

Análise microbiológica do ar em ambientes climatizados em uma instituição de ensino superior.

RESUMO: O presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade do ar em 16 salas de aula climatizadas de uma instituição de ensino superior. Desta forma, foram coletadas amostras de partículas no ar, as quais foram utilizadas para cultivar colônias de fungos e bactérias em placas de Petri usando os meios de cultura Ágar Sabouraud e Plate Count Agar (PCA). Foi utilizado o método de sedimentação espontânea deixando as placas abertas por 30 minutos para poder observar se haveria ou não o crescimento de microrganismos naquele ambiente climatizado. Entre as dezesseis salas que foram realizadas a pesquisa, somente doze estavam dentro dos critérios de inclusão. Todas as amostras colhidas mostraram positividade diante dos respectivos microrganismos esperados pelo estudo (bactérias e fungos). O estudo mostrou que com uma higienização adequada à probabilidade de crescimento de fungos e bactérias é bem baixa, por este motivo que em locais climatizados sempre se deve seguir as normas de higienização dos aparelhos de ventilação, para evitar danos aos indivíduos ali presentes.

Palavras-chave: aerossol, ar condicionado, microbiologia do ar.

Microbiological analysis of air in air-conditioned environments in an institution of higher education.

ABSTRACT: The present study aimed to evaluate air quality in 16 air-conditioned classrooms of a higher education institution. In this way, samples of airborne particles were collected, which were used to grow colonies of fungi and bacteria in Petri dishes using Sabouraud agar and Plate Count Agar (PCA). The spontaneous sedimentation method was used, leaving the plates open for 30 minutes in order to observe whether or not there was growth of microorganisms in that air-conditioned environment. Among the sixteen rooms that were surveyed, only twelve were within the inclusion criteria. All collected samples showed positivity to the respective microorganisms expected by the study (bacteria and fungi). The study showed that with adequate hygiene the probability of growth of fungi and bacteria is very low, for this reason that in air-conditioned places should always follow the standards of hygiene of ventilation devices, to avoid damages to the individuals present there.

Keywords: aerosol, air conditioning, air microbiology.

1. INTRODUÇÃO

A climatização artificial de determinados locais é de extrema importância, por questão de bem-estar, conforto, controle e tratamento da pureza do ar. Em regiões de clima quente, se tornou comum a utilização de ar condicionado em ambientes de estudo ou de trabalho. A situação de confinamento e a eliminação de microrganismos patogênicos por indivíduos sintomáticos ou assintomáticos, proporcionando uma propagação de bioaerossóis infectantes, tendo o ar condicionado um papel fundamental nesse processo. É a partir das condições ajustadas de confinamento em ambientes fechados que se tem a instalação de patogenicidade fúngicas e bacterianas. (Mobin & Salmito, 2016).

Dessa maneira, é fundamental que o local esteja enquadrado nas exigências de legislações que digam respeito à qualidade do ar interno, como a portaria de número 3.523, criada em 1998, da Agência Nacional de Vigilância em Saúde (ANVISA). (Cavalcanti, 2015).

Esse sistema de resfriamento pode colaborar para o agravamento ou surgimento de doenças respiratórias caso não seja feita a manutenção necessária. O filtro interno do equipamento detém a função de auxiliar a concentração de micropartículas de fungos, bactérias, mofo e ácaros, contudo é necessário que seja feita uma limpeza correta a cada 3 meses, ao menos, e a troca do filtro uma vez por ano, pois com a utilização do aparelho, este, acumula micropartículas e cada vez seu poder de concentração é diminuído. Desta forma, torna-se perigoso quando o ambiente está fechado e existe uma grande quantidade de pessoas no local.

