



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO E
MEIO AMBIENTE



HERMANO ZENAIDE NETO

**QUALIDADE DO AR E CONTROLE MICROBIOLÓGICO EM HOSPITAL NA
PARAÍBA**

JOÃO PESSOA

2020

HERMANO ZENAIDE NETO

**QUALIDADE DO AR E CONTROLE MICROBIOLÓGICO EM HOSPITAL NA
PARAÍBA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Desenvolvimento e Meio Ambiente da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento as exigências para obtenção do título de Mestre em Desenvolvimento e Meio ambiente.

Orientador: José Soares do Nascimento

JOÃO PESSOA

2020

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

Z54q Zenaide Neto, Hermano.
Qualidade do Ar e Controle Microbiológico em Hospital
na Paraíba / Hermano Zenaide Neto. - João Pessoa, 2020.
72 f. : il.

Orientação: José Soares do Nascimento.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN/PRODEMA.

1. Aeromicrobiologia. 2. Controle microbiano. 3.
Anemófilos. 4. Penicillium sp. I. Nascimento, José
Soares do. II. Título.

UFPB/BC

HERMANO ZENAIDE NETO

**QUALIDADE DO AR E CONTROLE MICROBIOLÓGICO EM HOSPITAL NA
PARAÍBA**

Dissertação apresentada ao Programa Regional de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente – PRODEMA – da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Desenvolvimento e Meio Ambiente.

Trabalho Aprovado. João Pessoa, **30** de **Abril** de 2020

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Soares do Nascimento (DFP/CCS/UFPB)
(Orientador)

Prof. Dr. Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes (DB/CBIOTEC/UFPB)
(Examinador 1)

Prof^a. Dr^a. Marília Gabriela Dos Santos Cavalcanti (DFP/CCS/UFPB)
(Examinador 2)

Emitido em 30/04/2020

FOLHA Nº 1/2020 - PRODEMA - MEST (11.01.14.50)
(Nº do Documento: 1)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 08/09/2020 10:10)
JOSE SOARES DO NASCIMENTO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
1086661

(Assinado digitalmente em 11/09/2020 14:40)
MARILIA GABRIELA DOS SANTOS CAVALCANTI
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
1644565

(Assinado digitalmente em 08/09/2020 08:37)
ULRICH VASCONCELOS DA ROCHA GOMES
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
2009494

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufpb.br/documentos/> informando seu número: **1**, ano: **2020**, documento (espécie): **FOLHA**, data de emissão: **08/09/2020** e o código de verificação: **acef421290**

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Maria Goretti Guerra Zenaide, grande exemplo e eterna incentivadora, por tudo que renunciou por mim e meu irmão, a quem eu dedico não somente mais esta conquista, mas toda a minha vida;

À Fernanda Maia de Araújo, com quem eu sempre contei e compartilhei as minhas vitórias e perdas, pela disposição constante em me ajudar, pela paciência e por me apoiar nos desafios que só assumi por saber que eu não estaria sozinho;

À Moreno, meu melhor amigo canino, que me trouxe alegria, esteve ao meu lado até o fim de sua vida e estará pra sempre em minha memória;

À Penha, minha segunda mãe, que garantiu que eu estivesse bem todos os dias pra executar este trabalho; à dona Martha e Paulino, pela disposição em me acolher nos momentos de dificuldade;

À minha avó, Cinira Guerra Zenaide, ao meu irmão, Mário Eugênio Zenaide Cavalcanti, à minha sobrinha, Lara, a meus tios, tias, primos, amigos e amigas, por tudo que representam na minha vida. Obrigado por existirem;

À Arthur Lamounier, pelo apoio fraterno e incentivo acadêmico, sempre me motivando a ir além na investigação científica;

Aos colegas do mestrado que tornaram as aulas, discussões e eventos acadêmicos mais prazerosos e enriquecedores;

À Universidade Federal da Paraíba e aos coordenadores, professores e funcionários do PRODEMA, por contribuírem para a obtenção desta conquista, meus eternos agradecimentos;

Ao Prof. Dr. Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes pelo apoio durante meu estágio docência e por estar sempre à disposição para ajudar;

À Gilmar e todos os funcionários e assistentes do laboratório do Departamento de Fisiologia e Patologia e à Diego pelo auxílio indispensável na coleta das amostras. Sem vocês meus experimentos não teriam dado certo;

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Soares do Nascimento, pela dedicação, empenho, comprometimento, responsabilidade e incentivo. Obrigado pelas sugestões certeiras, por expandir meus horizontes e me acolher durante todo o mestrado.

Este trabalho foi realizado graças ao financiamento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.

Obrigado.

ZENAIDE NETO, Hermano. Qualidade do ar e controle microbiológico em hospital na Paraíba. Dissertação de Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente (PRODEMA). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2020.

RESUMO

Uma quantidade elevada de micro-organismos patogênicos em ambientes refrigerados pode ser um indicador de baixa qualidade do ar, colocando em risco a saúde de pacientes em hospitais. A limpeza dos sistemas de refrigeração deve ser realizada adequadamente e com produtos eficientes, mantendo reduzidos os níveis de infecção hospitalar. Neste trabalho objetivou-se analisar a densidade fúngica dos ambientes internos de um hospital da rede privada, localizado em João Pessoa-PB. Verificou-se também a eficácia do desinfetante utilizado na limpeza dos sistemas de ar condicionado nesses ambientes. Em experimento *in vitro* com o desinfetante Thilex® frente a micro-organismos comuns no ambiente hospitalar, avaliou-se a atividade antimicrobiana, concentração e tempo de ação. Para a análise do ar em locais refrigerados no hospital utilizou-se um impactador de bioaerossol de coleta ativa do tipo Andersen, visando quantificar e caracterizar possíveis patógenos. O teste antimicrobiano indicou que o Thilex® foi eficaz contra os isolados de *Klebsiella* sp., *Escherichia coli* e *Candida albicans*, enquanto *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* sp. e *Aspergillus* sp. apresentaram resistência a 2% e sendo controlados a 20% da concentração do produto em água destilada e tempo de exposição acima de 1 minuto. As amostras de ar do hospital indicaram que 12 das 23 salas estavam com uma densidade fúngica acima do limite aceitável conforme a norma nacional atual, com maior prevalência nas salas de obstetrícia. Os gêneros mais presentes foram *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Monilia* sp. Esses resultados indicam urgência no desenvolvimento de políticas públicas mais efetivas na redução do risco aos pacientes expostos a baixa qualidade do ar nos hospitais.

Palavras-chave: Aeromicrobiologia, Controle microbiano, Anemófilos, *Penicillium* sp.

ZENAIDE NETO, Hermano. Air quality and microbiological control in a hospital in Paraíba. Master's degree in Development and Environment (PRODEMA). Federal University of Paraíba, João Pessoa, 2020.

ABSTRACT

An elevated quantity of pathogenic microorganisms in refrigerated environments can be an indicator of poor air quality, putting patients' health in hospitals at risk. The sanitation of the refrigeration systems must be carried out efficiently and with efficient products, capable of maintaining reduced levels of hospital infection. In this work, we aim to analyze the fungal density of the internal environments of a private hospital, located in João Pessoa-PB. The effectiveness of the disinfectant used to clean air conditioning systems in these environments was also verified. In an *in vitro* experiment with Thilex® disinfectant against common microorganisms in the hospital environment, antimicrobial activity, concentration and time of action were evaluated. For the analysis of the air in refrigerated places in the hospital, an active bio-aerosol impactor of the Andersen type was used, to quantify and characterize possible pathogens. The antimicrobial test indicated that Thilex® was effective against *Klebsiella* sp., *Escherichia coli* and *Candida albicans*, while *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* sp. and *Aspergillus* sp. presented resistance at the concentration of 2%, being controlled to 20% of the product in distilled water and exposure time above 1 minute. The hospital's air samples indicated that 12 of the 23 rooms had a fungal density above the acceptable limit according to the current national standard, with a higher prevalence in obstetrics rooms. The most common genera were *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. and *Monilia* sp. These results indicate urgency in the development of more effective public policies in reducing the risk to patients exposed to low air quality in hospitals.

Keywords— Aeromicrobiology, Microbial control, Anemophiles, *Penicillium* sp.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Trato respiratório humano.	34
Figura 2. Kit impactador bioaerossol CF-6.	34
Figura 3. Ilustração do impactador de ar	35
Figura 4. Análise morfológica dos fungos no microscópio, com placas preparadas através da técnica de microcultivo.	386
Figura 5. Crescimento das bactérias após tratadas em diferentes concentrações do produto Thilex®.....	388
Figura 6. Crescimento dos fungos após tratados em diferentes concentrações do produto Thilex®.....	39
Figura 7. Crescimento das bactérias após tratadas em diferentes tempos de ação do produto Thilex®.....	39
Figura 8. Crescimento dos fungos após tratados em diferentes tempos de ação do produto Thilex®.....	40
Figura 9. Valores da razão I/E entre os locais das amostras no hospital privado em João Pessoa-PB.	42
Figura 10. Identificação das estruturas de reprodução nos fungos encontrados no hospital.	43
Figura 11. Diversidade fúngica em várias salas analisadas de um hospital privado em João Pessoa-PB.	44
Figura 12. Percentual médio da diversidade fúngica nas salas do interior de hospital privado em João Pessoa-PB.	48
Figura 13. Concentração média de dióxido de carbono da primeira coleta nas salas do interior de hospital privado em João Pessoa-PB.	49
Figura 14. Concentração média de dióxido de carbono da segunda coleta nas salas do interior de hospital privado em João Pessoa-PB.	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Informações sobre a solução de limpeza empregada no estudo....	30
Tabela 2. Quantificação de fungos no ambiente hospitalar: Relação do ar interno e ar externo e classificação do ambiente quanto à quantidade dos fungos.	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BHI Brain Heart Infusion Agar

CPA Aspergilose pulmonar crônica

ASHRAE Sociedade Americana de Engenheiros de Aquecimento, Refrigeração e Ar Condicionado

ETEC *Escherichia coli* enterotoxigênica

HA-MRSA *Staphylococcus aureus* resistente à metilina adquirida em hospital

HEPA High Efficiency Particulate Air

HCFC Clorodifluorometano

HIV Vírus da imunodeficiência humana

HVAC Sistema de aquecimento, ventilação e refrigeração de ar

IRAs Infecções relacionadas a ambientes hospitalares

MRSA *Staphylococcus aureus* resistente à metilina

NHMRC Conselho Nacional Australiano de Pesquisa Médica e de Saúde

OMS Organização Mundial da Saúde

SHU Síndrome hemolítico-urêmica

STEC *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga

UFC Unidades formadoras de colônias

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	OBJETIVOS	15
1.1.1	Objetivo geral	15
1.1.2	Objetivos específicos	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	CONDIÇÕES PARA DISPERSÃO MICROBIANA EM AMBIENTES INTERNOS	16
2.2	RESERVATÓRIO MICROBIANO EM SISTEMAS DE AR CONDICIONADO	19
2.3	ANEMÓFILOS E OS RISCOS À SAÚDE HUMANA	20
2.4	PRINCIPAIS AGENTES MICROBIANOS RELACIONADOS AO AMBIENTE HOSPITALAR	22
2.4.1	<i>Escherichia coli</i>	22
2.4.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	23
2.4.3	<i>Bacillus sp.</i>	24
2.4.4	<i>Klebsiella sp.</i>	25
2.4.5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26
2.4.6	<i>Candida albicans</i>	27
2.4.7	<i>Aspergillus sp.</i>	28
2.4.8	<i>Penicillium sp.</i>	28
2.5	CONTROLE DE PATÓGENOS MICROBIANOS	29
3	MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1	LOCAL DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO	31
3.2	MICRO-ORGANISMOS UTILIZADOS	31
3.3	TESTE DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA <i>IN VITRO</i> , CONCENTRAÇÃO E TEMPO DE AÇÃO DO SANITIZANTE TESTADO	31
3.4	CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO	33
3.5	AMOSTRAGEM MICROBIANA	33
3.6	OBTENÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO	35
3.7	IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE MICROBIANA	36
4	RESULTADOS	38
4.1	TESTE DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA <i>IN VITRO</i>	38
4.2	COLETA DE AMOSTRAS DO AMBIENTE HOSPITALAR	40
4.2.1	População de fungos	40
4.2.2	Identificação dos fungos isolados em hospital privado em João Pessoa-PB	42
4.2.3	Concentração de dióxido de carbono nos ambientes internos	48

5	DISCUSSÃO	51
5.1	TESTES <i>IN VITRO</i>	51
5.2	QUANTIFICAÇÃO FÚNGICA NO HOSPITAL.....	52
6	CONCLUSÃO	59
7	REFERÊNCIAS.....	60
APÊNDICE A		

1 INTRODUÇÃO

Desde o século XX, indústrias, residências e hospitais adotaram o uso de aparelhos de ar condicionado para deixar ambientes internos a uma temperatura confortável para as pessoas (AFONSO, 2004). Nos centros urbanos, as pessoas gastam cerca de 90% do seu tempo em ambientes aclimatados por sistemas de refrigeração de ar (HORVE et al., 2019). Espera-se que, com o aumento das ondas de calor em todo o mundo, a demanda do uso de aparelhos de ar-condicionado a longo prazo possa aumentar ainda mais (ZUO et al., 2015).

Esses sistemas fornecem um ambiente ideal para o crescimento de microorganismos potencialmente patogênicos, tais como fungos e bactérias, devido às taxas altas de umidade e acúmulo de impureza nos aparelhos (HATAYAMA; OIKAWA; ITO, 2018). No entanto, a diversidade de bactérias e fungos residentes em filtros de ar condicionado e seus possíveis riscos à saúde associados a pacientes hospitalizados não é completamente conhecida (ACERBI et al., 2017).

Os aparelhos de sistema *split* são os mais utilizados em centros de saúde no Brasil, devido ao seu baixo custo, sua popularidade e fácil manutenção (MARANGONI et al., 2015). Entretanto, quando se negligencia a limpeza constante dos filtros usados no equipamento, há um favorecimento ao crescimento de colônias microbianas. Como esses sistemas operam em alta pressão interna, bactérias e fungos podem ser pulverizados no ar e por isso deve-se considerar o uso adequado de técnicas de limpeza e a substituição desses aparelhos quando necessário (KHARE; MARR, 2014).

Estudos ambientais recentes indicam que, desde a década de 1970, a taxa de renovação do ar tem diminuído (AFONSO, 2004). Esse cenário leva a um aumento da evaporação da água e, a partir daí, à redução da umidade do ar e ao surgimento de lesões nas vias aéreas que contribuem para a transmissão de agentes infecciosos em ambientes hospitalares, onde o ar é refrigerado por esses aparelhos. Com essa informação bem estabelecida na comunidade acadêmica, centros hospitalares e instituições de saúde em todo o mundo buscam integrar e manter protocolos de biossegurança que regulam a qualidade do ar de salas onde pacientes com vários problemas de saúde estão hospedados. Essa preocupação também se estende aos

próprios funcionários do hospital que manipulam instrumentos e interagem com os pacientes rotineiramente (AFONSO, 2004).

As normas e regulamentos de controle de qualidade do ar já estão estabelecidas por agências internacionais, as quais indicam padrões para a maioria dos países em desenvolvimento. Exemplos dessas agências são a Sociedade Americana de Engenheiros de Aquecimento, Refrigeração e Ar Condicionado (ASHRAE), Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Conselho Nacional Australiano de Pesquisa Médica e de Saúde (NHMRC). Esses países têm uma política regulatória clara para mitigar os riscos e garantir que todas as medidas de biossegurança sejam tomadas (ABDUL-WAHAB et al., 2015).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) é responsável por regular o uso adequado dos aparelhos de ar-condicionado. De acordo com a Resolução 9 de 2003 do Ministério da Saúde,

Todos os sistemas de ar condicionado devem estar em condições adequadas para limpeza, manutenção, operação e controle, visando à prevenção de riscos à saúde ocupacional para manter limpo o sistema de HVAC (aquecimento, ventilação e ar condicionado), como bandejas, bobinas, umidificadores, ventiladores e dutos, para evitar a disseminação ou multiplicação de agentes nocivos à saúde humana e para manter a boa qualidade do ar interno. (ANVISA, 2003)

Protocolos afirmam que deve haver uma limpeza dos aparelhos de ar condicionado utilizados em hospitais em um intervalo de 7-15 dias ou duas vezes ao mês, utilizando um produto saneante com ação antimicrobiana (APARECIDA, 2011; BRENIER-PINCHART, 2009). Também é determinado que em ambientes aclimatados, a temperatura deve variar de 23°C a 26°C no verão e 20°C a 22°C no inverno, com umidade variando de 40% a 65% (ANVISA, 2003).

É de grande interesse à saúde pública minimizar o risco das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS), especialmente as provenientes de quartos de internação e de salas de cirurgia. Recomenda-se que o reservatório microbiano de ar seja quantificado através da análise de amostras, para que com possíveis medidas preventivas, melhore-se a qualidade de vida de pacientes internalizados.

Duas hipóteses foram apresentadas nesse trabalho dissertativo. A primeira delas é que o desinfetante utilizado na desinfecção dos aparelhos de ar condicionado do ambiente hospitalar não seja eficiente para controlar os micro-organismos comuns. A segunda, que a quantidade desses micro-organismos patogênicos no ar esteja além da determinada pela Resolução 9 de 2003 e apresenta um risco a saúde de pacientes imunocomprometidos em ambientes hospitalares.

A dissertação foi dividida em duas etapas: 1) Análise do teste antimicrobiano *in vitro* utilizando o produto saneante frente aos micro-organismos mais comumente detectados no ambiente hospitalar para verificar o efeito antimicrobiano; e 2) Coleta de amostras e quantificação dos micro-organismos potencialmente patogênicos presentes no ar do interior do hospital para comparar com a legislação vigente.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Analisar os riscos de contaminação microbiana do ambiente hospitalar, verificando o efeito antimicrobiano do produto saneante utilizado nos aparelhos de ar condicionado frente a diferentes patógenos veiculados pelo ar e avaliar a população e diversidade de fungos no ar em um hospital privado na cidade de João Pessoa-PB.

1.1.2 Objetivos específicos

- Realizar teste antimicrobiano *in vitro* do produto saneante frente às bactérias e fungos selecionados mais frequentes no ambiente hospitalar, de acordo com a literatura;
- Determinar, *in vitro*, o tempo de ação mais seguro para o uso do produto de sanitização dos aparelhos de refrigeração do ar;
- Determinar, *in vitro*, a concentração mais eficaz do produto de sanitização dos aparelhos de refrigeração do ar;
- Mapear os setores mais críticos em relação a micro-organismos anemófilos;
- Isolar, identificar e analisar os micro-organismos coletados nos diversos ambientes;

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Condições para dispersão microbiana em ambientes internos

Aerossóis biológicos (bioaerossóis) são uma subcategoria de partículas liberadas dos ecossistemas terrestres e marinhos na atmosfera. Eles consistem em componentes vivos e não-vivos, incluindo organismos (células bacterianas, fúngicas ou de algas), estruturas de dispersão de organismos (pólen, esporos fúngicos) e subprodutos (tecidos de plantas, fragmentos de fungos e bactérias) (FRÖHLICH-NOWOISKY et al., 2016; BIEBER et al., 2020).

