

INVESTIGAÇÃO DA MICROBIÓTA ANEMÓFILA COM POTENCIAL PATOGÊNICO EM AMBIENTES CRÍTICOS DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

Henrique Gomes Martins - Acadêmico de Farmácia UFAM
Rose Mary Corrêa Santos - Farmacêutica Bioquímica HUGV
Maria Zeli Moreira Frota - Professora Adjunta de Micologia UFAM
Lucas Munareto da Silva - Farmacêutico do Laboratório de Micologia Clínica UFAM
Marcos Henrique Gurgel Rodrigues - Farmacêutico do Laboratório de Micologia Clínica UFAM

RESUMO

Introdução: Os bioaerossóis, que nada mais são que propágulos de microrganismos presentes no ar, em especial bactérias, têm despertado grande interesse nos últimos tempos, em virtude das possíveis implicações em saúde pública. Estão envolvidos diretamente com o aparecimento de patologias que vão desde alergias simples até infecções disseminadas em pacientes imunossuprimidos, especialmente sob regime de internação hospitalar. **Objetivos:** Analisar a qualidade microbiológica do ar de ambientes críticos do Hospital Universitário Getúlio Vargas – HUGV/EBSERH, identificar taxonomicamente os isolados por meio de técnicas convencionais de fenotipagem e relacionar as cepas bacterianas de reconhecido potencial patogênico. **Metodologia:** trata-se de um estudo descritivo longitudinal da qualidade microbiologia do ar, onde foi utilizado o amostrador de ar por impactação para coleta de 1m³ de ar em meio de cultivo sólido para bactérias em ambientes críticos e não-críticos do hospital. Com o isolamento dessas colônias, foram feitas análises macro e micro morfológicas, sendo ainda identificadas através de provas bioquímicas. **Resultados:** Evidência da presença de microrganismos anemófilos com potencial patogênico no hospital. Em todos os ambientes foram encontrados esses microrganismos, porém a quantidade de Unidades Formadoras de Colônia – UFC/m³ de ar, estavam dentro dos parâmetros estabelecidos pela atual resolução vigente no Brasil, Resolução N^o 09 de 16/01/2003 – ANVISA.

Palavras-chave: Infecções. Microbiota Anemófila. Potencial Patogênico. Parâmetros.

INTRODUÇÃO

Os bioaerossóis, que nada mais são que propágulos de microrganismos presentes no ar, em especial bactérias, têm despertado grande interesse nos últimos tempos, em virtude das possíveis implicações em saúde pública. Já que estão relacionadas às diversas reações como irritações de pele, trato respiratório, rinites, conjuntivites, asma, além de tosse, dores de cabeça, tonteira e mal estar geral (NUNES, 2005).

Tong et al., (2017) destaca que um monitoramento ambiental efetivo está relacionado com o controle das taxas de contaminação do ar.

A análise da qualidade microbiológica do ar se torna um procedimento de suma importância em ambientes críticos. O nível de contaminação pode oscilar conforme o passar do dia, bem como com as alternâncias de estações climáticas e condições temporais momentâneas. Estas mudanças podem variar conforme a localidade, o que demonstra a importância de analisar caso a caso (BOFF, 2011; KHAN; KARUPPAYIL, 2012).

A presença da contaminação bacteriana no ar de ambientes controlados ainda é um fator pouco estudado. Alguns estudos datados da década de 70 sugerem a presença e possível transmissão de *Staphylococcus aureus* e de *Providencia stuartii* pelo ar (WENZEL et al. 1976; HAMBRAEUS, 1973).

Algumas bactérias patogênicas como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococci*, *Acinetobacter spp.* e *Staphylococcus coagulase negativa* tem se demonstrado como causa comum de infecções, podendo chegar a sobreviver por longos períodos de tempo no ambiente hospitalar, além de possuírem potencial de serem resistentes a muitos sanitizantes (SOLOMON et al., 2017).

Gizaw et.al. (2016) aponta uma alta prevalência de cepas de *S. aureus* e *Streptococcus pyogenes* em amostras de ar coletada em um hospital universitário no noroeste da Etiópia. Demonstrando ainda que naquele caso as condições ambientais como umidade e temperatura eram favoráveis à proliferação de microrganismos.