A Síndrome do Edifício Doente (SED) é definida como uma situação onde os integrantes de um edifício com sistema fechado de refrigeração, apresentam sintomas parecidos, sem origem determinada, mas que geralmente são doenças que são causadas por microrganismos. As enfermidades causadas por bioaerossóis podem causar enfermidades respiratórias e inflamatórias como meningoencefalite, pneumonia e reações alérgicas e podem estar presentes facilmente nestes locais estudados, ficando restritas ao trato respiratório ou podem disseminar-se para várias partes do corpo, sendo capazes de causar infecções generalizadas, dependendo do estado imunológico do paciente. (Sousa & Fortuna, 2011).

Dentre as milhares de doenças que podem ser disseminadas desta forma, podemos citar a Doença dos Legionários, que é causada pela bactéria do gênero *Legionella sp.*, que pode ser transmitida pelo sistema de ar condicionado contaminado, tendo sintomas parecidos aos da gripe comum, e nos casos mais graves, com a pneumonia, podendo levar o paciente a óbito, dependendo da gravidade da doença. Outra doença comum, mas potencialmente perigosa, a tuberculose, é causada pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis* ou bacilo de Koch, transmitida de pessoa para pessoa ou pelo contato prolongado com o ambiente contaminado sem circulação correta do ar. Em meio às doenças fúngicas, destaca-se a blastomicose ou Paracoccidioidomicose, tendo como agente etiológico, *Blastomyces dermatitidis*. A doença se instala pela inalação dos esporos, causando infecção grave nos pulmões, podendo disseminar-se pelo corpo, e afetar as mucosas, principalmente oral, faringe e laringe (Toledo, et al 2011).

As principais bactérias encontradas são bacilos gram positivos esporulados e não esporulados, bacilos gram negativos e cocos gram positivos. Já os fungos, os mais encontrados são: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* e entre outros (Godoy, 2017).

Desta forma, houve a preocupação a respeito da limpeza do sistema de resfriamento de salas de aula, e quais microrganismos poderiam estar presentes e se seriam patogênicos ou não. Sabe-se que este tipo de local fechado é propício a proliferação de fungos, vírus e bactérias, que causam doenças respiratórias e alergias, devido à quantidade de alunos, o local ser fechado e o aparelho passar a maior parte do dia ligado.

O presente estudo visa analisar o perfil microbiológico do ar de salas de aula climatizadas em uma instituição de ensino superior e a ocorrência de possíveis microrganismos potencialmente patogênicos a saúde desses indivíduos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Tratou-se de um estudo laboratorial (experimental) que ocorreu de Fevereiro de 2018 a Junho de 2018, sendo a coleta realizada em salas climatizadas do Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA), situado no Agreste Central Pernambucano, no município de Caruaru. Para a seleção das salas utilizou-se os seguintes critérios: salas de aula com climatização artificial no qual houvesse presencialmente alunos e docentes em período letivo e o funcionamento dos equipamentos de climatização durante o momento da coleta; excluindo apenas as salas recém-higienizadas. Por meio desses critérios de aquiescência, foram selecionados dezesseis salas na ala de saúde da instituição ASCES-UNITA, no turno da manhã. As amostras obtidas foram colhidas tanto nos períodos chuvosos, correspondentes aos meses (Fevereiro, Março e Junho), quanto nos períodos de estiagem geralmente nos meses (Abril e Maio).

2.1. Amostras

Para a coleta do ar utilizou-se o método de sedimentação espontânea. De acordo com a Norma Técnica 001 da Resolução nº 176, em cada uma das dezesseis salas foi colocado a mesma base de madeira de 1,50m de altura, no centro da sala, contendo duas placas de petri de 9mm abertas com os meios de cultura *Plate Count Agar* (PCA) e Sabouraud (por sala), no qual ficaram expostas durante 30 minutos, tempo este, suficiente para que houvesse a sedimentação dos microrganismos de interesse. Após o tempo de exposição, as placas foram recolhidas e envolvidas com papel filme, para evitar contaminação e em seguida, encaminhadas para o Laboratório de Análise de Água, Bromatologia e Microbiologia do Centro Universitário Tabosa de Almeida – ASCES/UNITA, localizado no mesmo edifício.