O ambiente artificial, definido como um conjunto de *habitats* ecológicos distintos é um conceito novo, mas cada vez mais aceito. Estudos em áreas urbanas buscam compreender como processos ecológicos básicos, como pressão evolutiva e seleção, podem estabelecer estruturas comunitárias microbianas em ambientes internos e contribuir para a dispersão de bioaerossóis (MEADOW et al., 2014a). Embora tenha ocorrido um grande progresso no campo da Ecologia Microbiana na compreensão dos processos fundamentais *in natura*, o microbioma presente em ambientes internos, os quais apresentam maior interação humana, permanece em grande parte desconhecido e/ou variável (CORSI et al., 2012).

O modo como um edifício foi planejado e construído tem grande influência nos padrões de dispersão microbiana em ambientes fechados (MEADOW et al., 2014b); Os materiais de construção, superfícies; e condições ambientais internas, como luz ultravioleta e visível, umidade, temperatura; e conectividade entre os ambientes internos e externos através de janelas e portas (MEADOW et al., 2014a), todos esses são fatores que podem afetar o crescimento e dispersão de micro-organismos no ambiente urbano e sua persistência. Micro-organismos podem se manter em ambientes fechados por meses (KRAMER et al., 2006), e as condições ambientais internas podem facilitar o crescimento bacteriano e fúngico intermitentemente. Além disso, existem muitos substratos nutritivos, como células escamosas da pele humana dispersas nas superfícies que servem como fonte para crescimento de micro-organismos (NG et al., 2018). Sugere-se também que, no caso de hospitais, os pacientes internados têm maior probabilidade de contrair uma infecção hospitalar se

o ocupante anterior foi diagnosticado com outra infecção, deixando o ambiente previamente contaminado (JOSEPH et al., 2006).

Micro-organismos, principalmente bactérias, podem desenvolver resistência à exposição à luz UVA e UVB. Um estudo recente mostrou que diferentes comprimentos de onda de luz afetam diferentemente a permanência bacteriana em partículas de poeira: a luz visível ou UV reduz o número de bactérias vivas e resulta em uma comunidade bacteriana menos associada a humanos (FAHIMIPOUR et al., 2018). Da mesma forma, as comunidades bacterianas patogênicas de superfícies internas podem apresentar menor taxa de interação humana à medida que se aumenta a quantidade de iluminação nos quartos hospitalares. Em termos de exposição à luz, sugere-se que os esquemas diurnos de iluminação que beneficiam os seres humanos de muitas maneiras também facilitam o controle de populações bacterianas em ambientes fechados (HOBDAÏ; DANCER, 2013), podendo esta ser uma das estratégias mais viáveis para a manutenção de ambientes internos saudáveis.

A temperatura do ar em ambientes internos afeta positiva e negativamente a biodiversidade da comunidade microbiana. Essa correlação provavelmente tem explicações mais complexas, como a relação entre temperatura e umidade relativa e as condições climáticas sazonais ou locais. Já foi reportado que uma mudança na variação de crescimento de comunidades microbianas sendo diretamente correlacionadas com o grau de temperatura interna em edifícios usando ar condicionado (KEMBEL et al., 2012). Como a maioria dos edifícios é mantida em temperaturas favoráveis ao crescimento microbiano, parece menos provável que apenas este fator seja definitivo para o controle microbiano interno, exceto os vírus que são mais sensíveis à temperatura (TANG, 2009).

A termodinâmica do ar cria correntes ascendentes que podem trazer micro-organismos ao trato respiratório humano (KHARE; MARR, 2014). Um gradiente de ar variável dentro de um edifício pode ser necessário para fornecer condições ótimas para reduzir a dispersão e a contaminação de patógenos potenciais no ambiente urbano interno (SPIRU; SIMONA, 2017). A umidade ou danos causados pela água que sustentam os biofilmes são extremamente importantes para o crescimento microbiano, especialmente fungos, bem como a biodeterioração de materiais de construção (XU; LIU, 2018). Da mesma forma, os aquecedores de água abrigam

comunidades bacterianas que podem disseminar bactérias do gênero *Mycobacterium* via aerossolização em torneiras e chuveiros, e *Legionella pneumophila* pode persistir na estrutura de refrigeração de ar e infectar ocupantes de edifícios (KOOL et al., 2014).

A umidade é um dos maiores contribuintes para a permanência microbiana no ar e em superfícies (TANG, 2009). A capacidade das células microbianas ou esporos se tornarem aerossolizadas das superfícies e serem suspensas no ar devido ao tráfego de ocupantes ou perturbação é aumentada pela baixa umidade relativa (FRANKEL; HANSEN; MADSEN, 2014). A baixa umidade relativa do ar de 20 a 30%, aumenta as taxas de infecção por partículas aerossolizadas, bem como a taxa de IRAS (SPIRU; SIMONA, 2017). Isso se deve ao ressecamento das mucosas do hospedeiro, fator que aumenta a susceptibilidade a infecções e o potencial das partículas de aerolizarem-se como gotículas menores, permanecerem mais tempo no ar e percorrerem distâncias maiores. Altos níveis de umidade relativa do ar, superiores a 80%, contribuem para a sobrevivência e manutenção da atividade microbiana na superfície. A umidade baixa está associada ao aumento da irritação da mucosa, do potencial antigênico fúngico e pode facilitar a transferência de micro-organismos de contato direto do ar para o hospedeiro (LOPEZ et al., 2013).

O clima e as estações do ano também possuem influência na dispersão de bioaerossóis (TANG, 2009). As atividades humanas estão resultando em aumentos de gases de efeito estufa na atmosfera, como dióxido de carbono, e mudanças no clima global. Por sua vez, é provável que essas mudanças tenham tido e continuarão a ter impactos na saúde humana. Estudos antigos já alertavam a respeito dos impactos da mudança climática antropogênica sobre aeroalérgenos e doenças alérgicas relacionadas. Esses impactos incluem não só o aumento da quantidade, alergenicidade, estação e distribuição do pólen de plantas como também esporos de fungos, por conta de períodos mais prolongados de inverno em certos locais do globo (BEGGS, 2004).

Métodos baseados em cultura de colônias microbianas subestimam a abundância, diversidade e potencial funcional de destes organismos; a abundância da população bacteriana em ambientes internos demonstram uma forte influência da ocupação humana, deixando traços ambientais. Por exemplo, em edifícios sem histórico de problemas de infiltração, a população de fungos parece originar-se principalmente de

ambientes externos, com atividades humanas influenciando sua dinâmica. Além disso, características de construção, como a textura de superfícies e instalações de ventilação interna, também influenciam a diversidade e a abundância de comunidades microbiológicas encontradas em ambientes fechados (BIBBY; WARING, 2015).

Em ambientes hospitalares, a diversidade de fungos é semelhante, mas a concentração e abundância de conídios está associada ao seu crescimento em materiais de construção, alimentos, painéis, roupas de cama, poeira, tinta etc. Sob condições adequadas de temperatura e umidade, os conídios germinam, crescem e esporulam nesses substratos, constituindo, assim, uma fonte importante de dispersão (MOBIN, 2006).

Na maioria dos estudos realizados sobre os efeitos adversos à saúde humana causado por fungos em ambientes internos e externos, o impactador de partículas viáveis do tipo Andersen de estágio único é o equipamento mais utilizado na detecção de unidades formadoras de colônias (UFC) por metro cúbico de ar, após o qual a identificação dos fungos é realizada por cultura ou por técnicas moleculares (SHAMS-GHAHFAROKHI et al., 2014).

2.2 Reservatório microbiano em sistemas de ar condicionado

Em geral, ar condicionado pode se referir a qualquer forma de tecnologia que modifique o estado físico do ar (aquecimento, resfriamento, umidificação, limpeza ou ventilação). No uso comum, o termo ar condicionado (AC) no Brasil refere-se a sistemas que refrigeram o ar. Na construção, um sistema completo de aquecimento, ventilação e ar condicionado refere-se a HVAC, em oposição a AC (MCDOWALL, 2007).

O funcionamento do ar condicionado depende de um gás refrigerante que circula do interior para o exterior, absorvendo e exalando calor no processo. Os dois fluidos refrigerantes mais usados em condicionadores de ar residenciais são o R-22 e o R-410A, ambos quimicamente conhecidos como clorodifluormetano ou HCFC. Estes compostos alternam-se facilmente entre o estado líquido e gasoso, fazendo com que o gás libere calor rapidamente, gerando o efeito de resfriamento do ar (WANG, 2000).

O sistema tem quatro partes: um evaporador, um compressor, um condensador e um dispositivo de expansão. O evaporador está dentro da habitação, que empurra o

gás para dentro do compressor, adjacente ao condensador, que condensa o gás ao estado líquido enquanto o calor é irradiado para fora, onde uma parte que é revestida de metal dissipa o calor. O líquido resfriado então retorna para dentro, onde o dispositivo de expansão regula o fluxo do gás refrigerante para o evaporador, onde, como antes, ele absorverá o calor e mudará da fase líquida para a gasosa, de baixa pressão. Todo esse processo também desumidifica o ar dentro da sala, retendo toda a umidade dentro do dispositivo (WANG, 2000).

Essa umidade é uma das principais razões pelas quais os micro-organismos podem crescer e se acumular nesses sistemas de resfriamento. Fontes internas de contaminação microbiana incluem pessoas, ventiladores, nebulizadores e umidificadores, pisos, vasos de plantas e certos tipos de alimentos. Quanto às fontes externas, há o solo, água, material orgânico em decomposição, poeira de construções antigas e de edifícios em construção (AFONSO, 2004).

2.3 Anemófilos e os riscos à saúde humana

As infecções por fungos ocupam o terceiro lugar como principal causa de infecção hospitalar e podem ter manifestações clínicas que variam de processos cutâneos limitados a infecções sistêmicas generalizadas (BLATZER, 2017). Os fungos anemófilos são micro-organismos encontrados dispersos no ar atmosférico que podem desencadear processos alérgicos e infecções cruzadas em pacientes imunocomprometidos, constituindo os principais contaminantes do ar em ambientes internos com ar condicionado (CALUMBY et al., 2019).

Fungos anemófilos e a maioria dos bioaerossóis patogênicos podem se dispersar em grandes distâncias pelo ar e permanecerem viáveis, o que aumenta a possibilidade de infecção mesmo sem contato com a fonte (LI et al., 2007). Normas administrativas do hospital protegem os pacientes vulneráveis, mantendo sistemas rigorosos de fluxo de ar e isolando pacientes com doenças infecciosas transmitidas pelo ar em salas que utilizam filtro HEPA na tubulação. Apesar desses controles, IRAS chegam em um número estimado de 4,5 milhões anualmente na Europa, levando à 37,000 mortes e somados 16 milhões de dias adicionais aos pacientes

hospedados no hospital (ZINGG et al., 2015). No Brasil, estima-se que a taxa de infecções hospitalares atinja 14% dos pacientes hospitalizados (ISC-UFBA, 2019).

Pesquisas anteriores indicam que em ambientes internos climatizados, os micro-organismos prevalentes são as bactérias *L. pneumophila*, *Bacillus* sp., *Flavobacterium* sp., *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Actinomyces* sp. *Nocardia* sp. e os fungos *Paracoccidioides* sp., *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. e *Aspergillus* sp. Este último relacionado a surtos hospitalares devido a muitos esporos inalados. Esses surtos ocorrem quase sempre na presença de pacientes com sistema imunológico comprometido, falta de limpeza dos aparelhos refrigeradores e a presença de construção ou reformas ao redor do hospital (AFONSO, 2004). O acúmulo de água em nebulizadores e umidificadores, em geral, são fontes de bactérias e podem dispersar aerossóis no meio ambiente e contaminar os filtros de ar condicionado, que são a principal forma de disseminação microbiana, formando biofilmes e aumentando a transmissão. Esse acúmulo de micro-organismos no ar causa um aumento de 3% nas doenças respiratórias, levando a um aumento na mortalidade hospitalar. *Legionella* sp., que apresenta crescimento favorável nas bandejas de água nos equipamentos, é responsável por graves surtos de pneumonia (HERNÁNDEZ, 2020).

O número de relatos de infecções em centros cirúrgicos tem aumentado nos últimos anos, constituindo um grande problema de saúde no Brasil, principalmente em Unidades de Terapia Intensiva (UTI). Essas infecções aumentam o tempo de internação de pacientes e, conseqüentemente, elevam o custo dos hospitais, também reduzindo a rotatividade dos leitos. A resistência microbiana aos antibióticos é uma das principais causas e pode ser intensificada pela má qualidade do ar (MOURA et al., 2018).

Micro-organismos encontrados em várias superfícies dentro de UTIs neonatais foram observados no trato digestivo de crianças residentes, incluindo a mesma linhagem de *Enterococcus faecalis* no intestino de duas crianças alojadas na mesma enfermaria (BROOKS et al., 2014).

As características superficiais das paredes e dos móveis contribuem para a probabilidade de suspensão ou transferência de micro-organismos, e a complexidade

da comunidade microbiana influencia no potencial de virulência a um hospedeiro (LOPEZ et al., 2013).

A elucidação de padrões de comunidade microbiana requer resolução temporal e espacial da amostragem. A transferência microbiana do ambiente construído para humanos é frequentemente observada em indivíduos cujo a microbiota está em estado de disbiose, como pacientes muito jovens, idosos ou imunocomprometidos.

Pacientes imunocomprometidos são pertencentes a um grupo que pode incluir pessoas com neoplasias hematológicas, submetidos a transplante, com imunodeficiências congênitas e submetidos a terapia medicamentosa imunossupressora (MARTÍNEZ-HERRERA et al., 2016).

2.4 Principais agentes microbianos relacionados ao ambiente hospitalar

A concentração de micro-organismos é um fator importante para indicar o grau de higiene no ambiente hospitalar. Infecções fúngicas sistêmicas são um problema recorrente em pacientes sob cuidados intensivos e são responsáveis por uma proporção crescente de IRAS. Sabe-se que ambientes com ar condicionado, como as salas de cirurgias e as UTIs, atuam como porta de entrada para a existência de fungos anemófilos (BARDAQUIM, 2018).

O reconhecimento dos riscos biológicos presentes no ar do ambiente interno hospitalar é de extrema importância. Abaixo, segue a descrição da relevância clínica dos principais micro-organismos relacionados a infecções hospitalares utilizados nesse estudo.

2.4.1 *Escherichia coli*

Ao todo, são listados mais de cinco patótipos dessa bactéria. Linhagens virulentas de *E. coli* podem causar gastroenterite, infecções do trato urinário, meningite neonatal, colite hemorrágica e doença de Crohn. Sinais e sintomas comuns incluem cólicas abdominais graves, diarreia, colite hemorrágica, vômito e, às vezes, febre. Em casos mais raros, as linhagens virulentas também são responsáveis pela necrose intestinal (morte do tecido) e perfuração, peritonite, mastite, sepse e pneumonia. Crianças muito pequenas são mais suscetíveis a desenvolver doenças graves; no entanto, indivíduos saudáveis de todas as idades correm risco às graves

consequências que podem surgir como resultado da infecção por *E. coli* (HOVDE, 2010; CROXEN et al., 2013).

A linhagem O157:H7, que pertence ao patótipo de *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC), pode desencadear respostas inflamatórias nas células-alvo do intestino, que resultam em diarreia sanguinolenta. Essa toxina causa ainda a destruição prematura dos glóbulos vermelhos, que entopem o sistema de filtragem do corpo, os rins, em alguns casos raros (geralmente em crianças e idosos), causando a síndrome hemolítico-urêmica (SHU), que pode levar à insuficiência renal. Em 25% dos pacientes com SHU, ocorrem complicações do sistema nervoso, que por sua vez causam derrames. Essa tensão causa o acúmulo de líquido, levando a edema ao redor dos pulmões, pernas e braços. Esse aumento no acúmulo de líquidos, especialmente ao redor dos pulmões, impede o funcionamento do coração, causando um aumento na pressão sanguínea (LIM; YOON; HOVDE, 2010).

O patótipo da *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) é a causa mais comum de diarreia do viajante, com até 840 milhões de casos em todo o mundo a cada ano, especialmente nos países em desenvolvimento. A bactéria, normalmente transmitida através de alimentos ou água contaminados, adere ao revestimento intestinal, onde secreta um dos dois tipos de enterotoxinas (STa e STb), levando à diarreia aquosa. A taxa e a gravidade das infecções são maiores entre crianças menores de cinco anos, incluindo 380.000 mortes anualmente (MØLBAK, MEAD, 2002). Patótipos uropatogênicos são responsáveis por 80% das infecções do trato urinário (SIMÕES E SILVA, 2019).

2.4.2 *Staphylococcus aureus*

S. aureus é uma das principais causas de infecções da corrente sanguínea e da pele em grande parte do mundo industrializado. A infecção geralmente está associada a rupturas na pele ou nas membranas mucosas devido a cirurgia, lesão ou uso de dispositivos intravasculares como cateteres, próteses, aparelhos de hemodiálise ou medicamentos injetados. Depois que as bactérias entram na corrente sanguínea, elas podem infectar vários órgãos, causando endocardite infecciosa, artrite séptica e osteomielite (RASMUSSEN et al. 2012), além das doenças toxigênicas clássicas e as piogênicas (produtoras de pus) localizadas. Sem

tratamento com antibióticos, a bacteremia por *S. aureus* tem uma taxa de mortalidade em torno de 80%. Com o tratamento com antibióticos, as taxas de mortalidade variam de 15% a 50%, dependendo da idade e da saúde do paciente, bem como da resistência a antibióticos pelos isolados de *S. aureus* (TONG et al., 2015).

O *S. aureus* é frequentemente encontrado em biofilmes formados em dispositivos médicos implantados no corpo ou no tecido humano. É comumente associado com outro patógeno, *Candida albicans*, formando estruturas multiespécies. Suspeita-se que este último contribua na penetração do *S. aureus* no tecido humano (SCHLECHT et al., 2015). Uma mortalidade mais alta está relacionada a esses biofilmes (ZAGO et al., 2015).

O biofilme de *Staphylococcus* ssp. é a causa predominante de infecções relacionadas a implantes ortopédicos, mas também é encontrado em implantes cardíacos, enxertos vasculares, vários cateteres e implantes cirúrgicos cosméticos. Após a implantação, a superfície desses dispositivos fica revestida com proteínas que fornecem uma superfície rica para fixação bacteriana e formação de biofilme. Depois que o dispositivo é infectado, é necessário removê-lo completamente, pois o biofilme dificulta a ação no tratamento com antibióticos (LUNDOV et al., 2009; PETERS et al., 2010).

Uma infecção por MRSA ou HA-MRSA (*S. aureus* resistente a metilina) é comumente adquirida em hospitais. Geralmente, os infectados por MRSA permanecem com a infecção por menos de 10 dias com tratamento adequado, embora os efeitos possam variar de pessoa para pessoa (SGANGA et al., 2016).

Feridas cirúrgicas e não cirúrgicas podem ser infectadas com HA-MRSA. As infecções do sítio cirúrgico ocorrem na superfície da pele, mas podem se espalhar para órgãos internos e sangue causando sepse. A transmissão pode ocorrer entre profissionais de saúde e pacientes, quando alguns profissionais deixam de realizar a antisepsia correta preventiva das mãos entre os exames (TACCONELLI et al., 2008).

2.4.3 *Bacillus* sp.

Duas espécies de *Bacillus* são clinicamente significativas: *B. anthracis*, que causa o carbúnculo; e *B. cereus*, que causa intoxicação alimentar, com sintomas

semelhantes a intoxicação alimentar causada por *Staphylococcus. B. cereus* produz uma toxina emética que pode causar vômitos, náusea e diarreia. (GRIFFITHS; SCHRAFT, 2017)

O antraz ou carbúnculo é principalmente uma doença de herbívoros. Os seres humanos a adquirem como resultado do contato com animais ou produtos derivados de animais infectados. Nos seres humanos, a doença assume uma de três formas, dependendo da via da infecção. O antraz cutâneo, responsável por mais de 95% dos casos em todo o mundo, resulta de infecção por lesões na pele, o antraz intestinal resulta da ingestão de esporos, geralmente na carne infectada, enquanto o antraz pulmonar resulta da inalação de esporos (EHLING-SCHULZ, 2004).

