônias se desenvolveu no Ágar-Batata-Dextrose (35,7%), seguido pelo Ágar Czapek (32,5%) e Sabouraud Dextrose Ágar (31,8%), Figura 3.

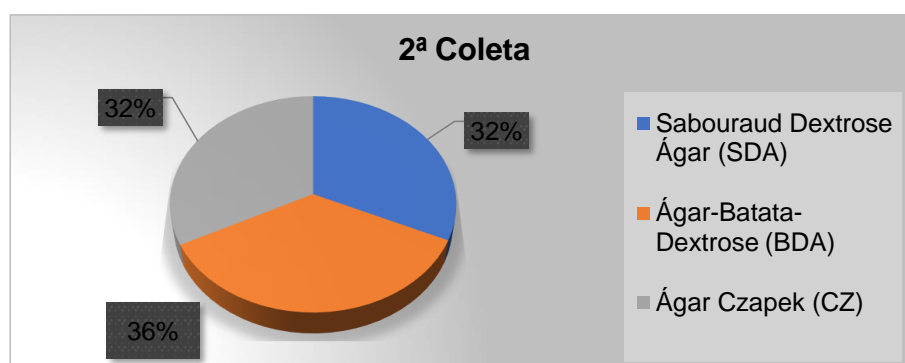


Figura 3- Quantitativo de colônias por meio de cultura

Tabela 3- Quantitativo dos gêneros de fungos encontrados durante a coleta, Set/2018, Manaus, AM

Meios de cultura	Sabouraud Dextrose Ágar (SDA)	Ágar-Batata-Dextrose (BDA)	Ágar Czapek (CZ)	Total	%
Gêneros					
<i>Aspergillus sp.</i>	3	-	-	3	2,4
<i>Aspergillusflavus</i>	-	8	3	11	8,7
<i>Aspergillusniger</i>	1	1	1	3	2,4
<i>Aspergillusglaucus</i>	-	-	3	3	2,4
<i>Aspergillusoryzae</i>	2	-	-	2	1,6
<i>Penicillium sp.</i>	5	-	-	5	3,9

<i>Penicilliumlilacinum</i>	-	-	1	1	0,8
<i>Penicilliumcitrinum</i>	-	-	2	2	1,6
<i>Rhizopus sp.</i>	-	-	3	3	2,4
<i>Cladosporium sp.</i>	-	1	-	1	0,8
<i>Geotrichum sp.</i>	1	-	-	1	0,8
Dematiáceos	4	-	3	7	5,5
Levedura	-	1	-	1	0,8
<i>Myceliasterilia</i>	24	34	25	83	65,9
Total	40	45	41	126	-
%	31,8	35,7	32,5	-	100

CC: Centro-cirúrgico.

A Tabela 4, mostra o quantitativo de colônias fúngicas nos ambientes estudados, tendo o maior número na Clínica 3 (49,2%) com 62 colônias: seguido pela Clínica 1 (20,6%) com 26 colônias e Clínica 2 e Centro Cirúrgico com 19 colônias cada (15,1%). Por meio desses dados é possível comparar o nível de contaminação entre os ambientes. Tabela 4- Quantitativo dos gêneros dos fungos encontrados por clínica e no centro-cirúrgico.

Local de Coleta	Clínica 1	Clínica 2	Clínica 3	CC
Gênero				
<i>Aspergillus sp.</i>	3	-	-	-
<i>Aspergillusflavus</i>	1	-	7	3
<i>Aspergillusniger</i>	1	1	-	1
<i>Aspergillusglaucus</i>	-	-	3	-
<i>Aspergillusoryzae</i>	-	1	1	-
<i>Penicillium sp.</i>	4	-	-	1
<i>Penicilliumlilacinum</i>	-	-	1	-
<i>Penicilliumcitrinum</i>	-	-	2	-
<i>Rhizopus sp.</i>	-	-	3	-
<i>Cladosporium sp.</i>	-	1	-	-

<i>Geotrichum sp.</i>	-	-	1	-
Dematiáceos	3	1	1	2
Levedura	-	-	-	1
<i>Myceliasterilia</i>	14	15	43	11
Total	26	19	62	19
%	20,6%	15,1%	49,2%	15,1%

CC: Centro-cirúrgico.

A redução dos níveis de propágulos do ar da primeira para a segunda coleta, apesar da segunda coleta ter sido realizada durante o período chuvoso, quando deveria ter maior quantidade de colônias pelo aumento da umidade, que cria ambiente mais propício, decorreu da intervenção nos ambientes com pintura e correção de infiltrações; além da limpeza e desinfecção de rotina, ficando este ambiente sem uso até o momento em que ocorreu a segunda coleta, pois o fluxo de pessoas também carrega esporos de um local para outro.