2.1.1. Análise bacteriológica

Foram coletadas duas placas em cada uma das salas climatizadas que estavam dentro dos critérios de inclusão, utilizando o meio de cultura PCA, para análise bacteriológica. As placas de coleta foram identificadas quanto ao tipo de amostra, origem, data e hora e, em seguida, transportadas Laboratório Escola da ASCES-UNITA. Foi preenchida uma ficha de registro de coleta contendo informações de procedência, número da amostra, data e horário da coleta. Nas placas contendo o meio PCA, foram incubadas em estufa por 24-h, em uma temperatura de 37°C. Subsequente à contagem das colônias bacterianas com o auxílio do contador de colônias e os respectivos resultados anotados e anexados a ficha de registro.

2.1.2. Análise fúngica

Além das amostras direcionadas a análise bacteriológica, foram coletadas amostras para análise fúngica. Nas placas contendo o meio Sabouraud (utilizadas para o crescimento fúngico), foram identificadas quanto ao tipo de amostra, origem, data e hora e, após a coleta por sedimentação espontânea, foram transportadas para o Laboratório de microbiologia da instituição de ensino ASCES-UNITA e deixadas à temperatura ambiente dentro de um armário apropriado para este fim, durante sete dias, tempo este, destinado para crescimento

fúngico absoluto. Após o crescimento das colônias, as mesmas passaram por observação de suas características macroscópicas através do contador de colônias e para observação das características microscópicas, utilizou-se um fragmento de cada colônia fúngica com o auxílio de uma pinça platinada, adequadamente flambada, para evitar ao máximo contaminação cruzada, para a construção das lâminas, associado com a aplicação de duas gotas do corante de Azul de Metileno para melhor visualização das estruturas fúngicas como hifas e conídios por meio do microscópio óptico.

2.1.3. Análises dos dados

As análises dos dados foram conduzidas utilizando o software excel (v. 14.07) como suporte. Desta forma, foi aplicada uma análise descritiva para obtenção do percentual de positividade das amostras para a quantificação das cepas bacterianas, bem como a identificação e quantificação fúngica.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre as dezesseis salas com capacidade em média para cinquenta alunos, apenas doze salas estavam dentro dos critérios de inclusão. Todas as amostras colhidas revelaram positividade diante dos respectivos microrganismos esperados pelo estudo (bactérias e fungos). A legislação brasileira (Brasil, 2000) mediante a Resolução 176 da ANVISA, de 2000, estabelece limites microbiológicos, com valor máximo recomendado de contaminação microbiológica do ar ≤ 500 UFC m^{-3} para bactérias e ≤ 750 UFC m^{-3} para fungos, a mesma observa apenas a quantificação dos microrganismos e não sua identificação. Desta maneira, todas as amostras apresentaram contagens de UFC m^{-3} equivalente ao que é permitido pela legislação brasileira (Tabela 1).

Na Tabela 1 estão distribuídos os resultados relativos às determinações das UFC (Unidades Formadoras de Colônia) de bactérias e fungos por m^3 .

Tabela 1. Resultados de análises das amostras do ar em salas climatizadas da instituição de ensino superior ASCES-UNITA.

Salas	Análise Bacteriana*	Análise Fúngica*
A c	20	4
B c	10	3
C c	-	-
D c	15	2
E c	25	5
F c	100	6
G c	15	3
H c	12	2
I c	10	3
J e	-	-
L e	23	4
K e	17	2
M e	52	6
N e	-	-
O e	-	-
P e	13	4

Nota: *A Resolução 176 da ANVISA, de 2000 estabelece como limites aceitáveis para contaminação ≤ 500 UFC m^{-3} para bactérias e ≤ 750 UFC m^{-3} para fungos. *Nas análises bacterianas e fúngicas, o resultado é expresso em UFC m^{-3} (Unidades Formadoras de Colônia), c - Período chuvoso, e - Período de estiagem.