Quando cultivada em biofilme misto com *Staphylococcus* spp., *Bacillus* sp. demonstrou a capacidade de proteger o patógeno da ação de biocidas, permitindo sua persistência no ambiente. Isso mostra a capacidade das bactérias de se adaptarem a um ambiente extremamente hostil em cooperação com outras (BRIDIER et al., 2012).

2.4.4 *Klebsiella* sp.

Rotineiramente encontradas no nariz, boca e trato gastrointestinal humano, também podem se comportar como patógenos humanos oportunistas (TZOUVELEKIS et al., 2013). *Klebsiella* pode causar uma ampla variedade de doenças, principalmente pneumonia, infecções do trato urinário, sepse, meningite, diarreia e infecções de tecido liso (ULLMANN; PODSCHUN, 1998). A maioria das infecções humanas por *Klebsiella* é causada por *K. pneumoniae*, seguido por *K. oxytoca*. As infecções são mais comuns em pessoas muito jovens, idosos e naquelas com outras doenças subjacentes, como câncer, (BODEY et al. 1989) e a maioria das infecções envolve a contaminação de um dispositivo médico invasivo (TZOUVELEKIS et al., 2013).

K. pneumoniae é a causa mais comum de infecções prematuras em terapia intensiva, e a segunda causa mais frequente de bacteremia por Gram-negativas e infecções do trato urinário. Os isolados resistentes a medicamentos continuam sendo presentes em hospitais, contribuindo significativamente para a permanência de pacientes e sendo especialmente problemáticos em áreas médicas de alto impacto,

como UTIs. Sugere-se que essa resistência antimicrobiana seja atribuível principalmente às estruturas de bombas de efluxo das células microbianas (OGAWA et al., 2005). A capacidade de *K. pneumoniae* de colonizar o ambiente hospitalar, incluindo carpetes, pias, flores e várias superfícies, bem como a pele de pacientes e funcionários do hospital, foi identificada como um fator importante na disseminação de infecções adquiridas em hospitais (BODEY et al., 1989; GUPTA, 2002).

Desde 1980, infecções hospitalares causadas por ESBL (*Klebsiella* β -lactamase de espectro estendido) têm aumentado. Pacientes infectados com *Klebsiella* ESBL podem ter um prognóstico ruim devido a atrasos no recebimento de terapia antimicrobiana apropriada e tratamento com opções limitadas. As linhagens ESBLs são resistentes às cefalosporinas de terceira geração, penicilinas de espectro estendido e os monobactâmicos (GUPTA, 2002; MCDANEL et al., 2017).

2.4.5 *Pseudomonas aeruginosa*

Um patógeno hospitalar oportunista de indivíduos imunocomprometidos, *P. aeruginosa* geralmente infecta as vias aéreas, trato urinário, queimaduras e feridas, além de causar outras infecções sistêmicas (BENTZMANN, 2011).

É a causa mais comum de infecções de queimaduras e ouvido (otite externa) e é o colonizador mais frequente de dispositivos médicos, como cateteres. *Pseudomonas aeruginosa* pode colonizar equipamentos que são contaminados e não são adequadamente limpos ou estão nas mãos de profissionais de saúde (KATEEL et al., 2018). Uma em cada dez infecções hospitalares é por *Pseudomonas*. Pacientes com fibrose cística também são predispostos à infecção pulmonar por *P. aeruginosa* devido a uma perda funcional no fluxo de íons cloreto através das membranas celulares como resultado de uma mutação (ENGELHART et al., 2002). Comum em ambientes úmidos, como banheiras de hidromassagem e piscinas, podem causar erupções na pele, ocular ou no ouvido de nadadores (KATEEL et al., 2018).

Pseudomonas também é uma causa comum de infecção pós-operatórias em pacientes submetidos à cirurgia de ceratotomia radial. O organismo também está associado à lesão cutânea ectima gangrenosa. *P. aeruginosa* é frequentemente associada a osteomielite envolvendo ferimentos por punção do pé, que se acredita resultar da inoculação direta com *P. aeruginosa* presentes em calçados

contaminados, com pacientes diabéticos apresentando o maior risco (KATEEL et al., 2018).

2.4.6 *Candida albicans*

O gênero *Candida* pode ser encontrado em vários tipos de ambientes, mas geralmente só compromete indivíduos imunocomprometidos diagnosticados com doenças graves, como HIV e câncer. A *Candida* é classificada como um dos gêneros mais comuns de organismos que causam IRAS, especialmente em pacientes que foram submetidos a cirurgia, transplante ou estão nas UTIs (DEBSKA-ŚLIZIEN et al., 2015). Esses pacientes desenvolvem predominantemente candidíase orofaríngea ou aftas, o que pode levar à desnutrição e interferir na absorção de fármacos (SARDI et al., 2013). A transmissão pode ocorrer desde a infância da mãe para bebê durante o parto, permanecendo esta como comensal (endógena). Infecções adquiridas de pessoa para pessoa que ocorrem mais comumente em ambientes hospitalares, onde pacientes imunocomprometidos adquirem de profissionais de saúde e têm uma taxa de incidência de 40% (DEBSKA-ŚLIZIEN et al., 2015). *Candida* continua a ser o quarto organismo mais comumente isolado em infecções da corrente sanguínea (ZADIK et al., 2010), tendo a candidemia um prognóstico grave. Pessoas saudáveis geralmente sofrem somente infecções superficiais causadas por uma alteração local na imunidade celular, como observado por pacientes com asma que usam corticosteroides orais.

Cerca de 75% das mulheres podem contrair candidíase vulvovaginal (CVV) pelo menos uma vez na vida e cerca de 90% dessas infecções são causadas por *C. albicans*. Também podendo afetar várias outras regiões. Foi relatada uma prevalência mais alta de colonização por *C. albicans* em indivíduos jovens com *piercing* na língua, em comparação com indivíduos sem *piercing* (KUMAMOTO, 2002). Para infectar o tecido do hospedeiro, a forma usual de levedura unicelular de *C. albicans* reage a pressões ambientais e muda para uma forma filamentosa invasiva e multicelular (pseudohifa), um fenômeno chamado dimorfismo, em exceção ao termodimorfismo relativo à temperatura, comum em outros gêneros fúngicos (DONLAN, 2001). Uma infecção por crescimento excessivo é considerada uma superinfecção, termo geralmente aplicado quando uma infecção se torna oportunista e muito resistente aos

antifúngicos. A infecção é prolongada quando a linhagem sensível original é substituída pela linhagem resistente aos quimioterápicos (PETERS et al., 2010).

As infecções fúngicas sistêmicas (fungemias), incluindo as de *C. albicans*, que surgiram como importantes causas de morbimortalidade em pacientes imunocomprometidos (por exemplo, AIDS, quimioterapia contra câncer, transplante de órgãos ou medula óssea). *C. albicans* geralmente forma biofilmes dentro do corpo e nas superfícies de dispositivos ou órgãos médicos implantáveis. Nesses biofilmes, é frequentemente encontrada em conjunto com *Staphylococcus* spp. (WEINBERGER et al., 2005). Quando as células de *Candida* sp. são introduzidas na corrente sanguínea, a mortalidade pode aumentar para 40% a 60% (SARDI et al., 2013).

2.4.7 *Aspergillus* sp.

A maioria dos casos de aspergilose aguda ocorre em pacientes com sistema imunológico gravemente comprometido, ou aqueles submetidos a transplante de medula óssea (BLATZER; LATGÉ, 2017). A colonização ou infecção crônica pode causar complicações em pessoas com doenças respiratórias subjacentes, como tuberculose ou doença pulmonar obstrutiva crônica (SMITH, 2011), asma (DENNING et al., 2014), sarcoidose (DENNING et al., 2013) e fibrose cística (WARRIS et al. 2019). Mais comumente, a aspergilose ocorre na forma de aspergilose pulmonar crônica (CPA), aspergiloma ou aspergilose bronco pulmonar alérgica (ABPA) (ELPHICK; SOUTHERN, 2012).

Os patógenos mais frequentemente identificados são *A. fumigatus* e *A. flavus*, organismos ubíquos capazes de viver sob amplo estresse ambiental. Muitos humanos inalam milhares de esporos de *Aspergillus* diariamente, mas eles não afetam a saúde da maioria das pessoas devido a respostas imunológicas eficazes. Em conjunto, as principais formas crônicas, invasivas e alérgicas da aspergilose são responsáveis por cerca de 600.000 mortes anualmente em todo o mundo (GARCIA-VIDAL et al., 2008; DENNING et al., 2013).

2.4.8 *Penicillium* sp.

O gênero *Penicillium* abrange cerca de 225 espécies diferentes de fungos filamentosos e estão naturalmente presentes no ambiente. Historicamente está pouco associado à patogenicidade em humanos, exceto *Penicillium marneffe*, responsável pela septicemia em hospedeiros imunocomprometidos, que posteriormente teve sua classificação alterada para *Talaromyces marneffe* (HATAKEYAMA et al., 2017). Assim, esse fungo ascomiceto tem sido muito raramente associado na literatura a doenças humanas.

Já foi relatado um único caso de sinusite fúngica maxilar por *Penicillium roqueforti* diagnosticada em uma mulher de 40 anos com o exame anatomopatológico e micológico do conteúdo sinusal mostrando hifas septadas. O sequenciamento direto do conteúdo sinusal revelou *P. roqueforti*. Essa espécie de *Penicillium* é tradicionalmente usada na França, há mais de 200 anos, para o amadurecimento de queijos, sendo associado apenas a uma pneumonite de hipersensibilidade que afeta funcionários de fábricas de queijo azul. É relatado que outras espécies do gênero *Penicillium* causam vários distúrbios, como infecção invasiva, infecção superficial ou doenças alérgicas (RADULESCO et al., 2018). Há também raros relatos de pseudo-surtos, particularmente no cenário de inundações, atribuídos à contaminação de torneiras e ao uso de água da torneira (saneamento) para limpeza (SOOD et al., 2017).

A maior relevância clínica desse gênero está na sua capacidade de desencadear reações alérgicas, principalmente quando em conjunto com *Aspergillus* e *Cladosporium*. Há um estudo indicando uma relação no aumento da venda de medicamentos anti-histamínicos com a morbidade da alergia nasal e asma resultantes da exposição a esporos de desses gêneros fúngicos (CAILLAUD et al., 2018).

2.5 Controle de patógenos microbianos

O controle de comunidades microbianas internas geralmente envolve a remoção da biomassa microbiana por meio de agentes físicos e químicos. Novos padrões de prevenção de infecção foram integrados aos projetos arquitetônicos e procedimentos clínicos das unidades de saúde (SERVICES, 2004). Filtragem mecânica, desinfecção de cavidades e de paredes de edifícios, pressurização de salas e fluxo laminar foram

implementados para controlar a disseminação de patógenos, mas poucos estudos confirmam que essas intervenções diminuem a taxa de IRAS (TANG, 2009). Isso pode ser devido à ineficiência nos métodos de controle. Técnicas comuns de limpeza de superfícies não removem toda a biomassa microbiana de superfícies onde, após apenas alguns dias, as comunidades microbianas são encontradas mesmo em salas limpas ou reagentes estéreis (KWAN et al., 2018). Além disso, o uso de materiais de limpeza contaminados por bactérias poderá ser a fonte de contaminação sendo incapaz de removê-las (DHARAN et al., 1999). O uso de poderosas soluções de limpeza antimicrobiana muitas vezes pode contribuir para um declínio da adesão aos protocolos de limpeza pela equipe do hospital ao longo do tempo, levando à persistência de micro-organismos em ambientes limpos (BOYCE et al., 2014).

A prática educativa de higienização correta diminuiu significativamente a dispersão microbiana em superfícies de ambientes hospitalares (GARCIA et al., 2018). A interrupção da transferência microbiana pode ser realizada usando ventilação e troca de ar e/ou fluxo de ar direcionado para reduzir o impacto do ar potencialmente contaminado. Isso tem sido amplamente implementado em locais de atendimento de saúde e tem sido proposto para outros espaços públicos superlotados (AHMED, 2017). A troca constante de ar interno e externo demonstrou reduzir a disseminação da bactéria *Mycobacterium tuberculosis* (MEMARZADEH, 2013). A ventilação natural, que tem menos impacto no gasto de energia elétrica e pode ajudar a mediar a umidade relativa, também mostrou reduzir o risco de transmissão de doenças (KOOL et al., 2014).

O conceito de promover um interior dinâmico e viável para a comunidade microbiana não é amplamente aceito e as práticas de controle de infecção continuam a ver o microbioma de ambientes internos como um problema a ser corrigido, dados os protocolos de limpeza corretos. Com o fracasso demonstrado dos atuais protocolos e normas de limpeza, alguns trabalhos cogitaram a adição intencional de micro-organismos benignos no ambiente construído para controlar micro-organismos patogênicos e neutralizar o impacto negativo potencial que estes podem ter sobre a saúde (HORVE et al., 2019). Resta saber se esta prática também se aplica ao ambiente hospitalar.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A abordagem inicial foi de fazer um levantamento bibliográfico referente à quais bactérias e fungos estão mais presentes em ambientes hospitalares e que ao mesmo tempo podem apresentar riscos à saúde dos pacientes. Em seguida, foi escolhido um produto de limpeza determinado por ser o padrão utilizado nos hospitais locais para limpeza dos aparelhos de ar condicionado. Com a composição e as instruções de rótulo definidas. Finalmente, foi verificada a viabilidade celular dos patógenos microbianos em um teste de contato frente à solução de limpeza diluída em água destilada estéril.

3.1 Local de realização do estudo

A manipulação das amostras e de micro-organismos foi conduzida no laboratório de Microbiologia do Departamento de Fisiologia e Patologia (DFP) localizado no Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal da Paraíba.

3.2 Micro-organismos utilizados

Foram utilizados sete isolados clínicos microbianos com potencial patogênico, alguns representativos do microbioma humano e outros presentes em superfícies e normalmente transitórios no ar do interior de ambientes hospitalares. As culturas foram cedidas pelo Hospital Universitário Lauro Wanderley - HULW-UFPB e mantidas no laboratório do DFP/CCS. As espécies foram identificadas como *Aspergillus* sp. e *Candida albicans* (fungos), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* sp., *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* (bactérias). O crescimento e manutenção das culturas foi realizado em meio Agar Brain Heart Infusion (BHI) à 37°C para bactérias e Agar Sabouraud Dextrose à 25°C para fungos.

3.3 Teste de atividade antimicrobiana *in vitro*, concentração e tempo de ação do sanitizante testado

As informações presentes no rótulo do produto utilizado para o teste de atividade antimicrobiana *in vitro* estão sumarizadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Informações sobre a solução de limpeza empregada no estudo.

Produto (Marca)	Composição
<p style="text-align: center;">Thilex®*</p> <p>*Produto saneante registrado na ANVISA Nº - 315160030.</p>	<ul style="list-style-type: none"> Ácido fluorídrico, tensoativo aniônico, coadjuvante, sequestrante, alcalinizante e água
	<p>Indicações</p>
	<ul style="list-style-type: none"> Uso exclusivo em indústrias; Limpeza de centrais de ar condicionado, unidades de parede, split e limpeza de máquinas pesadas onde exista o acúmulo de argila, calcário, óleo ou graxa; Não aplique em aparelho que está localizado onde tiver pisos polidos e porcelanatos. Retire-os do local e execute a limpeza a fim de não danificar o piso.
	<p>Modo de usar</p>
	<ul style="list-style-type: none"> Dilua um litro do THILEX para até 10 partes de água, dependendo da superfície a ser limpa e da intensidade da sujeira e/ou oxidação; Aplique por pulverização e/ou esfrega. Deixe agir por alguns minutos e em seguida enxague com água; CUIDADOS: Não deixe o produto secar. Caso isso ocorra, lave novamente com THILEX e enxágue com água em abundância.
<p>Validade</p>	
<ul style="list-style-type: none"> 12 meses a partir da data de fabricação. 	

FONTE: RÓTULO DO PRODUTO *Thilex®*

A solução de limpeza Thilex® foi assepticamente diluída em água destilada estéril nas seguintes concentrações: 2%, 20% e 100% e o controle com 0% (apenas água), perfazendo um volume final de 5mL em cada tubo de ensaio. Em seguida, uma suspensão de cada micro-organismo previamente cultivado foi padronizada pela turbidez tendo por base o tubo 0,5 de escala McFarland e 1mL desta suspensão foi transferida para cada tubo contendo a solução diluída. Para cada fungo, padronizou-se uma suspensão em torno de 10⁸ UFC/mL.

Após uma homogeneização num misturador vórtice, alíquotas de 1mL foram transferidas em série. Os tubos contendo as concentrações do produto foram deixados em repouso em diferentes tempos (1, 10 e 20 minutos) à temperatura ambiente e depois disso, um *swab* foi embebido em cada tubo contendo as diluições e foram semeados em placas de Petri contendo contendo meio de cultura apropriado para crescimento, em triplicata (meio de cultura BHI para bactérias e Agar Sabouraud para fungos). Após incubação a 36 ± 2°C por 48 horas (bactérias) e a 25°C por 96 horas (fungos), a viabilidade das células microbianas foi determinada pela visualização do crescimento na placa.

3.4 Caracterização da área de estudo

Esta etapa do estudo foi realizada em um hospital privado, localizado na cidade de João Pessoa, no leste do estado da Paraíba, Brasil. As amostras foram coletadas no interior e no exterior do hospital e os dados foram fornecidos para esse estudo com permissão e termo de consentimento assinadas pela diretoria do hospital.

A área do local é caracterizada pela alta concentração de pessoas durante o seu funcionamento. Seu público é composto por usuários de todas as classes econômicas e sociais, incluindo funcionários administrativos e de manutenção.