NUNES, (2005) aponta que a maioria dos estudos que buscam identificar fontes de contaminação ambiental, destaca a questão do ar climatizado como um dos fatores mais importantes e que carecem de maiores estudos. Certamente, são necessários maiores investigações e dados publicados na área da biocontaminação ambiental, que ofereçam embasamento técnico e científico para a elaboração de normas ou padrões para o controle da qualidade microbiológica do ar.

METODOLOGIA

Delineamento do estudo: trata-se de um estudo descritivo longitudinal no qual se analisou o grau de biocontaminação de natureza bacteriana do ar em áreas críticas e não críticas de um Hospital Universitário na cidade de Manaus, bem como, as possíveis implicações das cepas isoladas no risco de infecções oportunistas.

Aspectos éticos: no estudo não houve abordagem de pacientes ou de qualquer outro indivíduo, bem como coleta e processamento de amostras biológicas oriundas de pacientes, não havendo, portanto, necessidade da aplicação do termo de consentimento livre esclarecido (TCLE).

Análise termo higrométrica: a aferição da temperatura ambiental bem como da umidade relativa do ar foi realizada com termo higrômetro portátil de marca Incoterm® conforme especificações do fabricante.

Amostragem de ar por impactação: visando realizar uma análise quantitativa foi utilizado a técnica de impactação de ar com acelerador linear em meio sólido por meio de aparelho MAS-100 MERCK®, utilizando-se placas de Petri descartáveis com meio de cultura Agar sangue. As placas foram posicionadas em locais estratégicos do ambiente analisado, a 1,5m de distância do chão, e o tempo de exposição seguiu as orientações do fabricante para que fosse possível analisar 1m³ de ar (BRASIL, 2003; ISO 14698-1, 2003).

Isolamento primário: ao analisar diariamente o crescimento das UFC, realizou-se o estudo da macro morfologia e da micro morfologia das colônias, além de lâminas de fragmento de colônia coradas com gram.

Provas bioquímicas: após análise micro morfológica e identificação de bactérias gram negativas, ficou inviável saber qual gênero seria. Portanto, as colônias de bactérias gram negativas foram submetidas a provas bioquímicas de fermentação e oxidação, a fim de detectar a qual gênero as mesmas pertenciam.

RESULTADOS

Padrões de Referência

Foram realizadas coletas de bactérias anemófilas em 8 pavilhões do HUGV, incluindo ambientes críticos e não críticos, nas quais foram avaliados 48 pontos de coleta. Para a realização das coletas foi utilizado o amostrador de ar por impactação com acelerador linear de 1 estágio MAS-100 - MERCK®, para coleta de 1m³ de ar em meio de cultivo sólido Agar sangue. Para a análise das condições de temperatura e da umidade relativa do ar utilizou-se termo-higrômetro digital Incoterm.

Na tabela abaixo são demonstrados os padrões de referência de UFC/m³ de ar para microrganismos, bem como os valores de temperatura e umidade em ambientes interiores em geral, e a classificação de risco, de acordo com a Resolução Nº 09 de 16/01/2003 – ANVISA, e a Consulta Pública nº 109 de 11/12/2003 – ANVISA.

Tabela 01: Valores de análises feitas relacionados com os padrões de referência.

Microrganismo	Unidade	Padrão de Referência	
		RE Nº 09 de 16/01/2003	C.P. nº 109 de 11/12/2003
Microrganismos viáveis	UFC/m ³ de ar	≤750 UFC/m ³	Relação I/E ≤ 1,5 Nível 0 ≤ 750 UFC/m ³ Nível 1 = 500 UFC/m ³ Nível 2 = 200 UFC/m ³ Nível 3 = 50 UFC/m ³
Temperatura	° C	23 - 26°C	
Umidade Relativa	%	40 – 65 %	

UFC: Unidade Formadora de Colônia

I/E: relação entre a contagem de UFC do ar Interno pelo ar Externo.

Análise Microbiológica da Coleta.

A coleta se deu no mês de julho/2018. De um total de 48 pontos de coleta analisados foram obtidas 3.178 UFC/m³. A tabela 3 demonstra o número de placas utilizadas para as coletas em cada pavilhão do Hospital (onde cada placa representa um ponto de coleta); a média obtida de UFC/m³, bem como os resultados gerais obtidos da análise quantitativa considerando a relação I/E, e a classificação de risco.