De acordo com a Tabela 5 abaixo, comparando os gêneros comumente encontrados durante a primeira e a segunda coleta, constata-se que os mais prevalentes foram o *Cladosporium sp*, *Penicillium spe* *Aspergillus flavus*. Na análise individual, nota-se uma diversificação dos gêneros fúngicos em relação as coletas, pois os mais frequentes na primeira coleta foram o *Cladosporium sp* e *Penicillium sp*, enquanto que na segunda coleta foram o *Aspergillus sp* e *Penicillium sp*. Apesar de coincidentes em ambas as coletas, o gênero *Penicillium sp* tem o número de colônias reduzido drasticamente de 20 na primeira coleta para 5 na segunda. Em relação às espécies, o gênero *Aspergillus flavus* foi o que apresentou maior quantidade de colônias.

Tabela5-Prevalência dos gêneros de fungos encontrados nas coletas 1 e 2

Gêneros	Coleta 1	Coleta 2	Total
<i>Cladosporiumsp.</i>	45	1	46
<i>Penicilliumsp.</i>	20	5	25
<i>Aspergillusflavus</i>	-	11	11
<i>Aspergillussp.</i>	2	3	5
<i>Aspergillusniger</i>	1	3	4

<i>Paecilomyces</i> sp.	4	-	4
<i>Aspergillus glaucus</i>	-	3	3
<i>Rhizopus</i> sp.	-	3	3
<i>Aspergillus oryzae</i>	-	2	2
<i>Penicillium citrinum</i>	-	2	2
<i>Penicillium lilacinum</i>	-	1	1
<i>Fusarium</i> sp.	1	-	1
<i>Geotrichum</i> sp.	-	1	1
Levedura	-	1	1

Os resultados obtidos tanto na primeira quanto na segunda coleta, corroboram com os dados presentes na literatura em relação ao quantitativo de fungos normalmente coletados no ar e na sua diversificação, de acordo com os períodos secos e chuvosos. (FONSECA e CONCEIÇÃO, 1977; LACAZ *et al* 2002; MEZZARI *et al*, 2003; TRABULSI e ALTERTHUM, 2015).

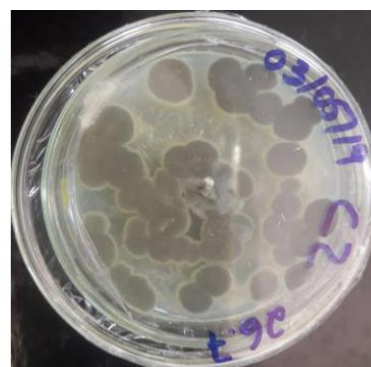
Alguns dos principais fungos podem ser vistos nas Figuras 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10.



Fonte: Arquivo pessoal



Fonte: Arquivo pessoal



Fonte: Arquivo pessoal

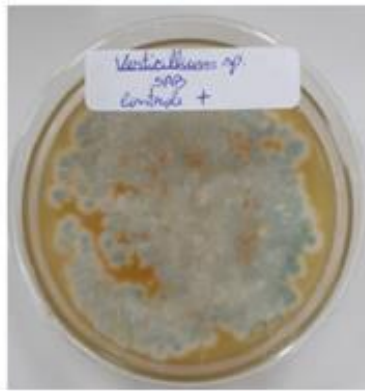
Figura 4 - *Aspergillus* sp

Figura 5 - *Cladosporium* sp

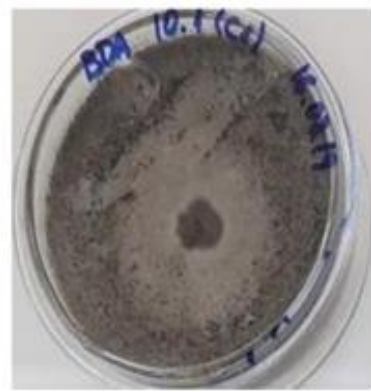
Figura 6 - *Penicillium* sp



Fonte: Arquivo pessoal



Fonte: Arquivo pessoal

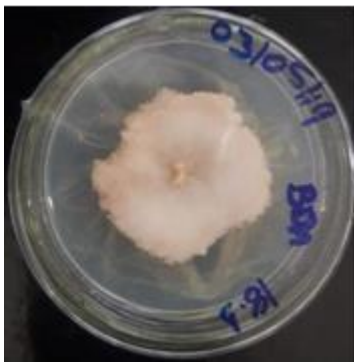


Fonte: Arquivo pessoal

Figura 7 - *Paecilomyces* sp

Figura 8 - *Verticillium* sp

Figura 9 - *Rhizopus* sp



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 10 - *Fusarium* sp

Conclusão

De acordo com os resultados obtidos, foi possível concluir:

