

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DA SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS MÉDICAS
CURSO DE MEDICINA**

MONOGRAFIA

**TÍTULO: ANÁLISE MICROBIOLÓGICA FÚNGICA DO CENTRO
CIRÚRGICO DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO ALCÍDES
CARNEIRO**

Ana Elisabeth Figueiredo Alencar de Melo

Campina Grande, 15 de setembro de 2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DA SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS MÉDICAS
CURSO DE MEDICINA**

MONOGRAFIA

**TÍTULO: ANÁLISE MICROBIOLÓGICA FÚNGICA DO CENTRO
CIRÚRGICO DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO ALCÍDES
CARNEIRO**

Ana Elisabeth Figueiredo Alencar de Melo

Monografia à ser apresentada para banca examinadora como parte dos requisitos necessários para conclusão do curso de medicina da Universidade Federal de Campina Grande sob orientação da professora Cristina Ruan Ferreira de Araújo

Campina Grande, 15 de setembro de 2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DA SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS MÉDICAS
CURSO DE MEDICINA**

ORIENTADORA: DR^a CRISTINA RUAN FERREIRA DE ARAÚJO

Monografia à ser apresentada para banca examinadora como parte dos requisitos necessários para conclusão do curso de medicina da Universidade Federal de Campina Grande sob orientação da professora Cristina Ruan Ferreira De Araújo

Campina Grande, 15 de setembro 2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA SETORIAL HUAC - UFCG

M528a

Melo, Ana Elisabeth Figueiredo Alencar de
Análise microbiológica fúngica do Centro Cirúrgico do Hospital
Universitário Alcides Carneiro / Ana Elisabeth Figueiredo Alencar de
Melo. — Campina Grande, 2013.
52 f.

Monografia (Graduação em Medicina) – Universidade Federal de
Campina Grande, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Unidade
Acadêmica de Ciências Médicas, Curso de Medicina, Campina Grande,
2013.

Orientação: Prof.^a Cristina Ruan Ferreira de Araújo.

1. Infecção hospitalar. 2. Fungos. 3. Microbiologia.
I. Araújo, Cristina Ruan Ferreira de. II. Título.

CDU 616.9

DEDICATÓRIA

Dedico esta Monografia a minha família que em todos os momentos tem dado grande incentivo ao meu desenvolvimento intelectual. Sem vocês eu não teria compreendido a importância do saber para construção de uma civilização melhor.

AGRADECIMENTOS

Aos Mestres, âncora do saber, que contribuíram na minha formação de profissionalismo e de caráter.

À minha orientadora, Cristina Ruan Ferreira de Araújo, pela participação durante o planejamento e a execução de todas as atividades de pesquisa, e pelo empenho e dedicação nas diversas análises desta Monografia.

Aos colaboradores do Centro Cirúrgico do Hospital Alcides Carneiro e do Laboratório Multidisciplinar do Centro de Ciências Biológicas da Saúde, onde este projeto foi desenvolvido e realizado, por todo apoio e contribuição.

RESUMO

Nos últimos anos, houve acentuado aumento no número de infecções graves causadas por fungos tradicionalmente considerados não-patogênicos, principalmente devido aumento do número de pacientes imunossuprimidos. A identificação e o controle destes fungos no centro cirúrgico, local de procedimentos invasivos e, portanto, com maior potencial de contaminação, é de fundamental importância para o controle de infecção hospitalar. Foram isoladas várias amostras de fungos presentes no centro cirúrgico do Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC), com a utilização de swabs estéreis que posteriormente foram colocados em tubos estéreis contendo 10 ml de caldo Sabouraud. A identificação dos gêneros foi realizada pela observação dos aspectos macroscópicos da colônia (cor, textura, pigmentação) e microscópicos, através da morfologia e organização das hifas e esporos. Houve positividade fúngica em 42% das amostras, sendo identificados os gêneros *Aspergillus spp.*, *Candida spp.*, *Fusarium spp.*, *Trichosporon spp.*, *Cryptococcus spp.*, *Coccidioides spp.* e *Trichophyton spp.* Os resultados apresentaram um índice elevado dos patógenos oportunistas. De tal forma que o projeto poderá auxiliar a vigilância hospitalar no combate das infecções hospitalares, causa ainda de grande morbidade e mortalidade.