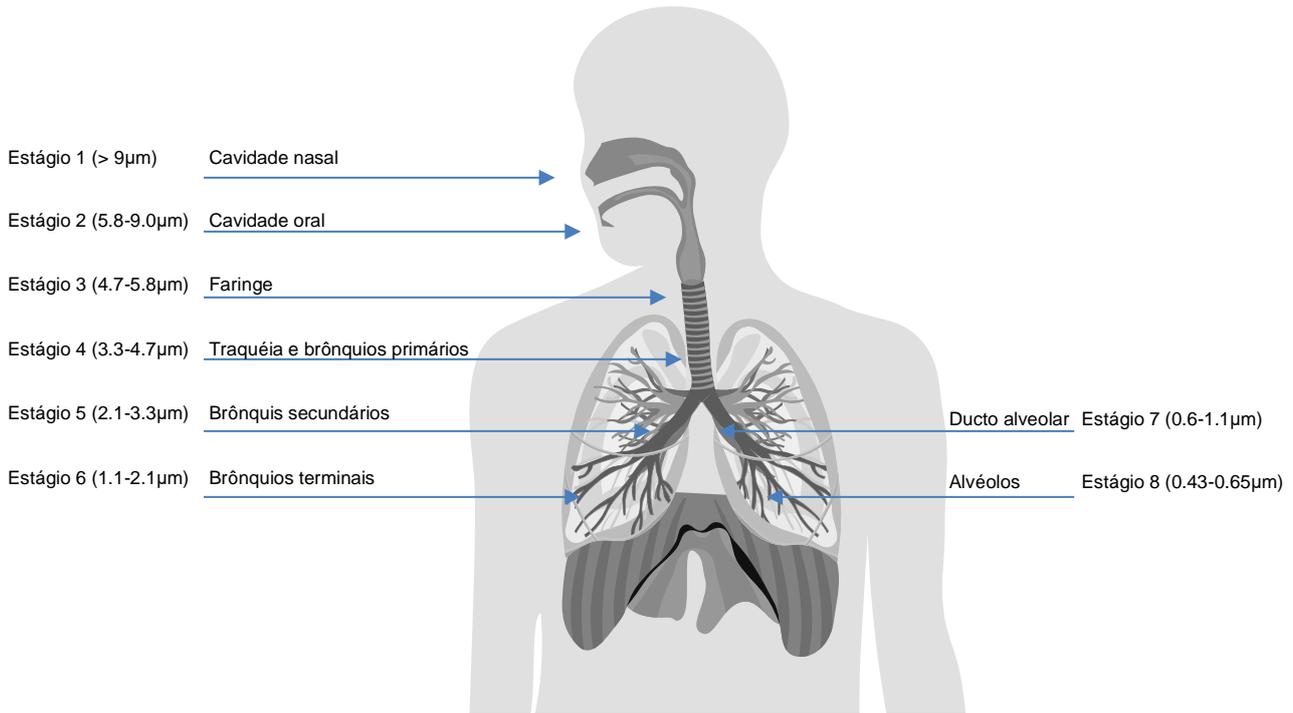
Como o hospital possui uma grande área dividida em vários ambientes, foram selecionadas as seguintes áreas para coleta de amostras: refeitório, unidades de tratamento intensivo (UTI) geral, UTI pediátrica, UTI coronária, salas da área de obstetrícia, sala pré-parto, salas do bloco cirúrgico e o arsenal da central de materiais e esterilização (CME). Com as salas contidas em cada área, foram 23 salas no total. Além desses pontos internos, um ponto fora do hospital também foi selecionado, conforme determina a metodologia descrita (FERNANDES, 2014), estabelecido próximo à entrada lateral do estacionamento.

3.5 Amostragem microbiana

A amostragem foi realizada pelo método ativo por impactação de ar. Em face do número elevado de amostras, as amostragens foram realizadas em dois dias, sendo que em cada dia foi realizada a amostragem de uma localidade externa. O equipamento utilizado na amostragem foi um modelo de impactador de bioaerossol de 1 estágio, modelo CF-6 (Tipo Andersen) que, como indicado na **Figura 1**, simula o trato respiratório humano, mais especificamente os brônquios terminais (1,1 à 2,1µm de diâmetro) caracterizado por: bomba de amostragem, vazão: 28,3L/min, alimentação: 110V, dimensões 241 x 139 x 114mm e 3,880g de peso (**Figura 2**).

Figura 1. Trato respiratório humano.

Indicação do diâmetro para cada estágio do impactador do tipo Andersen e seu correspondente em diferentes partes do trato respiratório humano.



FONTE: AUTOR

Figura 2. Kit impactador bioaerossol CF-6.

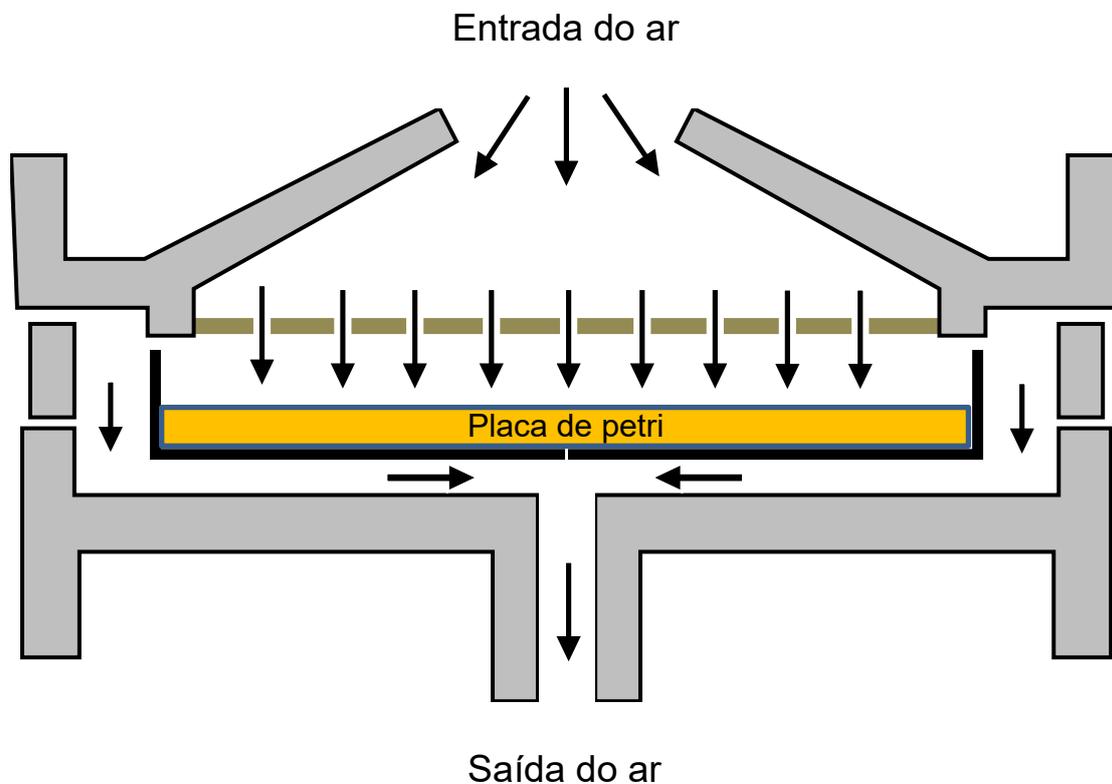


FONTE: ZEFON, 2020.

Em operação, o impactador faz com que o ar coletado flua através de uma superfície preenchida com furos de diâmetro predeterminado que impedem que partículas maiores do que bactérias e fungos de 0,6 a 22 micrômetros atinjam e contaminem o meio, aumentando a velocidade do fluxo de ar e fazendo com que as moléculas se

desviem (**Figura 3**). Assim, micro-organismos inertes colidem com o meio de cultura de Placas de Petri descartáveis que foram fixadas ao sistema de impactação com o meio de cultura pronto para uso (FERNANDES, 2014). As placas foram identificadas com localização e número da amostra e o meio de cultura utilizado foi Agar Sabouraud Dextrose. O amostrador foi colocado a uma altura de 1,5 metro e álcool 70% foi aplicado no período entre coletas.

Figura 3. Ilustração de funcionamento do impactador de ar



FONTE: AUTOR

3.6 Obtenção da concentração de dióxido de carbono

O processo de renovação de ar interno foi monitorado com a análise da concentração de dióxido de carbono (CO²) em partes por milhão (PPM) nos ambientes internos utilizando um equipamento de leitura direta das partículas de CO² em cada sala. A análise foi realizada por uma empresa terceirizada que cedeu os dados. O parâmetro utilizado foi o recomendado pela RE/ANVISA nº 9, com o valor

máximo recomendável de dióxido de carbono no ambiente sendo de ≤ 1000 PPM, indicado para conforto e bem-estar.

3.7 Identificação e análise microbiana

Após o período de incubação dos fungos em estufa, a 25°C de três a sete dias, foi iniciado o procedimento de análise da amostra, que consistiu na contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFC) a olho nu por placa. O cálculo para determinar as UFC/m³ foi feito utilizando o valor de UFC/placa dividido pelo tempo de coleta (10 minutos) convertido para 0,166 hora e a vazão (28,3L/min) convertida para 1,698 m³/h.

A identificação dos fungos obtidos nas amostras de ar foi realizada pela técnica de microcultura em lâmina, que consistiu no cultivo em lâminas de microscopia em câmara úmida. Para isto, 0,5 cm² de meio Agar Batata Dextrose foi transferido para o centro da lâmina. Com agulha flambada cada colônia foi repicada para esses fragmentos de meio. Foi adicionado uma lamínula sobre o meio e incubado em uma câmara úmida, constituída por uma placa de Petri forrada com papel embebido em água. A incubação foi realizada em 3 a 5 dias em estufa a 25°C. A visualização microscópica (**Figura 4**) de estruturas de frutificação como hifas, conídios e esporangiósporos foi realizada com o auxílio da adição do corante azul de lactofenol (CARVALHO, 2018).

Figura 4. Análise morfológica dos fungos no microscópio, com placas preparadas através da técnica de microcultivo.



FONTE: AUTOR

Para a análise macroscópica das colônias obtidas em isolamento primário, foram avaliadas características como cor, textura, superfície e pigmento disperso no meio de cultura. Para identificar o fungo, a subcultura foi fundamental em placas de Petri contendo Sabouraud Dextrose Agar, observando-se as estruturas reprodutivas formadas. No final dessas análises, as amostras foram esterilizadas e descartadas adequadamente.

Com os resultados da identificação e dos testes quantitativos, as contagens microbianas foram verificadas de acordo com o disposto pelas normas das resoluções 9 de 2003, RDC no. 15, de 15 de março de 2012 e RDC no. 222, de 28 de março de 2018 da ANVISA.

A análise estatística e a produção dos gráficos foram feitas utilizando os softwares GraphPad Prism 8.0 e Microsoft Excel 2016.

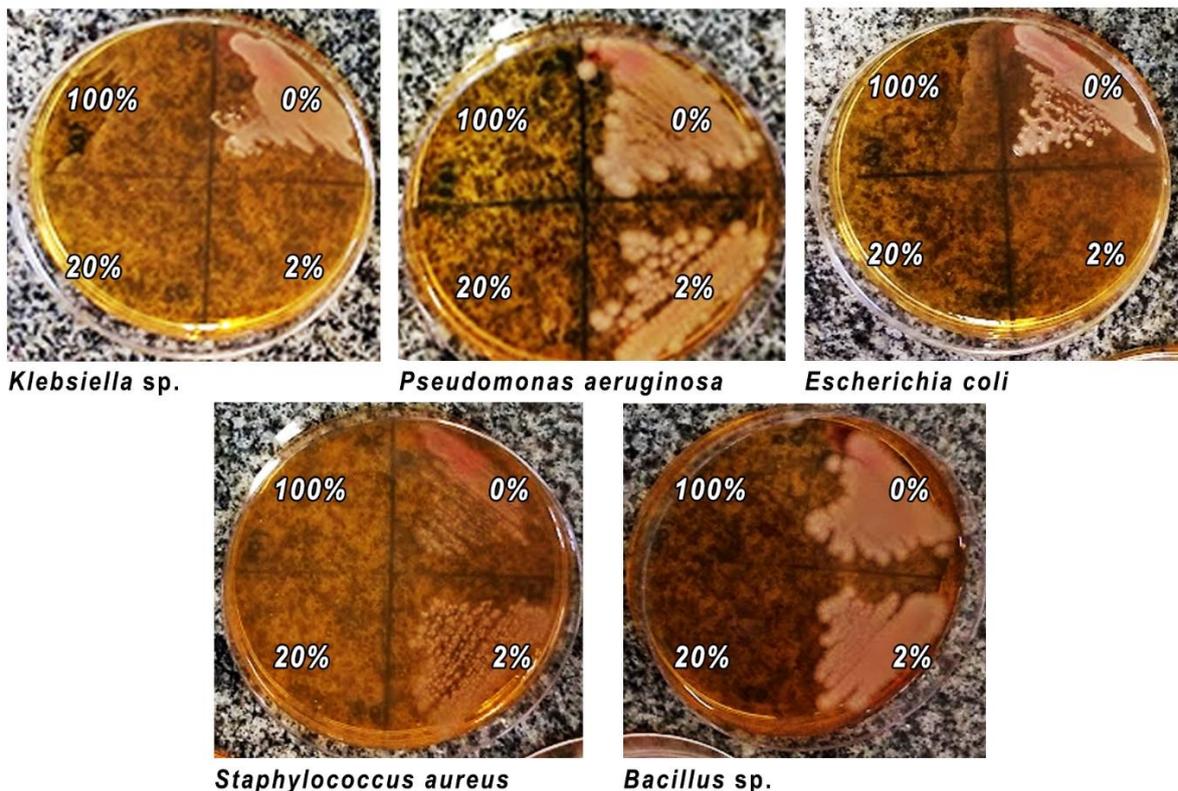
4 RESULTADOS

Este capítulo mostra os principais resultados adquiridos durante o desenvolvimento do projeto e uma análise estatística dos valores comparados com a norma em vigor.

4.1 Teste de atividade antimicrobiana *in vitro*

Na **figura 5** observa-se que entre as cinco bactérias testadas, *Klebsiella* sp. e *E. coli* foram inibidas de crescimento após serem tratadas na concentração de 2% do produto Thilex®, enquanto *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *Bacillus* sp. o efeito de inibição só foi observado a partir de 20%, mostrando-se menos sensíveis ao tratamento com o produto.

Figura 5. Crescimento das bactérias após tratadas em diferentes concentrações do produto Thilex®.

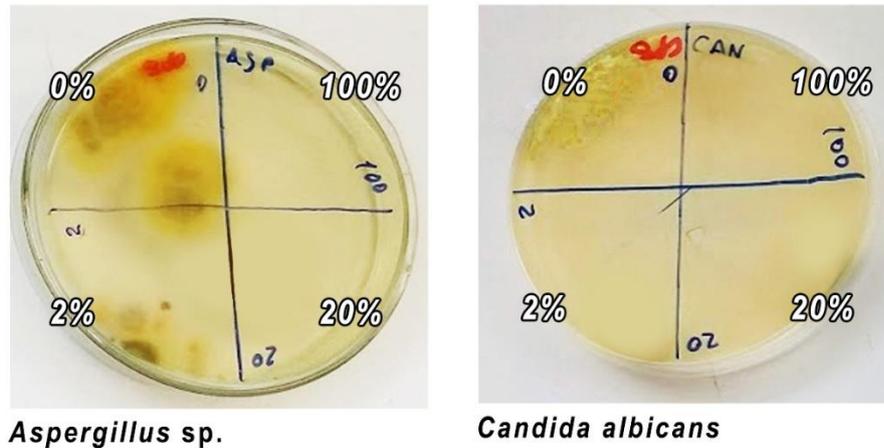


Quadrantes em cada placa correspondem ao controle sem aplicação do produto (superior direito) e as diferentes diluições do produto em água destilada estéril.

FONTE: AUTOR

Na **figura 6** observa-se que entre os dois fungos testados, *Aspergillus sp.* demonstrou crescimento após ser tratada até a concentração de 20% e na *Candida albicans* o efeito de inibição foi observado em todas as concentrações em que o produto foi aplicado.

Figura 6. Crescimento dos fungos após tratados em diferentes concentrações do produto Thilex®.

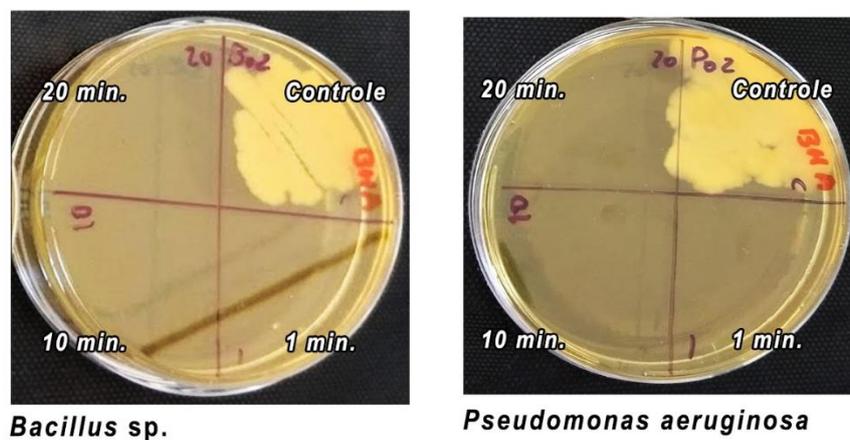


Quadrantes em cada placa correspondem ao controle sem aplicação do produto (superior esquerdo) e as diferentes diluições do produto em água destilada estéril.

FONTE: AUTOR

Na **figura 7** observa-se que entre das bactérias testadas, *Bacillus sp.* e *P. aeruginosa* foram inibidas de crescimento após serem tratadas a partir de 1 minuto de exposição ao produto Thilex®.

Figura 7. Crescimento das bactérias após tratadas em diferentes tempos de ação do produto Thilex®.

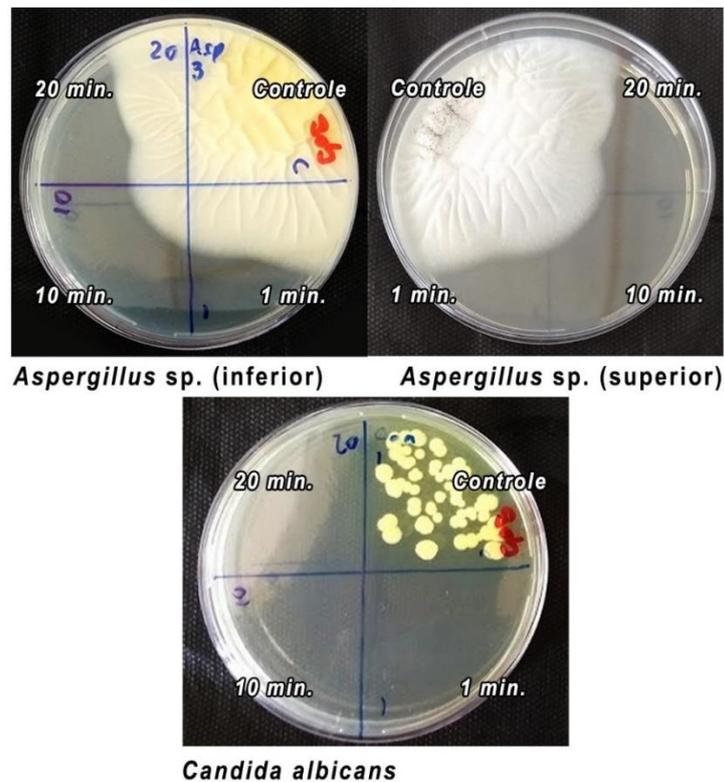


Quadrantes em cada placa correspondem ao controle sem aplicação do produto (superior direito) e diferentes tempos em que as bactérias ficaram expostas ao produto.

FONTE: AUTOR

Na **figura 8** observa-se que dentre os fungos testados, *Aspergillus* sp. e *C. albicans* foram inibidos de crescimento após serem tratados a partir de 1 minutos de exposição ao produto Thilex®.

Figura 8. Crescimento dos fungos após tratados em diferentes tempos de ação do produto Thilex®.



Quadrantes em cada placa correspondem ao controle sem aplicação do produto (superior direito) e diferentes tempos em que os fungos ficaram expostos ao produto.

FONTE: AUTOR

4.2 Coleta de amostras do ambiente hospitalar

4.2.1 População de fungos

Na **Tabela 2** são apresentados os dados relativos às amostragens realizadas nos locais selecionados para cada coleta de amostras, mostrando os valores em média da concentração de fungos para cada ambiente.