- A técnica de isolamento por sedimentação foi eficiente para a definição da frequência de ocorrência dos fungos em ambas as coletas, dadas pela contagem da Unidades Formadora de Colônias (UFC);
- A temperatura e o ambiente de incubação usados, foram adequados para o desenvolvimento dos fungos;
- O uso do método de Riddel para identificação das colônias possibilitou a comprovação de certos gêneros e o reconhecimento de determinadas espécies;
- As colônias encontradas nas coletas 1 e 2 são agentes de infecções

humanas, tais como: infecções pulmonares (pneumonia, bolor pulmonar), sinusite, endofitalmite, otomicose, onicomomicose, endocardite, infecçãocerebral;

- A preservação dos fungos isolados, pela técnica de Castellani, permitirá que os mesmos sejam utilizados em pesquisas futuras;
- A realização das coletas durante os períodos seco e chuvoso na Região Amazônica, apresentaram diferenças tanto na diversidade fúngica quanto no quantitativo de colônias, sendo menor na segunda coleta;
- Houve menor quantidade de colônias isoladas na segunda coleta decorrente de medidas de limpeza e desinfecção realizadas após a primeira coleta;
- Há relação direta entre a limpeza e desinfecção com a qualidade do ar e quantitativo de propágulos fúngicos dispersos;
- É possível e eficaz, providenciar medidas de limpeza e desinfecção a fim de minimizar a quantidade de propágulos fúngicos dispersos no ar e, conseqüente exposição aos bioaerossóis e sua ação prejudicial nos seres humanos.

Referências

ANTUNES, B.G.K. **Identificação de fungos anemófilos e de superfície com potencial patogênico em ambiente de contato direto e com grande circulação de pessoas**. 2021. TCC-Biomedicina, Centro Universitário de Várzea Grande, Várzea Grande.

BRASIL. ANVISA. Resolução N°9, de 2003. Determina a publicação de Orientação Técnica elaborada por Grupo Técnico Assessor, sobre Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior, em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 20 de Janeiro de 2003. Seção1, p.35.

FONSECA, O.J.M; CONCEIÇÃO, L.A. Fungos anemófilos de Manaus. **Acta Amazonica**, Manaus, vol. 7, n.4, p. 497-501 , 1977.

LACAZ, C.S; PORTO, E.; MARTINS, J.E.C; HEINS-VACCARI, E.M.; MELO, N.T. **Tratado de micologia médica**. 9ed. SãoPaulo: Sarvier, 2002.

LIMA, M.L.F.; LIMA, J.S.; SILVA, M.T. Fungos anemófilos: Avaliação da microbiota do ar em ambientes internos e externo. **Essentia-Revista de Cultura, Ciência e Tecnologia da UVA**. Sobral, v. 20, n. 1, p. 88-95, 2019.

MARTINS, J.E.C.; MELO, N.T.; HEINS-VACCARI, E.M. Atlas de micologia médica. 1ed. Barueri,SP: Manole, 2005.

MEZZARI, A.; CAUDURO, P. **Micologia no laboratório**. 1ed. Porto Alegre: Sagra: D C Luzzatto, 1996.

MEZZARI, A.; PERIN, C.; Júnior, S.A.S.; BERND, L.A.G.; GESU, G.D. Os fungos anemófilos e sensibilização em indivíduos atópicos em Porto Alegre, RS. **Revista da Associação Médica Brasileira**. Porto Alegre, vol. 49, n.3, p.270-273, 2003.

MORISINI, L. Avanço dos fungos. **Radis**. ed. 196, p. 26-33, 2019.

NEUFELD, P. M. A COVID-19 e o diagnóstico da aspergilose pulmonar invasiva. **RBAC**. Rio de Janeiro, v. 52, n. 2, p. 173-85, 2020.

SILVA, D.P. *et al*. Fungos anemófilos isolados de bibliotecas de instituições de ensino da Região Nordeste do Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**. Maceió, v. 12, 2021.

SOUSA, K.S.; FORTUNA, J.L. Microrganismos em ambientes climatizados de consultórios odontológicos em uma cidade do extremo sul da Bahia. **Revista Baiana de Saúde Pública**. Itanhém (BA), vol.35, n.2, p.250-263,2011.

TRABULSI, L.R.; Alterthum, F. **Microbiologia**. 6.Ed. SãoPaulo:Atheneu, 2015.

ANEXO



Figura 1: Dra. Sônia Maria da Silva Carvalho-, uma das orientadoras do projeto de iniciação científica - PIBIC/UFAM.