Palavras-chave: infecção hospitalar, fungos, microbiologia

ABSTRACT

FUNGUS MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF HOSPITAL UNIVERSITÁRIO ALCIDES CARNEIRO SURGICAL CENTER

In recent years, there was marked increase in the number of serious infections caused by fungi that are traditionally considered non-pathogenic, mainly due to increased number of immunosuppressed patients. Identification and control of these fungi in the operating room, place of invasive procedures and therefore more potential for contamination, is of fundamental importance for hospital infection control. Were isolated from several samples of fungi present in the operating room of University Hospital Alcides Carneiro (HUAC), using sterile swabs that were subsequently placed in sterile tubes containing 10 ml of Sabouraud broth. The identification of the genera was performed by macroscopic observation of the colony (color, texture, pigmentation) and microscopic morphology and organization through the hyphae and spores. There was positive in 42% of fungal samples, and identify the *Aspergillus spp.*, *Candida spp.*, *Fusarium spp.*, *Trichosporon spp.*, *Cryptococcus spp.*, *Coccidioides spp.* and *Trichophyton spp.* The results showed a high rate of opportunistic pathogens. So that the project helped the hospital surveillance to combat hospital-acquired infections still cause high morbidity and mortality.

Keywords: hospital infection, fungi, microbiology

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Crescimento e identificação fúngica nos respectivos locais e momentos de coleta (HUAC, Campina Grande-PB, 2011).....pág. 14

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Prevalência dos gêneros fúngicos obtida na amostrapág. 15

LISTA DE ABREVIATURAS

HUAC: Hospital Universitário Alcides Carneiro
UFCG: Universidade Federal de Campina Grande
IH: Infecção Hospitalar
ISC: Infecção de Sítio Cirúrgico
EUA: Estados Unidos da América
CCIH: Comissão de Controle Infecção Hospitalar
PCIH: Programa de Controle de Infecção Hospitalar
ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária
MS: Ministério da Saúde
CDC: Center for Disease Control
HEPA: High Efficiency Particulate Air
AIDS: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
BHI: Brain Heart Infusion
ASD: Ágar Sabouraud Dextrose
KOH: Hidróxido de Potássio
SNC: Sistema Nervoso Central

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Termo de Autorização Institucional	pág. 24
Anexo 2. Termo de Autorização Setorial	pág. 25

ÍNDICE

Introdução	1
Revisão da literatura	3
Material e Métodos	10
Resultados	13
Discussão	16
Conclusão	18
Referências Bibliográficas	19
Anexos	23

INTRODUÇÃO

Nos trópicos, as condições de temperatura e umidade elevadas estimulam a proliferação de uma microbiota abundante e diversificada, e dentro dela, destacam-se microorganismos oportunistas e patogênicos do ambiente hospitalar, favorecendo a instalação e disseminação de infecções intra-hospitalares (CATÃO et al., 1998).

Um dos maiores desafios do sistema de saúde mundial são as elevadas taxas de infecção relacionadas ao atendimento hospitalar. Segundo Portaria nº 2.616 de maio de 1998 vigente no Brasil, consideramos Infecção Hospitalar (IH) todo quadro infeccioso adquirido após a admissão hospitalar, e que se manifeste durante a internação ou após a alta, quando este puder ser relacionada com a internação ou com procedimentos nosocomiais realizados (BRASIL, 1998).

Quanto a sua etiopatogênia, as patologias infecciosas podem resultar de um desequilíbrio entre a microbiota endógena primária, normalmente presente sobre a pele e mucosas, por exemplo, e as defesas individuais do paciente ou, ainda, de uma agressão por microorganismos exógenos adquiridos por meio de procedimentos invasivos ou por contato direto ou indireto com outros pacientes, profissionais de saúde ou ambiente hospitalar, incluindo o ar, a água e as superfícies inanimadas que o cercam durante o período de internação (SILVA et al., 2009).