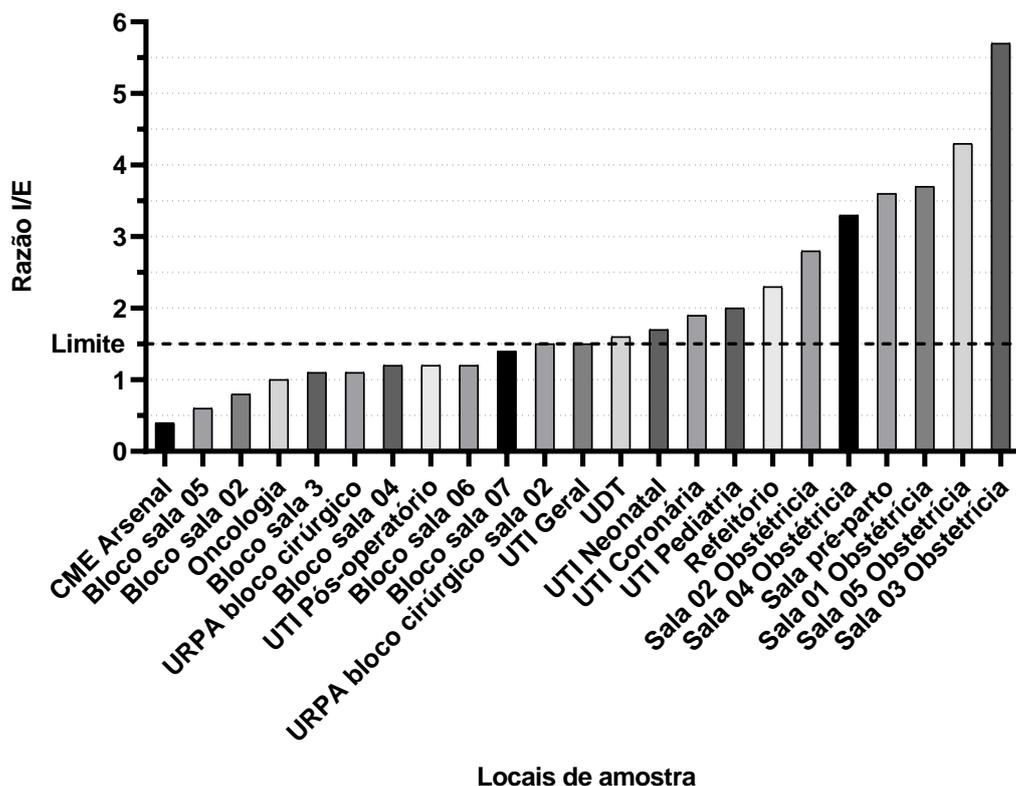
Tabela 2. Quantificação de fungos no ambiente hospitalar: Relação do ar interno e ar externo e classificação do ambiente quanto à quantidade dos fungos.

	Local	Amostra	Data	UFC/Placa	UFC/m ³	Razão I/E	Classificação do Ambiente
INTERNO	UDT	1	10/dez	54	192	1,5	Más condições
	Oncologia	2	10/dez	35	124	1,0	Boas condições
	UTI - pediatria	3	10/dez	69	245	2,0	Más condições
	UTI - neonatal	4	10/dez	59	206	1,7	Más condições
	UTI - pós-operatória	5	10/dez	42	149	1,2	Boas condições
	UTI - coronária	6	10/dez	65	231	1,9	Más condições
	UTI - geral	7	10/dez	50	177	1,4	Boas condições
	Refeitório	8	10/dez	79	280	2,3	Más condições
	Obstetrícia - Sala 01	9	10/dez	194	490	3,7	Más condições
	Obstetrícia - Sala 02	10	10/dez	112	362	2,8	Más condições
	Obstetrícia - Sala 03	11	10/dez	194	688	5,7	Más condições
	Obstetrícia - Sala 04	12	10/dez	112	397	3,3	Más condições
	Obstetrícia - Sala 05	13	10/dez	147	522	4,3	Más condições
	Sala pré-parto	14	13/dez	122	433	3,6	Más condições
	Bloco - sala 02	15	13/dez	31	110	0,8	Boas condições
	Bloco - sala 03	16	13/dez	41	145	1,1	Boas condições
	Bloco - sala 04	17	13/dez	46	163	1,2	Boas condições
	Bloco - sala 05	18	13/dez	23	82	0,6	Boas condições
	Bloco - sala 06	19	13/dez	46	163	1,2	Boas condições
	Bloco - sala 07	20	13/dez	51	181	1,4	Boas condições
	Bloco cirúrgico – URPA Sala 01	21	13/dez	39	138	1,1	Boas condições
	Bloco cirúrgico - URPA Sala 02	22	13/dez	55	195	1,5	Más condições
	CME Arsenal	23	13/dez	12	43	0,4	Boas condições
EXTERNO	Externo 10/dez	--	10/dez	34	121	--	--
	Externo 13/dez	--	13/dez	37	131	--	--

FORNTE: AUTOR

Analisando a comunidade fúngica presente no ar do hospital nas 23 amostras, verificou-se que em 12 amostras foram registradas concentrações acima do máximo de referência da ANVISA, com a relação do ar interior com o exterior igual ou maior do que 1,5. A **Figura 9** indica a razão I/E entre os locais de amostragem de forma ordenada. Parâmetro de classificação do ambiente: amostra interna/amostra externa: relação I/E < 1,5 = boa; relação I/E ≥ 1,5 = ruim. A maior concentração de fungos no ar (UFC/m³) foi registrada (em ordem decrescente) nas salas 03, 05 e 01 da ala de obstetrícia.

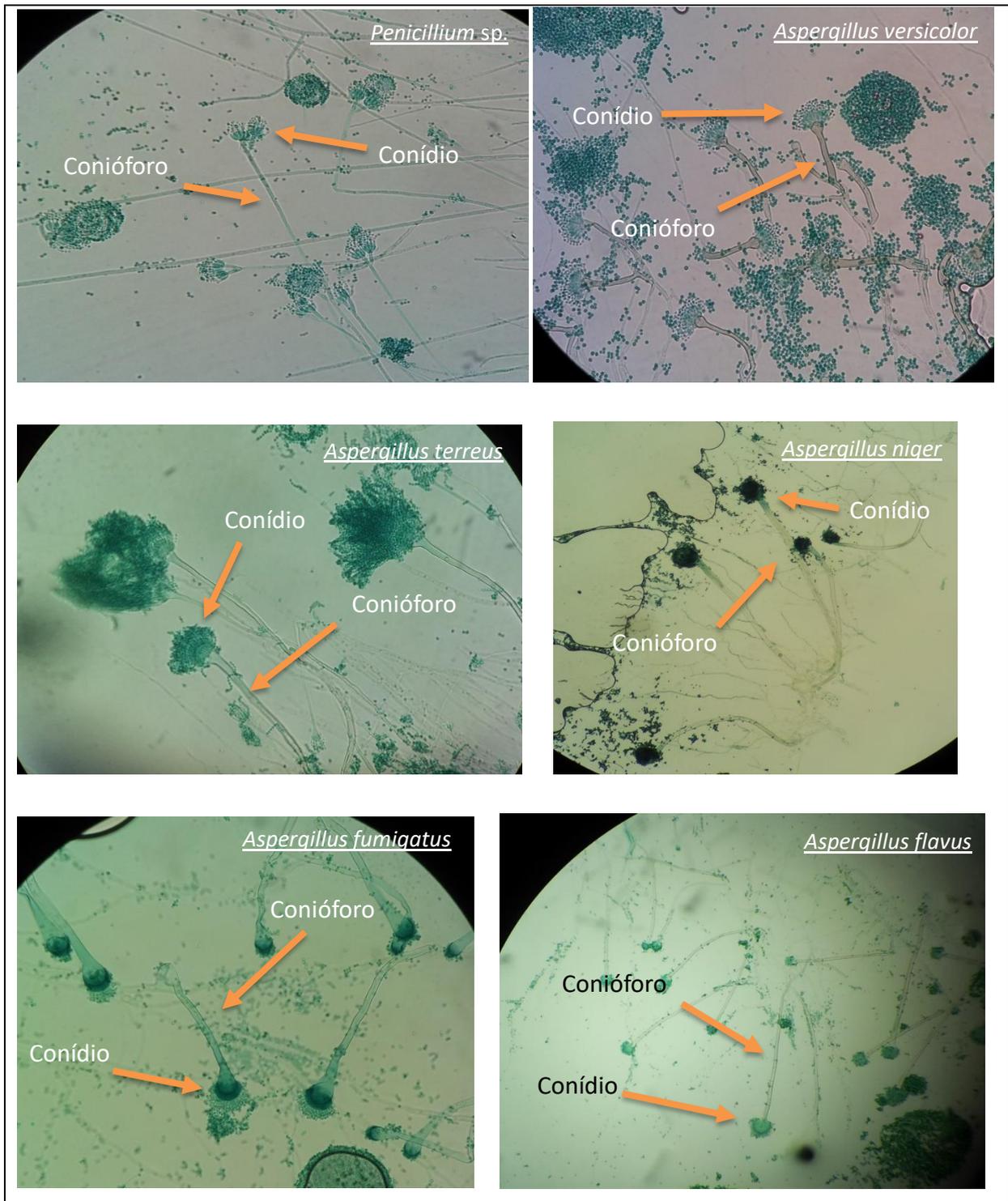
Figura 9. Valores da razão I/E entre os locais das amostras no hospital privado em João Pessoa-PB.



FONTE: AUTOR

4.2.2 Identificação dos fungos isolados em hospital privado em João Pessoa-PB

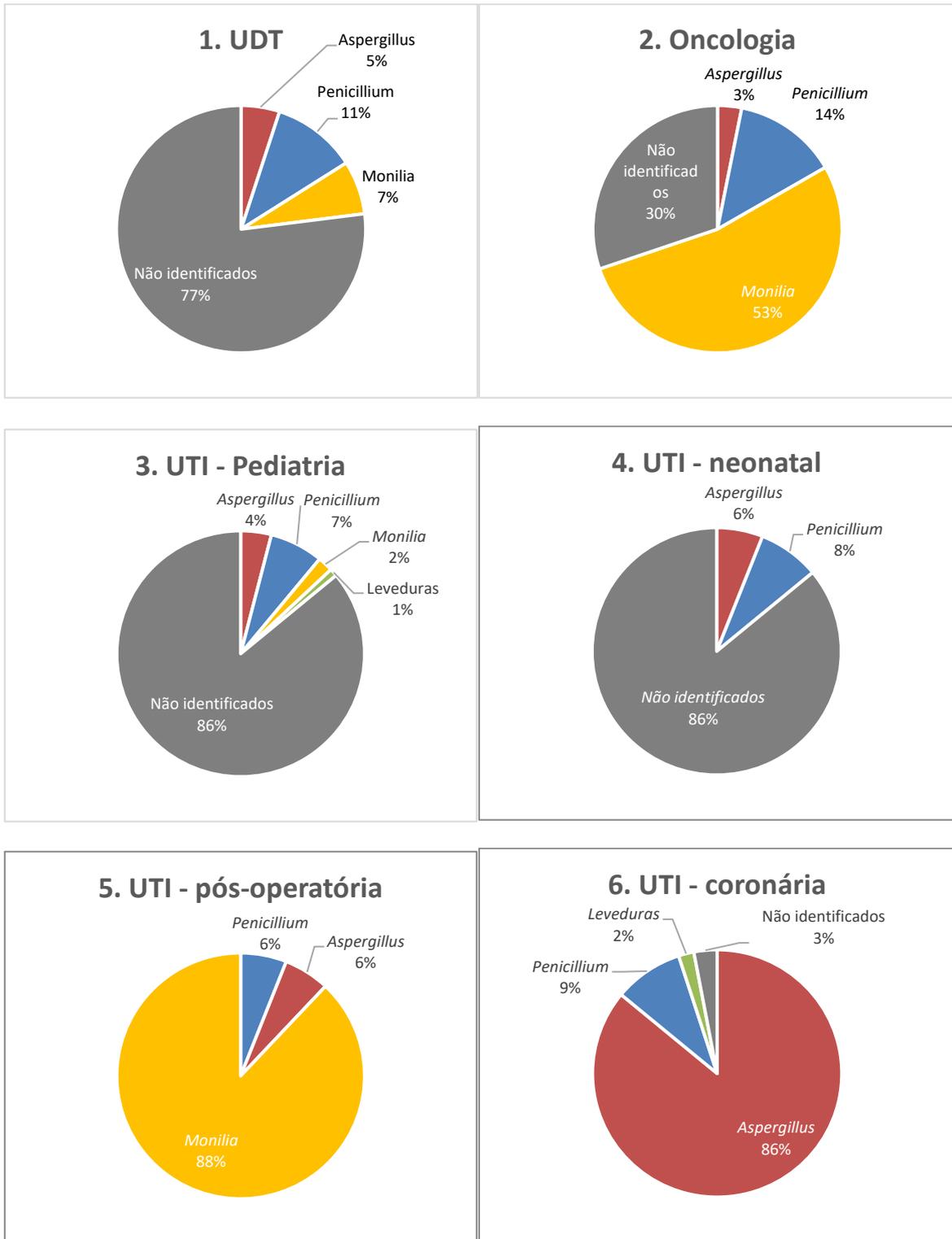
Figura 10. Identificação das estruturas de reprodução nos fungos encontrados no hospital.



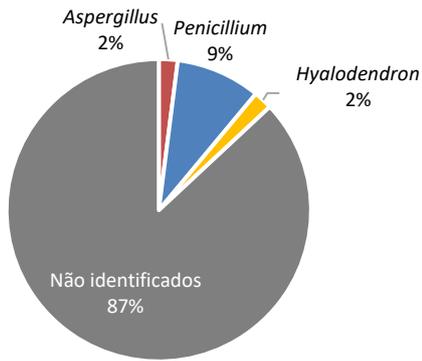
FONTE: AUTOR

Após a incubação e contagem de unidades formadoras de colônia, houve a identificação dos gêneros fúngicos anemófilos obtidos das amostras através de microcultivos para análise morfológica (figura 10). A **figura 11** mostra os gêneros mais encontrados em cada sala analisada.

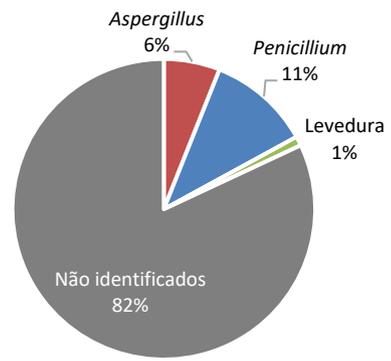
Figura 11. Diversidade fúngica em várias salas analisadas de um hospital privado em João Pessoa-PB.



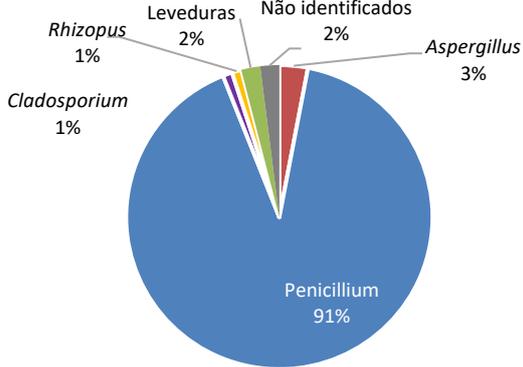
7. UTI - geral



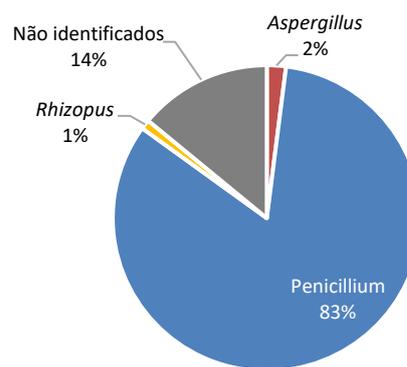
8. Refeitório



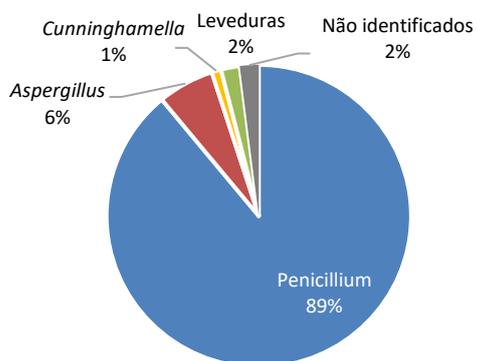
9. Obstetrícia - Sala 01



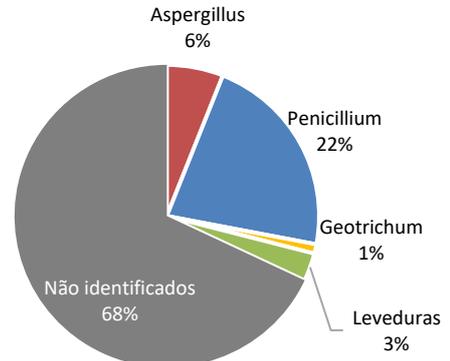
10. Obstetrícia - Sala 02

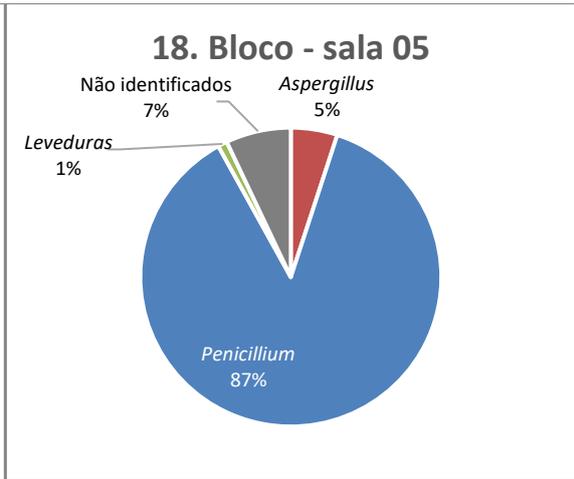
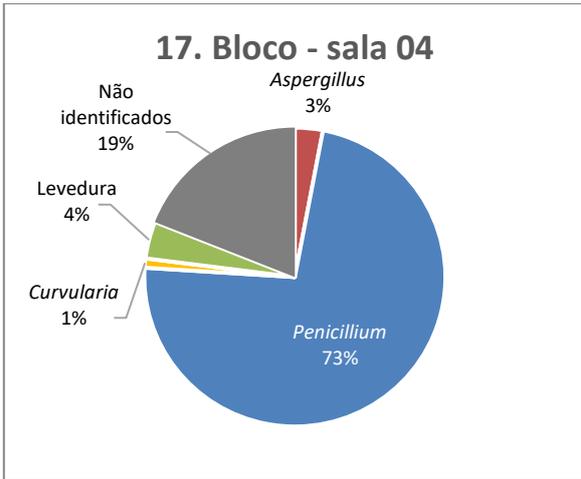
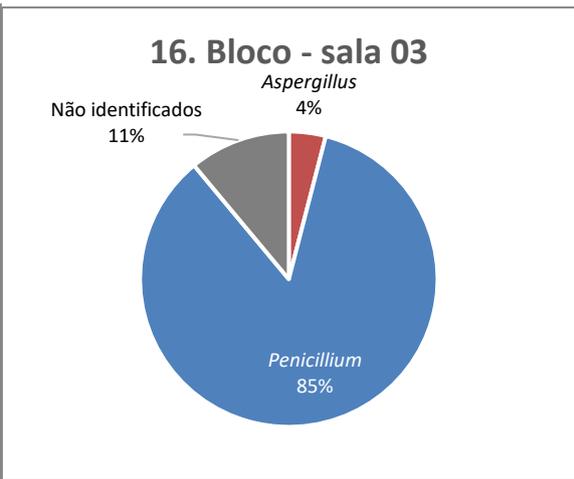
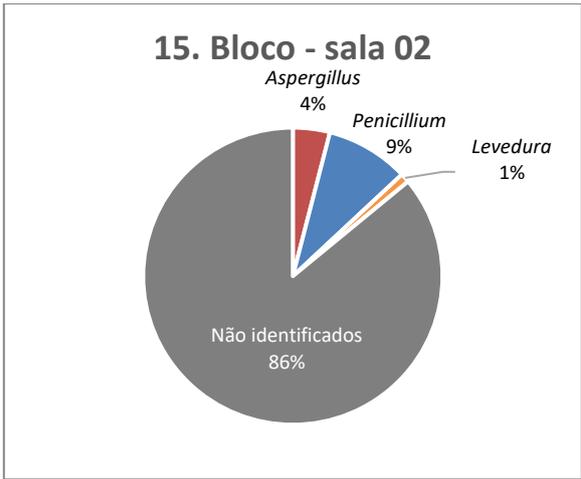
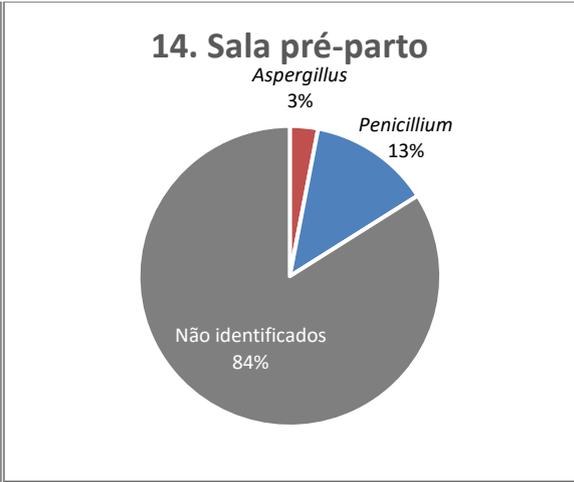
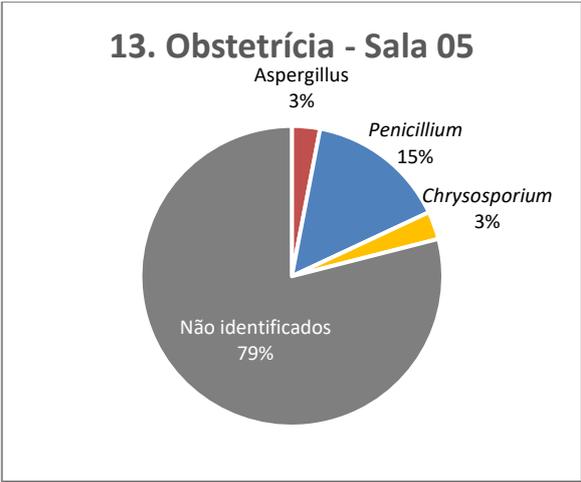