Tabela 2: Análise de UFC/m³ de bactérias.

ANDAR	Nº PLACAS	MÉDIA UFC/m ³	RELAÇÃO I/E	Classificação de Risco	Análise de Classificação de risco
Externo	3	232	-	0	-
1º	4	312	1.3	2	Acordo
2º	8	444	1.9	3	Desacordo
3º	3	160	0.6	1	Acordo
4º	6	408	1.7	1	Desacordo
5º	6	600	2.5	2	Desacordo
6º	6	486	2.1	2	Desacordo
7º	6	384	1.6	2	Desacordo
8º	6	384	1.6	0	Acordo

Análise Termo-Higrométrica

Na tabela 3 estão demonstrados os valores médios de temperatura e umidade obtidos nas aferições realizadas no momento da coleta.

Tabela 3: Análise Termo-Higrométrica.

ANDAR	TEMPERATURA MÉDIA	UMIDADE RELATIVA MÉDIA
Externo	27,5°C	77%
1º	23,1°C	65%
2º	23°C	63%
3º	22,1°C	72%
4º	22,7°C	77%
5º	23°C	68%
6º	24°C	65%
7º	23,4°C	63%
8º	23°C	65

As médias das umidades se mantiveram dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação, porém a temperatura esteve algumas vezes maior ou muito próxima do limite. Isso é explicado pela época do ano na cidade, onde no mês de julho é verão com temperaturas bem altas. Temperatura e umidade são fatores importantes que favorece a proliferação de bactérias em geral e que merece especial atenção no sentido de se implementar medidas corretivas eficientes, principalmente quando se trata de ambiente hospitalar, como enfermarias, centros cirúrgicos, UTI, etc.

Ao comparar com valores de temperatura recomendados pela CP nº109 da ANVISA (BRASIL, 2003), qual preconiza que o limite superior seja estipulado em 24° C, verificou-se que, a maioria dos ambientes analisados na coleta, estavam fora dos padrões recomendados no momento das coletas.

Identificação Microbiológica da Coleta.

Em relação às análises qualitativas dos tipos de bactérias encontradas, uma análise dos gêneros bacterianos recuperados neste estudo aponta para a prevalência do gênero *Micrococcus spp.*, seguido de *Staphylococcus spp.* e *Klebsiella spp.* (tabela 4).

Tabela 4: Prevalência de espécies de bactérias identificadas.

Gênero	Total de UFC
<i>Micrococcus spp.</i>	1548
<i>Staphylococcus spp.</i>	1356
<i>Klebsiella spp.</i>	78
<i>Enterobacter spp.</i>	67
Sem identificação	28
<i>Escherichia spp.</i>	12
<i>Bacillus spp.</i>	10
<i>Pseudomonas</i>	1

DISCUSSÃO

Alguns estudos citam a *Pseudomonas aeruginosa* como um patógeno comum entre pacientes críticos. Suas cepas multirresistentes são cada vez mais isoladas das colonizações e infecções nas unidades de terapia intensiva (FERRAREZE et al., 2007).

Montimer et al (1960) mostra que a infecção estafilocócica por partículas aéreas em hospitais, têm sido relatadas, principalmente, nos centros cirúrgicos e enfermarias.

Visto o grande número de capas isoladas do gênero *Staphylococcus* (1356 cepas) no hospital, é imprescindível que medidas sejam tomadas para minimizar a prevalência destes no local.

A elucidação dos microrganismos circulantes em ambientes hospitalares é uma questão fundamental para o entendimento da complexa interação entre os mesmos e os pacientes, bem como dos riscos da ocorrência de infecções oportunistas. Esta abordagem é também essencial para a elaboração de medidas de prevenção e controle das infecções hospitalares.

Apesar da relevância do tema, estudos epidemiológicos relativos à contaminação microbiológica do ar de ambientes internos ainda são escassos no Brasil, especialmente na região norte do País, cujo clima tropical quente e úmido, e o alto índice pluviométrico são propícios para a proliferação dos microrganismos contaminantes do ar. Pouco se sabe a respeito dos níveis de biocontaminação em edifícios públicos ou privados, como creches, escolas, estabelecimentos desportivos, empresas e hospitais, nem dos agravos à saúde dos ocupantes destes ambientes em nosso Estado.