A contaminação fúngica em centro cirúrgico geralmente tem o ar como o maior fator de risco para Infecção de Sítio Cirúrgico (ISC). O controle da contaminação do ar deve ser realizado pela equipe de controle de infecção, sendo que até o presente não há consenso internacional sobre um método de rotina para monitorização em áreas hospitalares com ar filtrado (KNOBBEN et al., 2006). A gravidade da ISC vai depender da dose adquirida de microrganismo, da virulência do patógeno e do nível de resistência do paciente. O risco para infecção de sítio cirúrgico é considerado elevada quando a contaminação exceder 10^5 organismos por grama de tecido (OWENS et al., 2008).

A escassez de dados regionais justificou a necessidade de uma análise microbiológica do centro cirúrgico do Hospital Universitário Alcides Carneiro

(HUAC), hospital escola da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), que à época dispunha de 4 salas de cirurgias, sendo uma exclusiva de cirurgia cardíaca, nas quais um amplo espectro de cirurgias e procedimentos eram realizados, como por exemplo: cirurgia geral, ortopédica, cardíaca, urológica, ginecológica, otorrinolaringológica, plástica, oncológica, mastológica, torácica e exames: colonoscopia, endoscopia com necessidade de sedação e histeroscopia. Trata-se de um hospital de referência no estado da Paraíba, albergando normalmente pacientes com processos patológicos de média e grande complexidade, no qual eram realizadas em média de 250 cirurgias ao mês (10 a 15 por dia), dispondo de 182 leitos hospitalares, sendo 37 leitos cirúrgicos. De tal forma que o referido projeto atuou auxiliando na vigilância e no combate das IHS com a realização da pesquisa de contaminação fúngica no centro cirúrgico no período de Novembro de 2010 a Maio de 2011.

REVISÃO DA LITERATURA

As Infecções Hospitalares (IHs) representam um sério problema de saúde desde os primórdios do atendimento hospitalar, quando ainda não se dispunha de respaldo científico e conhecimento microbiológico que se justificasse essa afecção, estando associada a elevadas taxas de morbimortalidade e aumento no tempo de permanência hospitalar, o que representa ônus direto e indireto às políticas públicas de saúde (ANDRADE; ANGERAMI, 1999).

As taxas médias de IH variam conforme o país em análise, o nível de atendimento e a complexidade de cada unidade hospitalar e o tipo de vigilância adotado em cada serviço (PEREIRA et al., 1996). No Brasil, o índice médio de IH é de 15,5%, sendo a maior taxa de prevalência, 18,4%, encontrada entre as instituições públicas de saúde (MOURA, 2007), valores bem superiores àqueles encontrados em países desenvolvidos como os Estados Unidos da América (EUA) no qual a taxa global de infecção varia de 5 a 10%, resultando em aproximadamente 80 mil mortes e um custo adicional anual de 4 bilhões de dólares (YALCIN, 2003).

Segundo estudos comparativos, hospitais de ensino têm uma tendência a apresentar taxas maiores de IH. Uma pesquisa envolvendo a Inglaterra, Escócia, País de Gales e Irlanda, revelou um incremento das taxas de IH em hospitais universitários em torno de 2,8% em relação aos demais hospitais que obtiveram índice médio de 8,4% (BRONDI et al., 2009).

A problemática envolvendo as IHs datam de tempos remotos quando no ano de 325 d.C o confinamento de enfermos em um ambiente hospitalar facilitou a transmissão de doenças epidêmicas, prevalentes na época, como a febre tifóide, a varíola e a peste (PERSON et al., 2005). No transcorrer dos séculos, apesar de ainda não se dispor de noções de Microbiologia percebeu-se a associação entre hospitalização e infecção.

No século XVIII, as constatações de que as condições físicas disponibilizadas nos serviços de internação poderiam servir como fonte de contágio para algumas patologias transmissíveis impulsionaram as práticas de controle e vigilância da transmissão das doenças. Investimentos nesse sentido associados aos avanços nos conhecimentos dos microorganismos envolvidos

tornaram-se uma constante, possibilitando a adoção de medidas de intervenção que almejam o controle das IHs (ANDRADE; ANGERAMI, 1999).