11. Obstetrícia - Sala 03

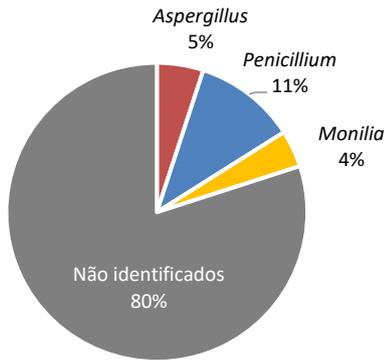


12. Obstetrícia - Sala 04

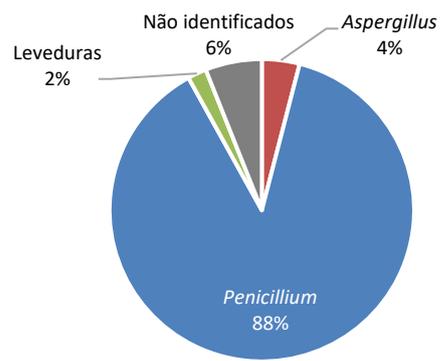




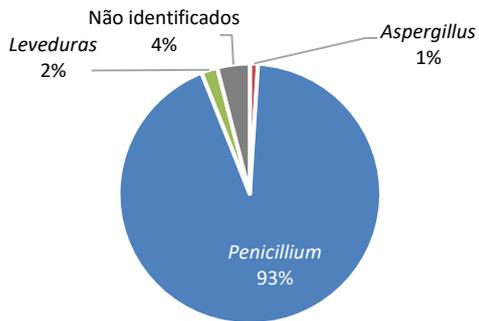
19. Bloco - sala 06



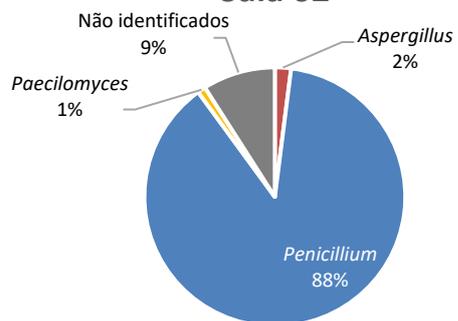
20. Bloco - sala 07



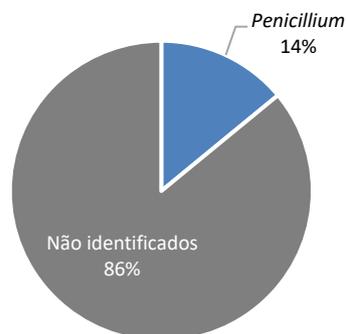
21. Bloco cirúrgico - URPA - Sala 01



22. Bloco cirúrgico - URPA - Sala 02

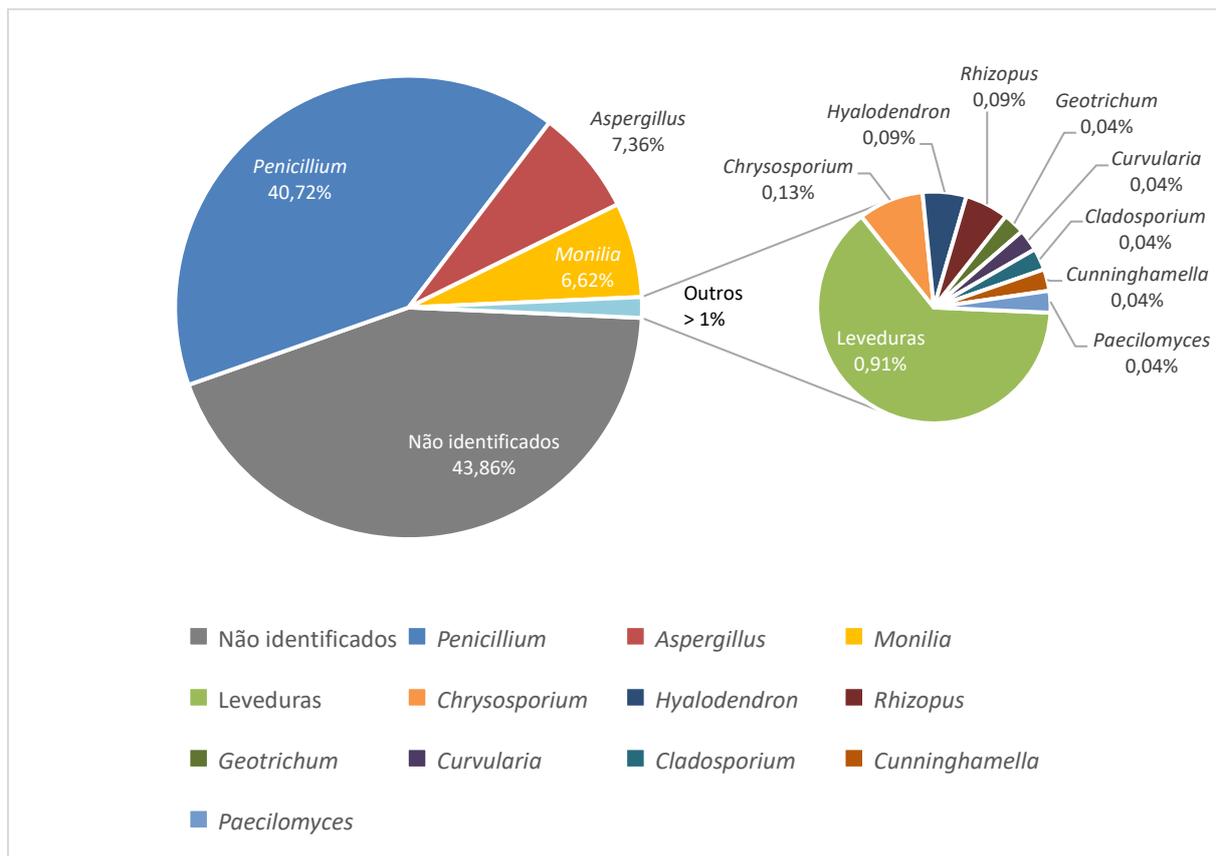


23. CME Arsenal



FONTE: AUTOR

Figura 12. Percentual médio da diversidade fúngica nas salas do interior de hospital privado em João Pessoa-PB.



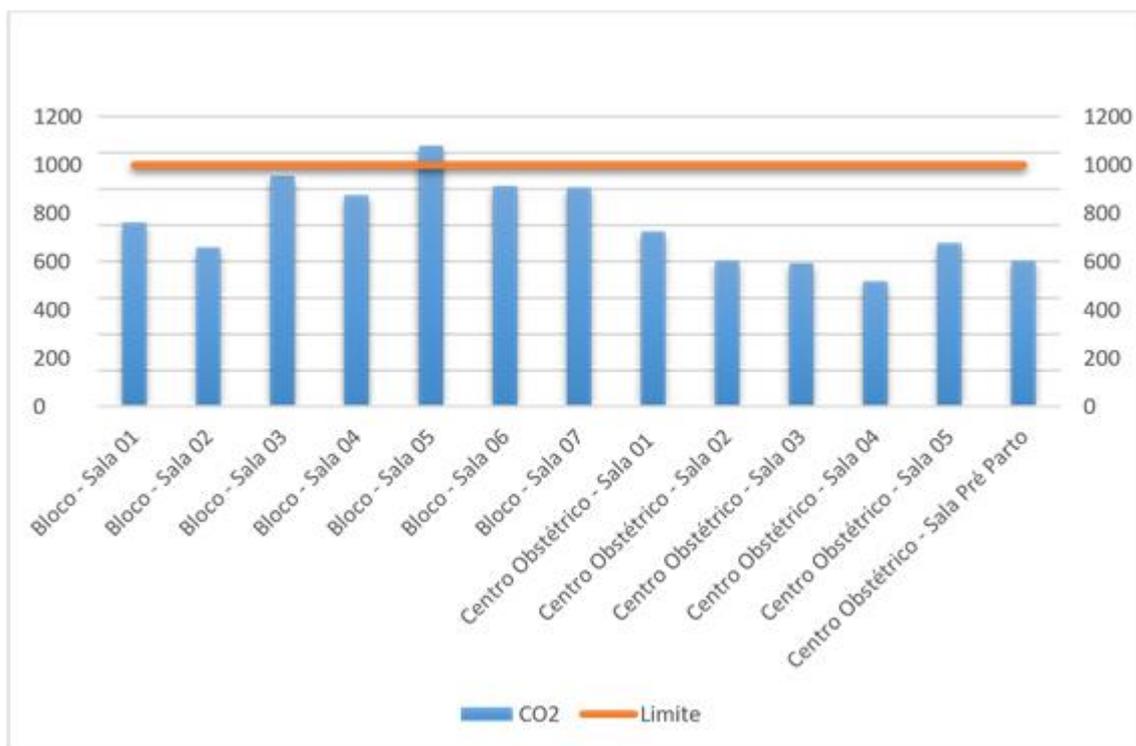
FONTE: AUTOR

O percentual médio em todos os ambientes analisados mostrou que entre os gêneros identificados predominaram *Penicillium* com 40,72%, *Aspergillus* com 7,36%, *Monilia* com 6,62% e outros gêneros menos frequentes. Entretanto, a maioria dos gêneros não foi identificada por ter apresentado apenas formação do micélio, sem formação de estruturas reprodutivas.

4.2.3 Concentração de dióxido de carbono nos ambientes internos

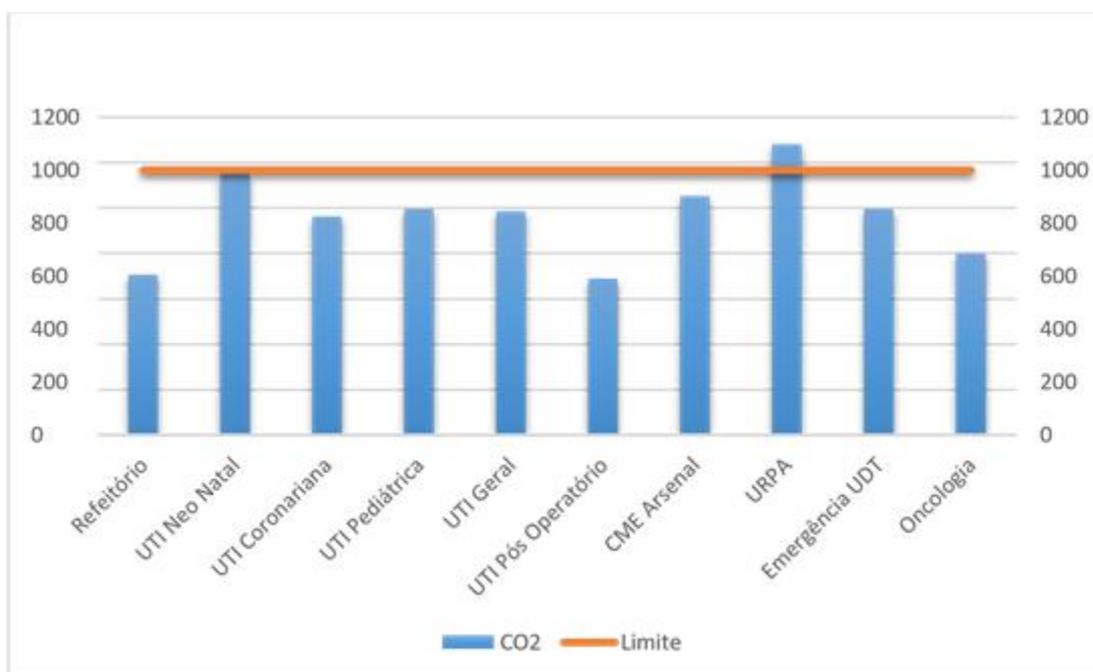
Houveram dois períodos de coleta para análise da concentração de CO² nos ambientes interiores, sumarizados nos gráficos das **Figuras 12 e 13.**

Figura 13. Concentração média de dióxido de carbono da primeira coleta nas salas do interior de hospital privado em João Pessoa-PB.



FORNTE: BIOLABS ANÁLISES TÉCNICAS

Figura 14. Concentração média de dióxido de carbono da segunda coleta nas salas do interior de hospital privado em João Pessoa-PB.



FORNTE: BIOLABS ANÁLISES TÉCNICAS

A concentração de CO² em ambientes interiores, segundo as recomendações da RE/ANVISA nº 9, não deve ultrapassar o limite de 1000 PPM. Dessa forma, ao se realizar a comparação dos níveis medidos com os limites estabelecidos pela legislação em vigor, como se observa os gráficos das figuras 12 e 13, o bloco cirúrgico sala 05, UTI Neonatal e URPA alcançam valores que ultrapassam o valor máximo recomendado (VMR). O VMR não é ultrapassado em nenhum dos outros ambientes verificados, proporcionando um ambiente salutar para os ocupantes.

5 DISCUSSÃO

Este trabalho, de natureza quantitativa e qualitativa, ao analisar o efeito antimicrobiano de uma solução de limpeza com diferentes concentrações na primeira etapa, sobre micro-organismos patogênicos veiculados pelo ar no interior de hospitais teve sua hipótese corroborada, no entanto os micro-organismos avaliados mostraram resultados diferentes entre si, com efeito no controle. Na segunda etapa onde foi quantificada a população de fungos nas salas do hospital, confirmou-se a hipótese de que alguns ambientes apresentam risco de contaminação. Esse foi o primeiro estudo a formalmente buscar compreender a extensão da contaminação de fungos no ar do interior de um hospital na cidade de João Pessoa-PB utilizando o método ativo de impactação de ar.

5.1 Testes *in vitro*

Os isolados microbianos, originados do Hospital Universitário Lauro Wanderley - HULW-UFPB, nos testes *in vitro* indicam que os micro-organismos *Klebsiella* sp., *E. coli* e *C. albicans* foram mais suscetíveis, não havendo mais crescimento nas concentrações a partir de 2% do produto, enquanto que os organismos *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Bacillus* sp. e *Aspergillus* sp. demonstraram susceptibilidade apenas a partir de 20%.

Uma possível explicação para essa resistência pode ser a presença de surfactante aniônico na composição do produto, pois testes prévios indicam que surfactantes catiônicos são mais eficazes quanto ao efeito antimicrobiano, até mesmo quando há uma resistência sinérgica entre as bactérias (PATRONE et al., 2010). Quanto ao tempo de ação, o produto demonstrou eficácia a partir de 1 minuto de ação contra todos os micro-organismos testados, conforme a concentração.

Micro-organismos como *A. niger* e *P. aeruginosa* são estudados como aplicação para biorremediação em estações de tratamento de esgoto justamente por conta de sua capacidade de não só resistir a como também degradar surfactantes aniônicos. Em um estudo, a presença de detergente causou um efeito inibitório parcial no crescimento da biomassa de *A. niger* (cerca de 51.4%), porém o fungo demonstrou

degradar 30% do surfactante aniônico presente no meio após 16 dias (JAKOVLJEVIĆ, 2016). Já uma linhagem de *P. aeruginosa* demonstrou degradação de cerca de 96% de um surfactante aniônico no meio de cultura em 48 horas de incubação (AMBILY; JISHA, 2012). Essa capacidade de degradação pode ter contribuído para os achados do atual estudo, com *Aspergillus* sp. e *P. aeruginosa* possivelmente apresentando resistência ao surfactante aniônico presente no produto Thilex®.

Dentre estes micro-organismos testados, *P. aeruginosa* é conhecida pela elevada capacidade de resistir a condições adversas, sendo esta considerada multirresistente a diversas drogas. Por sua vez, *Bacillus* sp. é uma bactéria produtora de esporo e mesmo assim, não resistiu a concentração de 20% do produto (CROWE-MCAULIFFE et al., 2018).

Dito isso, o produto saneante utilizado nos aparelhos de ar condicionado pode não ter uma influência direta na variação da densidade fúngica interna do hospital, visto que sua eficácia se mostrou dentro dos padrões esperados.

Para reduzir os vieses que poderiam interferir no experimento, foi utilizada água destilada e esterilizada, que na verdade não reflete na composição da água coletada diretamente das torneiras, como ocorre no processo de limpeza dentro do hospital. Dessa forma, estudos futuros podem empregar água de torneira, considerando a microbiota presente, bem como correlacionar os efeitos sobre outros patógenos não testados nesse trabalho, empregando produtos e tempos de contato diferentes. Enfatiza-se que o manuseio asséptico de micro-organismos para o teste de contato refletiu significativamente na repetibilidade e na reprodutibilidade do ensaio e deve ser levado em consideração para testes futuros.