Fungos e bactérias propagam-se facilmente através do ar, e desta forma, ambientes onde não há a renovação do ar respirado contaminam-se facilmente, gerando um acúmulo de poluentes, que não podem ser dispersos, contribuindo para a disseminação de doenças, é desta forma, surge a Síndrome do Edifício doente (SED). (Ribeiro, 2004).

Nestes locais, onde se faz necessário o uso de climatizadores, os microrganismos são os principais causadores de doenças respiratórias e alergias. Estes utilizam o ar como meio de propagação e de um modo geral, a microbiota é constituída por vírus, bactérias e fungos, que causam doenças que podem ficar restritas ao trato respiratório como asma, aspergilose e pneumonia, ou disseminar-se para várias partes do corpo, podendo até causar infecções generalizadas, dependendo do estado imunológico do paciente. (Chaves, 2016).

A Resolução-RE nº 176, de 24 de outubro de 2000, da ANVISA, do Ministério da Saúde visa em estabelecer critérios e metodologias de análise para avaliar de uso público e coletivo do ar interior em ambientes climatizados artificialmente e relaciona os principais poluentes químicas e biológicas (Quadros *et al*, 2009).

Observa-se também, de acordo com a **Tabela 1**, a relação quantitativa entre o crescimento fúngico e bacteriano, no qual se observa um aumento considerável do número de colônias bacterianas em comparação às fúngicas, isso se dar em virtude, a facilidade proliferativa em um curto intervalo de tempo, característica esta equivalente às bactérias.

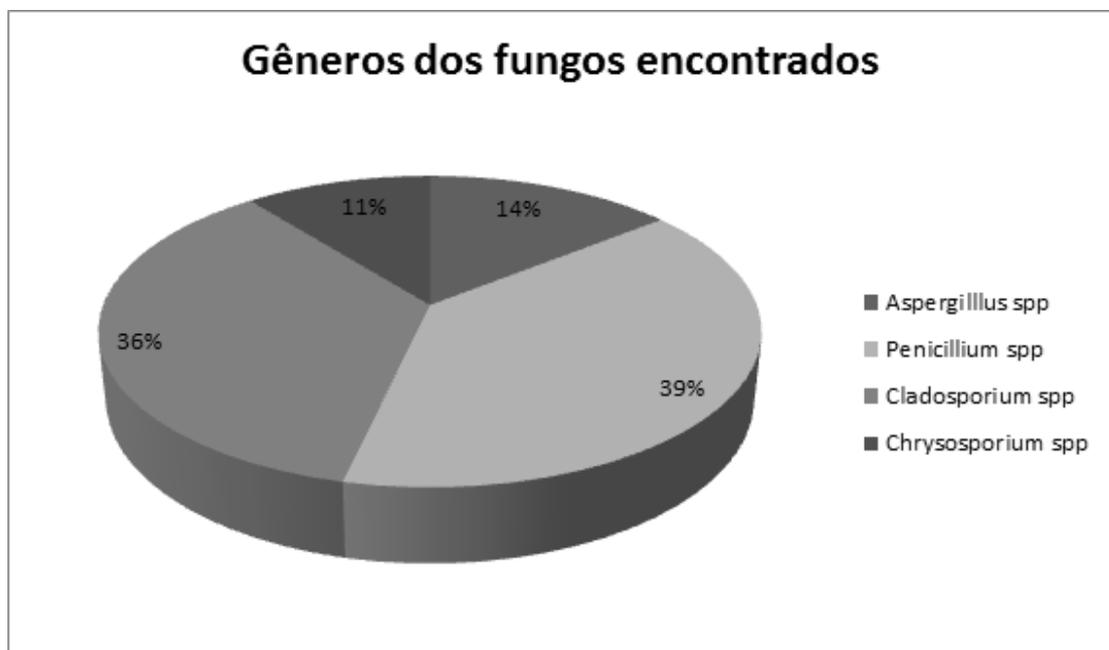


Figura 1: Frequência dos gêneros dos fungos encontrados nas salas climatizadas.