CONCLUSÃO

Este estudo permitiu-nos concluir que as medidas de controle do hospital estão muitas vezes em acordo com a resolução vigente no Brasil. Porém alguns pontos do hospital, onde um número considerável de capas foi isolado, merecem atenção, como salas de operação, centros de terapia intensiva e enfermarias, vistos que estes locais abrigam pacientes em condições que os põe em risco de adquirir uma possível infecção hospitalar.

É necessário o monitoramento constante da qualidade microbiológica do ar bem como da proliferação de bactérias em móveis e/ou equipamentos hospitalares, além da adoção de medidas para controlar as elevadas taxas de umidade relativa do ar interno e o controle do fluxo excessivo de pessoas nos setores, pois estes fatores que levam a um aumento das taxas de contaminação do ar.

Os sistemas de refrigeração podem obrigar bactérias que são capazes de sobreviver em ambientes secos por longos períodos, formar biofilmes e desencadear um sistema de transmissão. Os principais microrganismos evidenciados como potencialmente causadores de infecção foram: *Micrococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Escherichia spp.*, *Bacillus spp.*, e *Pseudomonas spp.*

Assim, sugere-se que seja implementada uma política para controle microbiológico da qualidade do ar, visto a importância da adoção de medidas corretivas e preventivas, além de um monitoramento constante.

REFERÊNCIAS

- 1 AFONSO; May Socorro Martinez; TIPPLE; Anaclara Ferreira Veiga; SOUZA; Adenícia Custódia Silva e; PRADO; Marinésia Aparecida do; ANDERS; Patrícia Staciari - 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.
- 2 ANYANWU, E. et al. The neurological significance of abnormal natural killer cell activity in chronic toxigenic mold exposures. **The Scientific World Journal**, v. 3, p. 1128–1137, 2003.
- 3 CAGGIANO, G. et al. Mold contamination in a controlled hospital environment : a 3-year surveillance in southern Italy. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, n. 595, p. 1–5, 2014.
- 4 CREAMER, E. et al. Air and surface contamination patterns of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* on eight acute hospital wards. **Journal of Hospital Infection**, v. 86, n. 3, p. 201–208, 2014.
- 5 EAMES, I. et al. Airborne transmission of disease in hospitals. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 6, p. 697–702, 2009.
- 6 FERRAREZE, M. V. G.; LEOPOLDO, V. C.; ANDRADE, D.; et al. *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente em unidade de cuidados intensivos: desafios que procedem?*. **Acta Paul Enferm**, v. 20, n. 1, p. 7–11, 2007.
- 7 GIZAW, Z.; GEBREHIWOT, M.; YENEW, C. High bacterial load of indoor air in hospital wards: the case of University of Gondar teaching hospital, Northwest Ethiopia. **Multidisciplinary Respiratory Medicine**, v. 11, n. 1, p. 24, 2016.

- 8 MORTIMER, E. A. et al. Role of airborne transmission in staphylococcal infections. **Brit. Med. J.**, I; P. 319-322, 1966.
- 9 NUNES, Z. DAS G. DO AR DE AMBIENTES INTERNOS. In: **Dissertação de Mestrado - FIOCRUZ RJ**. [s.l: s.n.]. p. 1–143.
- 10 Resolução - RE no 9, de 16 de janeiro de 2003. 2003.
- 11 SHIOMORI, T.; MIYAMOTO, H.; MAKISHIMA, K. Significance of Airborne Transmission of Methicillin-Resistant. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg**, v. 127, n. 6, p. 644–648, 2001.
- 12 SOLOMON, F. B. et al. Antibiotic resistant airborne bacteria and their multidrug resistance pattern at University teaching referral Hospital in South Ethiopia. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 16, n. 1, p. 29, 2017.
- 13 TONG, X. et al. High diversity of airborne fungi in the hospital environment as revealed by meta-sequencing- based microbiome analysis. **Nature Publishing Group**, n. November 2016, p. 1–8, 2017.
- 14 WENZEL, R.P. et.al. *Providencia stuartii*, a hospital pathogen: potential factors for its emergence and transmission. **Am. J. Epidemiol.**, v. 104, p. 170-80. 1976.