5.2 Quantificação fúngica no hospital

No ar interno do hospital, os fungos saprófitos mostraram resultados abundantes, de modo que essas espécies predominavam na maioria dos ambientes hospitalares e ocupacionais. A maior densidade fúngica foi associada às salas de obstetrícia e pré-parto, com o *Penicillium* sendo o gênero identificado mais presente. Esse fenômeno pode ser atribuído ao acúmulo de poeira, o que favorece o depósito de esporos de

fungos e provavelmente devido a uma limpeza não frequente ou insuficiente do ambiente. Estudos indicam que as superfícies detectadas que mostram maior contaminação são as partes superiores dos móveis e as superfícies superiores de grandes equipamentos (geladeiras, aparelhos de esterilização, aquecedores, etc.), onde é mais fácil ocorrer o acúmulo de poeira (BRUNETTI et al., 2006).

É necessário observar as características da sala que obteve a menor concentração de fungos durante o estudo, que foi o arsenal do CME. CME é um acrônimo para Central de Materiais e Esterilização ou Centro de Materiais Esterilizados, e o objetivo é ser um setor dedicado à limpeza, condicionamento, esterilização e distribuição de todos os artigos médicos do hospital. A ANVISA estabelece diretrizes para o funcionamento de um CME, que deve consistir em: recepção e sala de limpeza; sala de preparação e esterilização; sala de desinfecção química (quando aplicável); área de monitoramento do processo de esterilização; e sala de armazenamento e distribuição de materiais estéreis. Como ambientes de suporte, deve-se prever: um vestiário com um banheiro para os funcionários; depósito de material de limpeza; uma copa para funcionários do setor; sala administrativa e espaço para descanso dos funcionários no turno da noite. A alta inspeção quanto à esterilização da sala de CME pode servir de modelo como indicação de possíveis orientações a serem aplicadas nas salas que possuem a maior contagem de fungos, adaptando as limitações de cada setor e cada hospital (TAVARES et al., 1979; CAISM, 2020).

Esses resultados destacam a importância da vigilância ambiental e a necessidade de procedimentos de limpeza que podem impedir a contaminação por fungos nos departamentos hospitalares. A ação imediata de prevenção e treinamento específico para a equipe de limpeza, por meio de programas de educação e aplicação do procedimento de controle de infecções, bem como medidas corretivas de limpeza em salas contaminadas, certamente terá um efeito positivo diretamente detectável no ambiente. O tempo de intervalo ideal para limpeza dos aparelhos de ar condicionado varia em diferentes regiões, mas a maioria dos protocolos recomenda a manutenção sanitária do aparelho a cada 7-15 dias ou pelo menos duas vezes por mês (APARECIDA, 2011; BRENIER-PINCHART, 2009).

A instalação de filtros HEPA tem por finalidade eliminar contaminantes biológicos do ar exaurido. Segundo uma nota técnica da ANVISA, a inspeção deve ser realizada periodicamente e o filtro deve ser substituído quando a pressão diferencial do fluxo de ar que o atravessa atinge 45mmca ou após 18 meses em uso, mesmo que a pressão diferencial seja inferior a 45mmca (BRASIL, 2003).

Por limitações de acesso ao hospital, não foi possível coletar amostras antes e depois da desinfecção e limpeza dos aparelhos. O estudo de Dehghani et al. (2018), realizado em uma unidade hospitalar no Irã, indicou que pode haver uma diferença significativa na contagem de micro-organismos antes e depois da limpeza das salas. Os resultados mostraram que as concentrações de fungos antes dos procedimentos de limpeza (para desinfecção e esterilização) eram limitadas de 4,83 a 18,40 UFC/m³ e após os procedimentos de limpeza variavam de 1,90 a 8,90 UFC/m³. Além disso, as concentrações de bactérias antes dos procedimentos de limpeza eram limitadas a 14,65–167,40 UFC/m³ e após os procedimentos de limpeza variaram de 9,50 a 38,40 UFC/m³.

Nesse mesmo estudo, 41% das salas estavam com contagens superiores aos valores recomendados e os micro-organismos mais prevalentes foram do gênero *Aspergillus* e *Penicillium*. Fatores que influenciam nesses resultados, segundo os pesquisadores, são baixa ventilação, pouca varrição úmida de pisos das salas, filtragem inadequada dos sistemas de refrigeração do ar, alta umidade e falta de gerenciamento ideal de resíduos infecciosos após a cirurgia. A recomendação para este caso é a utilização de filtros HEPA, implementação de procedimentos mais rigorosos de desinfecção e melhorar o controle da temperatura e umidade (DEHGHANI et al., 2018). Um estudo semelhante realizado em um hospital português mostrou que, de acordo com a caracterização fúngica no ar interno, os gêneros predominantes foram *Penicillium* spp. (41%) e *Aspergillus* spp. (24%). As espécies de *Aspergillus* foram: *A. fumigatus*, *A. versicolor*, *A. glaucos* e *A. Niger* (CABO VERDE et al., 2015). Estes resultados corroboram com os encontrados na presente pesquisa, na qual houve predomínio destes dois gêneros em todos os ambientes analisados.

Os achados não só confirmam o ar atmosférico como um meio eficaz e bem-sucedido de dispersão dos fungos, como também a existência de um certo padrão de

diversidade fúngica, seguindo outros estudos realizados em ambientes internos hospitalares

Os resultados indicando salas com alta contagem de fungos são preocupantes quando num cenário no qual pacientes sensíveis a alérgenos no ar. A sensibilização a alérgenos fúngicos pode estar associada a doença alérgica respiratória e dermatite atópica. Um estudo investigou a relação entre sensibilização a diferentes alérgenos fúngicos, indicando que a taxa de sensibilização para IgE específica para *Candida* foi de 81,2%, seguida por *Aspergillus* em 69,2% e *Penicillium* em 63,2%, com níveis maiores em pacientes com dermatite atópica (CHANG et al., 2010).

A diversidade fúngica encontrada no presente estudo pode ser explicada pelo ótimo mecanismo de dispersão de fungos suspensos na atmosfera, podendo ser transportados como bioaerossóis por grandes distâncias com o movimento do ar. Certos fungos desenvolveram adaptações especializadas favorecendo sua sobrevivência enquanto são dispersos na atmosfera, estando presentes em partículas de poeira, pele, tecidos e gotículas de água (MARTÍNEZ-HERRERA et al., 2016).

De modo geral, as condições físico-químicas do ar não favorecem o crescimento de micro-organismos e a maioria só consegue permanecer viável até quando suspensos por um curto período de tempo. Porém, os conídios fúngicos são unidades propagativas com taxas de viabilidade mais longas por conta de propriedades como paredes espessas, que os protegem da dessecação e o pigmento (melanina), que protege contra a radiação ultravioleta. Outras adaptações importantes são a termotolerância e versatilidade nutricional, o que lhes permite utilizar fontes de carbono e nitrogênio diversos, como no caso dos conídios de *Aspergillus* quando germinam (ABAD et al., 2010).

Gêneros fúngicos podem tornar infecções superficiais em micoses invasivas. Embora os fungos possuam várias vias de entrada no hospedeiro, a mais comum é pela inalação de propágulos; portanto, a manutenção da boa qualidade do ar é essencial em áreas críticas dos hospitais para reduzir a incidência de infecções fúngicas invasivas (MARTÍNEZ-HERRERA et al., 2016).

Uma das doenças mais importantes nesse caso é a asma, condição mais prevalente na idade entre 0 a 18 anos. Além disso, mulheres grávidas, pacientes

internados na UTI e recém-nascidos com menos de um ano de idade possuem maior suscetibilidade a esses patógenos. A presença de fungos no ar no hospital pode ser também um fator de risco para a saúde dos agentes de saúde e colaboradores do hospital (ABBASI et al., 2019). Como visto na presente pesquisa, das cinco salas de UTI, três delas estavam comprometidas com níveis fúngicos acima do aceitável, ou seja, em más condições.

A camada externa dos esporos (conídios) nos fungos é rica em hidrofobina, que permite que permaneçam suspensos no ar sem se depositarem, a cisteína presente na hidrofobina está relacionada à alta atividade surfactante dos fungos. As hidrofobinas se organizam em uma monocamada anfipática que reduz a tensão superficial do meio ou substrato em que o fungo cresce, permitindo que ele quebre a interface ar-água e evite a hidrossaturação para manter a permeabilidade ao gás. O grau de hidrofobicidade entre os fungos varia de leve a altamente hidrofóbico, afetando a eficiência da capacidade de dispersão de esporos (BAYRY et al., 2012). A alta densidade de fungos esporulados encontrados nas amostras do hospital confirmam a alta capacidade de dispersão no ar e o alto risco de contaminação para pacientes.

A presença de *A. fumigatus* em estudos similares era maior nos corredores dos hospitais. No presente estudo, a maior diversidade de fungos foi observada na UTI coronariana. A forma como essa sala foi projetada, contendo uma recepção no centro e cabines com leitos ao redor, pode fazer com que o trânsito de pessoas em movimento circular seja intensificado e isso pode contribuir para a maior disseminação de esporos. Resultados apresentados em outros estudos podem variar dependendo do tipo de hospital, localização, número de pacientes e visitantes, condições climáticas, localização geográfica e condições laboratoriais, como temperatura de incubação e meio de cultura. Como o hospital está localizado no meio da cidade e perto de uma via urbana, é possível entrar mais poluentes a partir dos veículos; Hospitais localizados fora da área metropolitana, cercado por vegetação e pastagens tendem a apresentar menor quantidade de poluentes (ABBASI et al., 2019). Embora previamente argumentado que a fonte de esporos de fungos no ar interno esteja relacionada à estrutura e condições do edifício, a contaminação por

fungos pode ser causada também por colônias que crescem em árvores, plantas e arbustos e entram no interior pela porta e janela (DANNEMILLER et al., 2016).

Espécies de *Aspergillus* possuem potencial patogênico, com especial atenção para *A. fumigatus*, por conta de seus conídios que são significativamente mais hidrofóbicos do que outras espécies, que além de conferir mais tempo de suspensão no ar, tem a capacidade de esconder a parede celular da indução de uma resposta imune do hospedeiro. A proteína hidrofobina RodA presente nos conídios é um fator de virulência que mascara o reconhecimento do sistema imune e impede o recrutamento de neutrófilos e a produção de citocinas, contribuindo pra sobrevivência do fungo no organismo infectado. A desinfecção utilizando produtos compostos por ácido fluorídrico removem a hidrofobina RodA do micro-organismo podendo diminuir a ação patogênica do mesmo. Contudo, a patogenicidade pode ser intensificada em pacientes imunocomprometidos, incapazes de gerar uma resposta imunológica e assim aumentando o risco de infecção (CARRION et al., 2013).

O terceiro gênero fúngico mais comum neste estudo foi *Monilia*, com maior prevalência na UTI pós-operatória. Esses fungos são anamorfos, sendo a fase assexuada da *Monilinia* (ANDRADE, 2016). Eles não são conhecidos como patógenos de humanos, sendo mais associados a doenças em plantas angiospermas como *Rosaceae* e *Ericaceae*, além de causar podridão em frutas (HU et al., 2011). Algumas espécies do gênero *Monilia* são conhecidas como residentes da microbiota intestinal humana e sua relevância clínica está mais relacionada à indicadores biológicos de disbiose, sendo observados em número reduzido em intestinos de pacientes com doenças inflamatórias crônicas, como Doença de Crohn (EL MOUZAN et al., 2017).

Alguns gêneros leveduriformes foram encontrados nas amostras do hospital. Como dito anteriormente, *Candida albicans* é a causa predominante de infecções invasivas por leveduras; no entanto, a epidemiologia das infecções por fungos está evoluindo gradualmente e outras leveduras raras surgiram como patógenos oportunistas com risco de vida. *Trichosporon* spp., a segunda ou terceira causa mais comum de fungemia por leveduras, demonstrou menos suscetibilidade à anfotericina B e 5-flucitosina e resistência a equinocandinas (GUO et al., 2017). Esses achados reforçam a necessidade de monitorar continuamente a presença de leveduras

invasivas e da resistência antifúngica entre isolados de leveduras regularmente hoje em dia e no futuro. Mesmo que no atual trabalho as leveduras não tenham sido identificadas a nível de gênero, elas servem como indicador de que a assepsia das salas estava inadequada.

Quanto à concentração de CO² nos ambientes internos analisados nesse estudo, as salas que apresentaram menor taxa de renovação de ar (maior concentração de CO²) não corresponderam necessariamente a uma elevada concentração de fungos encontrados. As salas da UTI neonatal, bloco cirúrgico sala 5, e URPA apresentaram valores elevados acima do VMR da ANVISA. Dessas salas, apenas a UTI neonatal apresentou elevada contagem de fungos (razão I/E > 1,5) e a sala que apresentou a maior concentração de fungos, a obstetrícia sala 3, apresentou um dos menores valores de concentração de CO² em comparação com as demais salas.

Na literatura há trabalhos que correlacionam a elevada concentração de CO² com o aumento da concentração fúngica em ambientes internos. Essa relação pode ser mais indireta, visto que pode indicar um alto padrão de atividade humana no ambiente interno analisado. Como as taxas de geração de CO² e de bio-efluentes dependem da atividade física, a concentração de CO² e a intensidade do odor dos bio-efluentes humanos em um espaço exibem uma relação semelhante com o número de ocupantes. Portanto, o uso da concentração de CO² para monitorar a qualidade do ar interno pode ser mais indicado para evidenciar a densidade populacional humana de um determinado ambiente externo ou interno (CHAVISIT et al., 2018).

Em suma, a contaminação por fungos está diretamente relacionada ao ar, que é um dos principais contribuintes para a transmissão e difusão de esporos de fungos. Para diminuir a contaminação, equipamento especial deve ser usado para pacientes em risco, movimento excessivo deve ser evitado nos corredores do hospital e janelas devem ser fechadas. Além disso, realizar desinfecção sistematizada dos aparelhos de ar condicionado, bem como o monitoramento periódico da população de fungos, que são indicadores da qualidade ambiental. Uma das medidas eficazes pode ser o uso de sistemas de refrigeração com filtro HEPA, que captura com facilidade e eficiência os esporos de fungos e ajuda a isolar os ambientes sensíveis como salas de cirurgia.

6 CONCLUSÃO

Uma elevada quantidade de fungos patogênicos está presente em locais de risco no hospital privado localizado em João Pessoa, no período de análise. Das 23 salas analisadas, 12 apresentaram uma quantidade superior à norma, incluindo salas de obstetrícia, pré-parto, refeitório e UTIs pediatria, coronária e neonatal. Os gêneros fúngicos mais presentes são *Penicillium* (40,72%), *Aspergillus* (7,36%) e *Monilia* (6,62%), porém a maioria dos espécimes encontrados não foram identificadas. No teste antimicrobiano *in vitro* do produto saneante utilizado na limpeza dos aparelhos de ar condicionado do hospital (Thilex®), os micro-organismos *Klebsiella* sp., *E. coli* e *C. albicans* são susceptíveis e *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Bacillus* sp. e *Aspergillus* sp. são resistentes à concentrações de pelo menos 2% do produto em água destilada, com os padrões de utilização mais indicados sendo de 20% da concentração do produto e tempo de exposição sendo acima de 1 minuto.

Os resultados mostram que o monitoramento ambiental de indicadores biológicos é uma ferramenta importante e deve ser adotada pelos comitês de controle de infecção hospitalar para investigar, controlar e reduzir a ocorrência dessas infecções, especialmente de fontes como o ar e superfícies, e buscar estratégias para contribuir na diminuição do impacto econômico nas internações hospitalares. O gerenciamento adequado da admissão e tempo de visita dos pacientes pode ser eficaz na contaminação do ar em ambientes fechados nos hospitais, assim como a utilização de filtros de ar para proteção dos pacientes imunocomprometidos. Além disso, o controle desses parâmetros pode prevenir problemas de saúde físicos e psicométricos para os profissionais de saúde à longo prazo.

7 REFERÊNCIAS

ABAD, A. et al. What makes *Aspergillus fumigatus* a successful pathogen? Genes and molecules involved in invasive aspergillosis. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 27, n. 4, p. 155–182, 2010.

ABBASI, F. et al. The Monitoring of Fungal Contamination in Indoor Air of Two Hospitals in Shiraz. **Journal of Environmental Health and Sustainable Development**, 2019.

ABDUL-WAHAB, S. A. et al. A review of standards and guidelines set by international bodies for the parameters of indoor air quality. **Atmospheric Pollution Research**, v. 6, n. 5, p. 751–767, 2015.

ACERBI, E. et al. Ecological succession of the microbial communities of an air-conditioning cooling coil in the tropics. **Indoor Air**, v. 27, n. 2, p. 345–353, 2017.

AFONSO, S. MARTINEZ; TIPPLE, A. F. V. A qualidade do ar em ambientes hospitalares climatizados e sua influência na ocorrência de infecções. **Revista Eletrônica de enfermagem**, v. 6, n. 2, p. 181–188, 2004.

AGARWAL, S.; MANDAL, P.; SRIVASTAVA, A. Quantification and Characterization of Size-segregated Bioaerosols at Municipal Solid Waste Dumping Site in Delhi. **Procedia Environmental Sciences**, v. 35, p. 400–407, 2016.

AHMED, T.; USMAN, M. Indoor and Built Biodeterioration of buildings and public health implications caused by indoor air pollution. v. 0, n. 0, p. 1–14, 2017.

AMBILY, P. S.; JISHA, M. S. Biodegradation of anionic surfactant, sodium dodecyl sulphate by *pseudomonas aeruginosa* MTCC 10311. **Journal of Environmental Biology**, v. 33, n. 4, p. 717–720, 2012.

ANDRADE, K. M. Caracterização de fungos Cercosporóides associados à vegetação de Mata Atlântica e cercanias, no Estado do Rio de Janeiro. p. 136, 2016.

ANVISA. Resolução - RE nº 9, de 16 de janeiro de 2003. p. 10, 2003.

APARECIDA, A. et al. Manual de Rotinas de Limpeza para área hospitalar. 2011.

BARDAQUIM, V. A.; SOUSA, C. P. DE. Fenotipicidade de Fungos filamentosos e leveduriformes em um centro cirúrgico. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 8, n. 2, p. 8–10, 2018.

BAYRY, J. et al. Hydrophobins-unique fungal proteins. **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 5, p. 6–9, 2012.

BEGGS, P. J. Impacts of climate change on aeroallergens: Past and future. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 34, n. 10, p. 1507–1513, 2004.

BIBBY, K.; WARING, M. S. Editorial From commensalism to mutualism : integrating the microbial ecology , building science , and indoor air communities to advance. p. 1–3, 2015.

BIEBER et al. A Drone-Based Bioaerosol Sampling System to Monitor Ice Nucleation Particles in the Lower Atmosphere. **Remote Sensing**, v. 12, n. 3, p. 552, 2020.

BLATZER, M.; LATGÉ, J. P. Metal-homeostasis in the pathobiology of the opportunistic human fungal pathogen *Aspergillus fumigatus*. **Current Opinion in Microbiology**, v. 40, p. 152–159, 2017.

BOYCE, J. M. et al. Monitoring the Effectiveness of Hospital Cleaning Practices by Use of an Adenosine Triphosphate Bioluminescence Assay. v. 30, n. 7, p. 678–684, 2014.

BRENIER-PINCHART, M. P. et al. Influence of internal and outdoor factors on filamentous fungal flora in hematology wards. **American Journal of Infection Control**, v. 37, n. 8, p. 631–637, 2009.

BRIDIER, A. et al. Biofilms of a *Bacillus subtilis* Hospital Isolate Protect *Staphylococcus aureus* from Biocide Action. **PLoS ONE**, v. 7, n. 9, 2012.

BROOKS, B. et al. Microbes in the neonatal intensive care unit resemble those found in the gut of premature infants. p. 1–16, 2014.