A primeira comissão de controle de infecção hospitalar do Brasil foi instalada em um hospital da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, em 1963, como uma iniciativa isolada. Na década de 1970, ainda de forma isolada, alguns hospitais começaram a se preocupar com as infecções hospitalares, estabelecendo algumas medidas de prevenção e controle (SILVA; SANTOS, 2001). A partir da década de 1980, todavia, o assunto torna-se objeto de estudo e ações governamentais (SANTOS et al., 2005). A primeira intervenção governamental a nível nacional se deu a partir da Portaria de nº196 de junho de 1983 (BRASIL, 1985) na qual o Ministério da Saúde (MS) normatizou que as instituições hospitalares deveriam manter uma Comissão de Controle Infecção Hospitalar (CCIH), mas somente em 1997 a existência de um Programa de Controle de Infecção Hospitalar (PCIH) em todos os hospitais do país passou a ser obrigatória pela Lei nº. 9.431/97 (BRASIL, 1997), tendo suas práticas preventivas e de vigilância normatizadas a partir do ano de 1998 (BRASIL, 1998).

É atribuída em caráter legal a CCIH a tarefa de vigilância epidemiológica das IHs, compreendendo diagnóstico, notificação e confecção de relatórios; investigação de surtos; medidas de isolamento e precauções para evitar a disseminação de doenças contagiosas; adequação e supervisão de normas técnicas, visando a prevenção e tratamento das IHs; definição de regras para prescrição de antimicrobianos e elaboração de protocolos clínicos para o tratamento e manejo das IHs (FERNANDES, 2008).

Em um estudo envolvendo 4.118 (61,3%) hospitais brasileiros, públicos e privados, realizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em parceria com a Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, visando dimensionar o andamento das atividades desenvolvidas pelas CCIHs para a partir daí definir estratégias de aperfeiçoamento da prevenção e investigação das infecções, foi constatado que do total de estabelecimentos que possuíam CCIH (76,1%), apenas 72,6% investigavam os casos de IH e desses um percentual significativo (81,3%) investigava os casos por meio de metodologia ativa preconizada pelo Ministério da Saúde (MS), analisando resultado de exames microbiológicos, prontuários de pacientes, dispensação

de materiais médico-hospitalares, antimicrobianos e soluções parenterais de grande volume feitas pelo serviço de farmácia, laudos de exames radiológicos, tomográficos, endoscópicos, de patologia dentre outros (ANVISA, 2009).

Sobre a eficácia dos programas de controle das IHS, o *Center for Disease Control* (CDC) de Atlanta - EUA desenvolveu um estudo nacional para avaliação da abrangência e eficácia dos programas de controle de IH, tornando válidos marcadores epidemiológicos e a capacidade desses programas em alcançarem uma redução nas taxas dessas infecções, sendo constatado que nas instituições com comissões de controle atuantes, a queda relativa na taxa de infecção chegou a 32%, enquanto que nos serviços sem um programa efetivo as taxas sofreram um acréscimo de até 18% (SMITH et al., 2008; WRIGHT et al., 2010).

A Infecção do Sítio Cirúrgico pode ser definida como, uma infecção que ocorre com até 30 dias, ocorrida a operação cirúrgica (ou com até um ano, caso haja deposição de um implante no procedimento cirúrgico) tendo sido afetado apenas a incisão ou até tecidos mais profundos, do sítio cirúrgico. Essas infecções podem ser superficiais ou profundas, com relação à incisão, ou envolver órgãos ou partes do corpo (SILVA et al., 2009). É observado que a baixa incidência de ISC, se deve a procedimentos minimamente invasivos que incluem as pequenas incisões, mobilização não tardia, redução de esforços pós-operatórios, melhor preservação do funcionamento do sistema imune, e diminuição do uso de acessos venosos centrais (OWENS et al., 2008). Variações inerentes a classificação por potencial de contaminação da ferida operatória, se limpa, potencialmente contaminada, contaminada ou infectada, representam um importante fator a ser analisado ao abordar esta infecção (OLIVEIRA, 1999).