De acordo com a **Figura 1**, os gêneros com maior percentual encontrado são: *Penicillium spp* e *Cladosporium spp*, seguidos dos gêneros *Aspergillus spp* e *Chrysosporium spp*. Observou-se que em todas as placas coletadas foram positivadas para o crescimento fúngico. Os resultados encontrados, como o isolamento do gênero *Aspergillus spp*, são

preocupantes, mesmo em baixa incidência, pois esse é o gênero que apresenta a maior patogenicidade dentre os isolados.

Os laboratórios de ensino nas universidades brasileiras são locais onde geralmente realizam atividades de ensino, pesquisa e extensão de forma isolada ou em conjunto. Dessa forma, no mesmo espaço, convivem pessoas, equipamentos, reagentes, soluções, agentes e amostras biológicas e os resíduos gerados nessas atividades. Dentro deste contexto, pode haver a exposição das pessoas que neles trabalham, estudam e transitam pelos diferentes riscos, sejam eles: biológicos, químicos, físicos, ergonômicos e de acidentes. Estudantes universitários passam boa parte do dia em salas de aulas fechadas, e com climatização artificial. O ar respirado pode estar potencialmente poluído, devido a grande quantidade de partículas carreadoras principalmente de vírus, bactérias, actinomicetos, protozoários de vida livre e fungos são chamados de bioaerossóis, que oferecem grande risco para a saúde de todos que estão no local, tendo grande potencial de causar doenças respiratórias graves. (Sangioni, 2013).

Por estes motivos o trabalho foi direcionado apenas nas salas da ala de saúde da faculdade, destacando-se a importância da análise microbiológica do ar semestralmente, para identificar quais bactérias e quais fungos estão presentes no local estudado, e se sua quantidade compromete a saúde dos integrantes do local.

Dos gêneros fúngicos encontrados, o mais perigoso é o *Aspergillus spp*, uma vez que é considerado como um agente oportunista, perigoso, que possui a capacidade de penetrar facilmente no sistema respiratório, causando aspergilose, e este quadro se apresenta nas formas de infecção, intoxicação, e alergias, para pessoas suscetíveis e imunodeprimidas. Outro gênero encontrado, e potencialmente patogênico, é o *Penicillium spp*, que pode causar a peniciliose, doença com sintomas parecidos com os da aspergilose, e desta forma, o aparecimento deste fungo é tão preocupante quanto do *Aspergillus*. O *Chrysosporium* é um fungo filamentosos hialino, e ocasionalmente é isolado em raspados de pele ou de unhas, causando infecções ungueais, mas possui potencial para causar infecções sistêmicas. Já o *Cladosporium spp*, é um fungo encontrado facilmente, e pode ser considerado contaminante, entretanto, para pessoas suscetíveis é bastante perigoso, pois algumas uma vez que algumas espécies possuem afinidade pelo sistema nervoso central. (Mageste, 2012.)

Os resultados encontrados nesta pesquisa, em geral, são concordantes com os de outros estudos, no que diz respeito aos gêneros encontrados. O estudo confirma ainda a importância da higienização dos equipamentos de climatização utilizados em locais fechados, para a colaboração da qualidade do ar interno, inspirado pelos seus usuários.

4. CONCLUSÃO

Em todas as salas analisadas as contagens foram inferiores ao valor máximo estabelecido pelos órgãos fiscalizadores, tendo em média, dezesseis unidades formadoras de colônias bacterianas, e uma colônia fúngica por sala de aula analisada. As colônias fúngicas analisadas são consideradas antropofílicas, ou seja, podem ser encontrados em qualquer ambiente e causam doenças em humanos, dependendo do seu estado imunológico.