BRUNETTI, L. et al. Two-years surveillance of fungal contamination in three hospital

departments in Campania Region. **Journal of Preventive Medicine and Hygiene**, v. 47, n. 1, p. 22–25, 2006.

CABO VERDE, S. et al. Microbiological assessment of indoor air quality at different hospital sites. **Research in Microbiology**, v. 166, n. 7, p. 557–563, 2015.

CAILLAUD, D. et al. Short-term effect of outdoor mould spore exposure on prescribed allergy medication sales in Central France. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 48, n. 7, p. 837–845, 2018.

CALUMBY, R. J. N. et al. Isolamento e identificação da microbiota fúngica anemófila em Unidade de Terapia Intensiva. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 10, p. 19708–19722, 2019.

CARRION, S. DE J. et al. The RodA Hydrophobin on *Aspergillus fumigatus* Spores Masks Dectin-1– and Dectin-2–Dependent Responses and Enhances Fungal Survival In Vivo . **The Journal of Immunology**, v. 191, n. 5, p. 2581–2588, 2013.

CARVALHO, H. K. DE; MARTINS, D. L.; JÚNIOR, D. P. L. Isolamento e identificação de microrganismos fúngicos em alimentos em grãos conservados e expostos em feiras livres e supermercados das cidades de Cuiabá e Várzea Grande / MT . Isolation and identification of fungal microorganisms in food grain preserved . 2018.

CHAVISIT, P. et al. Airborne bacteria and fungi distribution characteristics in natural ventilation system of a university hospital in Thailand. **EnvironmentAsia**, v. 11, n. 2, p. 53–66, 2018.

CHANG, F. Y. et al. Analysis of the serum levels of fungi-specific immunoglobulin e in patients with allergic diseases. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 154, n. 1, p. 49–56, 2010.

CORSI, RICHARD L., KINNEY, KERRY A., LEVIN, H. Editorial Microbiomes of built environments : 2011 symposium highlights and workgroup recommendations. p. 171–172, 2012.

CROWE-MCAULIFFE, C. et al. Structural basis for antibiotic resistance mediated by the *Bacillus subtilis* ABCF ATPase VmlR. **Proceedings of the National Academy of**

Sciences of the United States of America, v. 115, n. 36, p. 8978–8983, 2018.

CROXEN, M. A. et al. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 4, p. 822–880, 2013.

DANNEMILLER, K. C. et al. Indoor microbial communities: Influence on asthma severity in atopic and nonatopic children. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 138, n. 1, p. 76–83.e1, 2016.

DE BENTZMANN, S.; PLÉSIAT, P. The *Pseudomonas aeruginosa* opportunistic pathogen and human infections. **Environmental Microbiology**, v. 13, n. 7, p. 1655–1665, 2011.

DĘBSKA-ŚLIZIĘŃ, A. et al. *Candida* arteritis in kidney transplant recipients: Case report and review of the literature. **Transplant Infectious Disease**, v. 17, n. 3, p. 449–455, 2015.

DEHGHANI, M. et al. Concentration and type of bioaerosols before and after conventional disinfection and sterilization procedures inside hospital operating rooms. p. 277–282, 2018.

DENNING, D. W. et al. Fungal allergy in asthma-state of the art and research needs. **Clinical and Translational Allergy**, v. 4, n. 1, p. 1–23, 2014.

DENNING, D. W.; PLEUVRY, A.; COLE, D. C. Global burden of chronic pulmonary aspergillosis complicating sarcoidosis. **European Respiratory Journal**, v. 41, n. 3, p. 621–626, 2013.

DHARAN, S. et al. Routine disinfection of patients' environmental surfaces . Myth or reality ? p. 113–117, 1999.

DONLAN, R. M. Biofilm Formation: A Clinically Relevant Microbiological Process. **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, n. 8, p. 1387–1392, 2001.

EHLING-SCHULZ, M.; FRICKER, M.; SCHERER, S. Identification of emetic toxin producing *Bacillus cereus* strains by a novel molecular assay. **FEMS Microbiology Letters**, v. 232, n. 2, p. 189–195, 2004.

EL MOUZAN, M. et al. Fungal Microbiota Profile in Newly Diagnosed Treatment-naïve Children with Crohn's Disease. **Journal of Crohn's & colitis**, v. 11, n. 5, p. 586–592, 2017.

ELPHICK, H. E.; SOUTHERN, K. W. Antifungal therapies for allergic bronchopulmonary aspergillosis in people with cystic fibrosis. **The Cochrane database of systematic reviews**, v. 6, n. 11, p. CD002204, 2012.

ENGELHART, S. T. et al. Pseudomonas aeruginosa outbreak in a haematology-oncology unit associated with contaminated surface cleaning equipment. **Journal of Hospital Infection**, v. 52, n. 2, p. 93–98, 2002.

FAHIMIPOUR, A. K. et al. Daylight exposure modulates bacterial communities associated with household dust. p. 1–13, 2018.

FERNANDES, H. P. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA QUALIDADE DO AR NO INTERIOR DA BIBLIOTECA CENTRAL DO CAMPUS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA. 2014.

FRANKEL, M.; HANSEN, E. W.; MADSEN, A. M. Effect of relative humidity on the aerosolization and total inflammatory potential of fungal particles from dust-inoculated gypsum boards. p. 16–28, 2014.

FRÖHLICH-NOWOISKY, J. et al. Bioaerosols in the Earth system: Climate, health, and ecosystem interactions. **Atmospheric Research**, v. 182, p. 346–376, 2016.

GARCIA-VIDAL, C. et al. Epidemiology of Invasive Mold Infections in Allogeneic Stem Cell Transplant Recipients: Biological Risk Factors for Infection According to Time after Transplantation. **Clinical Infectious Diseases**, v. 47, n. 8, p. 1041–1050, 2008.

GARCIA, A. et al. SUPERFÍCIES EM UMA UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE
EFFICIENCY EVALUATION OF THE CLEANING AND DISINFECTION OF SURFACES IN A PRIMARY HEALTH CENTER. v. 27, n. 4, p. 1–10, 2018.

GERALD P. BODEY, LINDA S. ELTING, SAUL RODRIGUEZ, A. M. H. Klebsiella Bacteremia. p. 2368–2376, 1989.

GRIFFITHS, M. W.; SCHRAFT, H. **Bacillus cereus Food Poisoning**. Third Edit ed.

[s.l.] Elsevier Inc., 2017.

GUO, L. N. et al. Epidemiology and antifungal susceptibilities of yeast isolates causing invasive infections across urban Beijing, China. **Future Microbiology**, v. 12, n. 12, p. 1075–1086, 2017.

GUPTA, A. Hospital-acquired Infections in the Neonatal Intensive Care Unit-Klebsiella pneumoniae. **Seminars in Perinatology**, v. 26, n. 5, p. 313–314, 2002.

HATAKEYAMA, S. et al. Case report: Disseminated talaromyces (Penicillium) marneffeii and mycobacterium tuberculosis coinfection in a Japanese patient with acquired immunodeficiency syndrome. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, n. 1, p. 38–41, 2017.

HATAYAMA, K.; OIKAWA, Y.; ITO, H. Bacterial community structures in air conditioners installed in Japanese residential buildings. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 111, n. 1, p. 45–53, 2018.

HERNÁNDEZ, D. **Water systems in healthcare facilities**. Second Edition. [s.l.] Elsevier Inc., 2020.

HOBDAV, R. A.; DANCER, S. J. Roles of sunlight and natural ventilation for controlling infection : historical and current perspectives. **Journal of Hospital Infection**, v. 84, n. 4, p. 271–282, 2013.

HORVE, P. F. et al. Building upon current knowledge and techniques of indoor microbiology to construct the next era of theory into microorganisms , health , and the built environment. **Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology**, 2019.

HU, M. J. et al. Monilinia species causing brown rot of peach in China. **PLoS ONE**, v. 6, n. 9, 2011.

JAKOVLJEVIĆ, V. D.; VRVIĆ, M. M. Capacity of Aspergillus niger to Degrade Anionic Surfactants and Coproduce the Detergent Compatible Enzymes. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 52, n. 2, p. 183–189, 2016.

JOSEPH, A. et al. The Impact of the Environment on Infections in Healthcare Facilities. n. July, 2006.

KARRE MØLBAK, PAUL S. MEAD, P. M. G. Antimicrobial Therapy in Patients With Escherichia coli O157:H7 Infection. **Korean Journal of Pediatric Infectious Diseases**, v. 9, n. 1, p. 19, 2002.

KATEEL, R. et al. Clinical and microbiological profile of diabetic foot ulcer patients in a tertiary care hospital. **Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews**, v. 12, n. 1, p. 27–30, 2018.

KEMBEL, S. W. et al. Architectural design influences the diversity and structure of the built environment microbiome. **The ISME Journal**, v. 6, n. 8, p. 1469–1479, 2012.

KHARE, P.; MARR, L. C. Simulation of vertical concentration gradient of influenza viruses in dust resuspended by walking. n. 2008, p. 1–13, 2014.

KOOL, J. L. et al. HOSPITAL CHARACTERISTICS ASSOCIATED WITH COLONIZATION OF WATER SYSTEMS BY LEGIONELLA AND RISK OF NOSOCOMIAL LEGIONNAIRES' DISEASE: A COHORT STUDY OF 15 HOSPITALS. n. May, 2014.

KRAMER, A.; SCHWEBKE, I.; KAMPF, G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. v. 8, p. 1–8, 2006.

KUMAMOTO, C. A. Candida biofilms. **Current Opinion in Microbiology**, v. 5, n. 6, p. 608–611, 2002.

KWAN, S. E. et al. The Reestablishment of Microbial Communities after Surface Cleaning in Schools. p. 0–2, 2018.

LIM, J. Y.; YOON, J. W.; HOVDE, C. J. A brief overview of Escherichia coli O157:H7 and its plasmid O157. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 20, n. 1, p. 1–10, 2010.

LOPEZ, G. U. et al. Transfer Efficiency of Bacteria and Viruses from Porous and Nonporous Fomites to Fingers under Different Relative Humidity Conditions. v. 79, n. 18, p. 5728–5734, 2013.

LUNDOV, M. D. et al. Contamination versus preservation of cosmetics: A review on legislation, usage, infections, and contact allergy. **Contact Dermatitis**, v. 60, n. 2, p. 70–78, 2009.

MARANGONI, F. et al. COMPARATIVO ECONÔMICO ENTRE CONDICIONADORES DE AR COM TECNOLOGIAS CONVENCIONAL E INVERTER. 2015.

MARTÍNEZ-HERRERA, E. O. et al. Fungal diversity and *Aspergillus* species in hospital environments. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 23, n. 2, p. 264–269, 2016.

MCDANEL, J. et al. Incidence of extended-spectrum β -Lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *klebsiella* infections in the United States: A systematic literature review. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 38, n. 10, p. 1209–1215, 2017.

MCDOWALL, R. **Fundamentals of HVAC Systems: SI Edition**. [s.l: s.n.].

MEADOW, J. F. et al. Indoor airborne bacterial communities are influenced by ventilation , occupancy , and outdoor air source. p. 41–48, 2014a.

MEADOW, J. F. et al. Bacterial communities on classroom surfaces vary with human contact. p. 1–7, 2014b.

MEMARZADEH, F. Literature Review: Room Ventilation and Airborne Disease Transmission. 2013.

MOBIN, M. Microbiota fúngica dos condicionadores de ar nas unidades de terapia intensiva de Teresina , PI Fungus microbiota in air conditioners in intensive care units in Teresina , Piauí. v. 39, n. 6, p. 556–559, 2006.

MOURA, A. DOS S. et al. Resistência bacteriana associada aos casos de infecção hospitalar na Santa Casa de Misericórdia de Passos (MG): estudo de caso. **Ciência et Praxis**. p. 95–106, 2018.

NG, T. W. et al. Skin squames contribute to ammonia and volatile fatty acid production from bacteria colonizing in air-cooling units with odor complaints. **Indoor Air**, v. 28, n.

2, p. 258–265, 2018.

OGAWA, W. et al. Multidrug resistance in *Klebsiella pneumoniae* MGH78578 and cloning of genes responsible for the resistance. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, n. 8, p. 1505–1508, 2005.

PATRONE, V. et al. In vitro synergistic activities of essential oils and surfactants in combination with cosmetic preservatives against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. **Current Microbiology**, v. 60, n. 4, p. 237–241, 2010.

PETERS, B. M. et al. Microbial interactions and differential protein expression in *Staphylococcus aureus* -*Candida albicans* dual-species biofilms. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 59, n. 3, p. 493–503, 2010.

RADULESCO, T. et al. A Case of Fungus Ball-Type Maxillary Sinusitis Due to *Penicillium Roqueforti*. **Mycopathologia**, v. 183, n. 2, p. 439–443, 2018.

RASMUS V. RASMUSSEN, VANCE G. FOWLER JR., ROBERT SKOV, AND N. E. B. Future challenges and treatment of *Staphylococcus aureus* bacteremia with emphasis on MRSA. v. 6, n. 1, p. 43–56, 2012.

SARDI, J. C. O. et al. *Candida* species: Current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. **Journal of Medical Microbiology**, v. 62, n. PART1, p. 10–24, 2013.

SCHLECHT, L. M. et al. Systemic *Staphylococcus aureus* infection mediated by *Candida albicans* hyphal invasion of mucosal tissue. **Microbiology (United Kingdom)**, v. 161, n. 1, p. 168–181, 2015.

SERVICES, H. Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities Recommendations of CDC and the Healthcare Centers for Disease Control and Prevention Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC) Guidelines for Environmental. n. February, 2004.

SGANGA, G. et al. Focus on the prophylaxis, epidemiology and therapy of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* surgical site infections and a position paper on associated risk factors: The perspective of an Italian group of surgeons. **World**

Journal of Emergency Surgery, v. 11, n. 1, p. 1–13, 2016.

SHAMS-GHAHFAROKHI, M. et al. Investigation on distribution of airborne fungi in Outdoor environment in Tehran, Iran. **Journal of Environmental Health Science and Engineering**, v. 12, n. 1, p. 1–7, 2014.

SIMÕES E SILVA, A. C.; OLIVEIRA, E. A.; MAK, R. H. Urinary tract infection in pediatrics: an overview. **Jornal de Pediatria**, v. 96, p. 65–79, 2019.

SMITH, N. L.; DENNING, D. W. Underlying conditions in chronic pulmonary aspergillosis including simple aspergilloma. **European Respiratory Journal**, v. 37, n. 4, p. 865–872, 2011.

SOOD, G. et al. Pseudo-outbreak of Penicillium in an outpatient obstetrics and gynecology clinic. **American Journal of Infection Control**, v. 45, n. 5, p. 557–558, 2017.

SPIRU, P.; SIMONA, P. L. A review on interactions between energy performance of the buildings , outdoor air pollution and the indoor air quality. **Energy Procedia**, v. 128, p. 179–186, 2017.

SYDNOR, E. R. M.; PERL, T. M. Hospital epidemiology and infection control in acute-care settings. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 1, p. 141–173, 2011.

TACCONELLI, E. et al. Does antibiotic exposure increase the risk of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) isolation? A systematic review and meta-analysis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 61, n. 1, p. 26–38, 2008.

TANG, J. W. The effect of environmental parameters on the survival of airborne infectious agents. n. September, 2009.

TAVARES, M. DA C. et al. Central de material e esterilização em hospitais pontos a observar e erros a evitar. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 32, n. 2, p. 230–238, 1979.

TONG, S. Y. C. et al. Staphylococcus aureus infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 3, p. 603–661, 2015.

TZOUVELEKIS, L. S. et al. KPC-producing, multidrug-resistant klebsiella pneumoniae sequence type 258 as a typical opportunistic pathogen. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, n. 10, p. 5144–5146, 2013.

ULLMANN, U.; PODSCHUN, R. Klebsiella spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. v. 11, n. 4, p. 589–603, 1998.

WANG, S. K. **Handbook of Air Conditioning and Refrigeration**. [s.l: s.n.].

WARRIS, A.; BERCUSSON, A.; ARMSTRONG-JAMES, D. Aspergillus colonization and antifungal immunity in cystic fibrosis patients. **Medical Mycology**, v. 57, p. S118–S126, 2019.

WEINBERGER, M. et al. Characteristics of candidaemia with *Candida-albicans* compared with non-*albicans* *Candida* species and predictors of mortality. **Journal of Hospital Infection**, v. 61, n. 2, p. 146–154, 2005.

XU, C.; LIU, L. Indoor and Built Personalized ventilation : One possible solution for airborne infection control in highly occupied space ? v. 27, n. 7, p. 873–876, 2018.

Y. LI, G. M. LEUNG, J. W. TANG, X. YANG, C. Y. H. CHAO, J. Z. LIN, J. W. LU, P. V. NIELSEN, J. NIU, H. QIAN, A. C. SLEIGH, H.-J. J. SU, J. SUNDELL, T.W. WONG, P. L. Y. Role of ventilation in airborne transmission of infectious agents in the built environment – a multidisciplinary systematic review. n. March 2006, p. 2–18, 2007.

ZADIK, Y. et al. Colonization of *Candida*: Prevalence among tongue-pierced and non-pierced immunocompetent adults. **Oral Diseases**, v. 16, n. 2, p. 172–175, 2010.

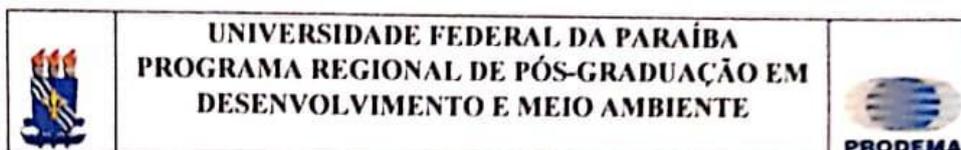
ZAGO, C. E. et al. Dynamics of biofilm formation and the Interaction between *Candida albicans* and methicillin-susceptible (MSSA) and -resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **PLoS ONE**, v. 10, n. 4, p. 1–15, 2015.

ZINGG, W. et al. Hospital organisation, management, and structure for prevention of health-care-associated infection: A systematic review and expert consensus. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 15, n. 2, p. 212–224, 2015.

ZUO, J. et al. Impacts of heat waves and corresponding measures: A review. **Journal**

of Cleaner Production, v. 92, p. 1–12, 2015.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Em: 20 de janeiro de 2020

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

Prezado(a) Senhor(a)

Esta pesquisa intitulada "QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO AR EM AMBIENTE HOSPITALAR EM JOÃO PESSOA-BRASIL", tendo como pesquisador pós-graduando HERMANO ZENAIDE NETO (email hermanozenaide@gmail.com; cel 83 99956-9851) sob a orientação do Prof. Dr. JOSÉ SOARES DO NASCIMENTO, da Universidade Federal da Paraíba (email jsnufpel@hotmail.com cel 83 98610-2907). O trabalho tem como objetivo geral **Analisar os riscos de contaminação microbiana do ambiente hospitalar estudado**, sendo o projeto de dissertação apresentado ao Programa Regional de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente – PRODEMA – da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Desenvolvimento e Meio Ambiente ao pesquisador. Solicitamos a sua colaboração para participar da pesquisa, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos acadêmicos e publicações científicas. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome e o nome da instituição será mantido em sigilo.

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido(a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

Diogo Santos de Azevedo Local J. Pessoa, 13/03/20

Participantes da Pesquisa

Atenciosamente,

Hermano Zenaide Neto

(Nome do(a) Estudante Responsável)

Prof. Dr. José Soares Do Nascimento
Departamento de Fisiologia e Patologia
CCS/UFPB – SIAPE 1086661

José Soares do Nascimento

(Nome do(a) Professor Responsável)