A ISC é uma complicação relevante, por contribuir para o aumento da mortalidade e morbidade dos pacientes pós-cirúrgicos, causando prejuízos físicos, emocionais, como seu afastamento do trabalho e do convívio social. Além disso, eleva consideravelmente os custos com o tratamento, repercutindo também em uma maior permanência hospitalar. Apesar de ser a complicação mais comum de uma cirurgia, a ISC deve ser evitada e a sua ocorrência deve estar dentro dos níveis aceitos pelos órgãos competentes. Estima-se que o tempo médio de permanência em ambiente hospitalar de um paciente com ISC

seja aproximadamente o dobro do tempo médio de internação de um paciente não-contaminado, representados por 11 e 6 dias em média, respectivamente (SILVA et al., 2009), o que ocasiona um custo adicional médio três vezes maior entre os pacientes com infecção (MOURA et al., 2007).

A adoção de algumas intervenções com enfoque na redução dos riscos de ISC inclui medidas que evitem a contaminação da ferida cirúrgica por bactérias e fungos, entre essas podem ser destacadas: a manutenção do fluxo de ar filtrado, consideração da utilização da tecnologia de fluxo laminar, e redução do tráfego de pessoas na sala cirúrgica, bem como manejo adequado dos materiais dentro da sala operatória, uso de gorros, propés pela equipe, e um rigoroso controle da abertura da porta enquanto o paciente estiver sob manipulação no campo operatório são algumas das medidas relevantes que interferem consideravelmente no índice de ISC.

Como medida de suporte, a identificação dos microorganismos implicados nos processos infecciosos pode fornecer, entre outras informações, o perfil de suscetibilidade antimicrobiana dos patógenos envolvidos em infecções inerentes a determinados ambientes, favorecendo o uso racional de antimicrobianos. Ainda, tendo em vista que vários fatores estão implicados na interação entre o fármaco, o patógeno e o paciente, é que, na maioria das vezes, se torna indispensável uma análise consensual do médico e do microbiologista para que a conduta terapêutica adotada seja a mais adequada possível, contribuindo assim para a prevenção da emergência de cepas resistentes e sua disseminação no ambiente hospitalar (MENEZES et al, 2007).

Dentre todos os recursos utilizáveis para detecção e controle da infecção hospitalar, o laboratório de microbiologia clínica é preponderante. Classicamente, a maioria dos isolados é de origem bacteriana, mas impulsionados por diversos fatores de risco, os fungos passaram a uma posição de destaque no contexto das infecções hospitalares. A inclusão desses agentes no *Antimicrobial Surveillance Program*, um programa de vigilância epidemiológica multinacional, longitudinal e prospectivo que visa determinar a etiologia de patógenos nosocomiais e o perfil de sensibilidade a antimicrobianos, a partir de procedimentos de diagnóstico laboratorial e biologia molecular, bem como protocolos de referência quantitativos, comprovam essa maior importância (PFALLER et al., 2001).

Os fungos são organismos eucariontes, aclorofilados, uni ou pluricelulares, tipicamente filamentosos em pelo menos algum estágio de vida, em sua maioria sapróbios e, em alguns casos, parasitas ou simbiotes. Estes seres são organismos ubíquos, sendo encontrados em vegetais, em animais, em outros fungos, no solo, na água e no ar, desempenhando um papel ativo na ciclagem de compostos orgânicos e inorgânicos na natureza. O ar atmosférico torna-se, via de regra, o meio de dispersão mais utilizado e mais bem sucedido dos fungos, não se resumindo apenas aos esporos. Não existem ambientes livres da presença fúngica, pois estes se propagam em locais habitados, além de poderem sobreviver a grandes variações de temperatura, baixa taxa de umidade, em grandes variações de pH e em baixas concentrações de oxigênio, sendo comum a exposição a propágulos fúngicos e seus metabólitos, principalmente em ambientes internos como escritórios, escolas, hospitais e residências (LOBATO et al., 2009).

As edificações construídas nas últimas décadas instalaram sistemas de ar-condicionado central, no entanto estes podem conter fungos capazes de sobreviver em ambientes secos por longos períodos. A colonização desses aparelhos por fungos depende das umidades relativa e atmosférica, de materiais biológicos e do local geográfico (GUPTA et al., 2003). O gênero *Aspergillus spp.* foi encontrado nestes sistemas, sendo responsabilizados por surtos de IH. Evidencia-se a necessidade de medidas de controle da qualidade do ar em ambientes hospitalares climatizados (CATÃO et al., 1998).