Consoante a Resolução 9 da ANVISA, de 2003, algumas das principais medidas que podem ser tomadas para a correção dos ambientes internos analisados são: para fungos,

higienizar corretamente os ambientes e todos os componentes do sistema de climatização, corrigir a umidade ambiental através do controle de vazamentos e infiltrações. Para bactérias, eliminar as possíveis infiltrações, higienizar as superfícies, reservatórios e bandejas de condensado. De um modo geral, deve-se sempre checar todos os filtros, verificar o colarinho de lona dos condicionadores de ar. Semestralmente, é recomendada a análise da microbiológica do ar.

5. REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução 176, de 25 de outubro de 2000. **Determina os padrões referenciais de Qualidade do Ar Interior, em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo.e seu anexo.** Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 25 out. 2000.

CAVALCANTI, A. M.; FILHO, A.M.C. **Indoor air quality analysis an approach based on predictive maintenance and innovation.** Exacta 13(1), 2015.

CHAVES, A. **Análise Microbiológica do Ar.** LBN Análises, 2016. Disponível em<http://www.lbnanalises.com.br/analise-microbiologica-do-ar/> Acesso em: Agosto, 2017.

FERREIRA, M. S.; BORGES, A. S. **Histoplasmose.** Rev. Soc. Bras. Med. Trop. vol.42 no.2 Uberaba Mar./Apr. 2009.

GODOY, D. **Microbiologia do Ar.** SCRIBD, 2013. Disponível em: <https://pt.scribd.com/document/171848255/Os-Microrganismos> [HYPERLINK "https://pt.scribd.com/document/171848255/Os-Microrganismos%26gt"&](https://pt.scribd.com/document/171848255/Os-Microrganismos%26gt) [HYPERLINK "https://pt.scribd.com/document/171848255/Os-Microrganismos%26gt"gt;](https://pt.scribd.com/document/171848255/Os-Microrganismos%26gt) Acesso em: Agosto, 2017.

MAGESTE, J. O. **Estudo da microbiota fúngica anemófila de uma indústria farmacêutica de Juiz de Fora – MG.** Revista científica FACIDER. v. 1, n. 1 (2012)

MOBIN, M., SALMITO, M. A. **Microbiota fúngica dos condicionadores de ar nas unidades de terapia intensiva de Teresina, PI.** Rev. Soc. Bras. Med. Trop. vol.39 no.6 Uberaba Nov./Dec. 2006.

QUADROS, M. E.; LISBOA, H.M.; OLIVEIRA, V. L. **Qualidade do ar em ambientes internos hospitalares: estudo de caso e análise crítica dos padrões atuais.** Eng. Sanit. Ambient. vol.14 no.3 Rio de Janeiro July/Sept. 2009.

Resolução - RE Nº 09, de 16 de janeiro de 2003. **Orientação Técnica revisada contendo Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo.** Diário Oficial da União, Brasília, p. 35-37, Seção 1. 20 jan. 2003.

RIBEIRO, A. F. et al. **Proposta para Avaliação de Sistema de Ar-Condicionado com Foco nas questões de Conforto, Saúde, Segurança e Ambiental.** Universidade Federal Fluminense, 2004.

SANGIONI, L. A. et al. **Princípios de biossegurança aplicados aos laboratórios de ensino universitário de microbiologia e parasitologia.** Cienc. Rural vol.43 no.1. 2013. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext HYPERLINK
["http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782013000100016"&](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782013000100016)
HYPERLINK ["http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782013000100016"](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782013000100016)pid=S0103-84782013000100016.

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, .35, n.2, p.250-263, 2011.

TOLEDO, G.L.; MARZOLA, C.; FILHO, J.L.T. **Blastomicose sul americana – apresentação de caso clínico tratado com associação de inidazóis sistêmico e tópico.** Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac.;52(2):83-88 85. 2011