Os padrões e normas para manutenção da qualidade do ar em ambientes hospitalares exigem cuidados importantes como: salas de operação com isolamento protetor e pressão positiva (2.5 atm); renovação de ar com mais que 12 trocas de ar externo/ hora com uso de filtros do tipo HEPA (High Efficiency Particulate Air); localização da fonte de captação de ar longe de fontes poluentes, fezes de pombos, vegetação abundante e construções; limpeza mensal dos componentes do sistema de climatização, quinzenal para os componentes hídricos e semestrais para a o sistema de dutos de ar e forros falsos (AFONSO et al., 2004).

As infecções hospitalares causadas por fungos têm-se constituído num problema crescente de saúde pública em muitos países. Por exemplo, nos Estados Unidos, a prevalência de infecções fúngicas passou de 6% em 1980

para 10,4% em 1990, segundo o Sistema Nacional de Vigilância das Infecções Hospitalares daquele país. Destas, cerca de 80% foram causadas por leveduras do gênero *Candida* (MALUCHE; SANTOS, 2008).

Há consenso na literatura sobre o aumento na incidência das infecções fúngicas invasivas e alteração no espectro dos agentes etiológicos. Em consequência do profundo comprometimento dos mecanismos de defesa dos hospedeiros hospitalizados, fungos encontrados no ambiente hospitalar passaram a se comportar como oportunistas, sendo capazes de causar quadros infecciosos de alta letalidade. Dentre essas infecções, aquelas produzidas pelo gênero *Candida* spp. são as mais importantes causas de morbidade e mortalidade nos pacientes hospitalizados, representando quase 90% de todos os processos fúngicos nosocomiais (ROSA et al., 2008).

Apesar de a *Candida albicans* ser responsável pela maioria das infecções, tem sido relatada a ocorrência de espécies não-*albicans* que, apesar de serem menos invasivas e virulentas, mostram menor sensibilidade aos antifúngicos (KULLBERG; OUDE-LASHOF, 2002). Outros fungos como *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Scedosporium* spp., *Hifomicetos dematiaceae* e *Zygomycota* são também cada vez mais reconhecidos como fontes de infecção hospitalar (RICHARDSON; LASS-FLÖRL, 2008).

Colombo (2002) afirma que a septicemia por fungos é o tipo de infecção hospitalar com maior índice de mortalidade. Embora seja letal em 60% das ocorrências, pouco se sabe sobre o assunto e ainda não há um meio eficiente de erradicá-los. De acordo com seus estudos, pelo menos 10% dos casos de contaminação do sangue contraídos em internações hospitalares são causados diretamente por fungos. Os catéteres e as sondas que perfuram vasos sangüíneos dos pacientes podem fazer com que os fungos se espalhem pelo sistema circulatório. Tratamentos invasivos (como a diálise) e cirurgias no aparelho digestivo estão entre os principais riscos que os pacientes correm de serem atacados por infecções fúngicas. Os pacientes imunossuprimidos são os mais acometidos. Faz-se necessário a identificação e quantificação de esporos dos fungos ambientais habitualmente oportunistas, como os anemófilos hospitalares, para que haja avanços no diagnóstico e no desenvolvimento de novos métodos de abordagem de infecções hospitalares (CARMO et al., 2007).

Essa maior incidência de micoses invasivas tem sido acompanhada pelo fenômeno de resistência aos antifúngicos (SWINNE et al., 2009). Na década de 80, os primeiros relatos de resistência ocorreram em pacientes com candidíase mucocutânea crônica tratados com cetoconazol por longos períodos de tempo (ODDS, 1993). No entanto, o desenvolvimento de resistência aos antifúngicos azólicos parece ter sido, efetivamente, resultado do prolongado e repetido uso de fluconazol para o tratamento da candidíase oral e esofagiana em pacientes com AIDS com baixa contagem de células CD4+, no período anterior ao surgimento da terapia antiretroviral de alta potência (CASALINUOVO et al., 2004). Mais recentemente, o emprego maciço de antifúngicos em tratamentos empíricos e profilaxia de pacientes neutropênicos trouxe novo contexto clínico ao problema da resistência aos antifúngicos (NUCCI; PERFECT, 2008).

Neste contexto de informação escassa, estudos que investiguem a história natural das infecções fúngicas invasivas e avaliem seu impacto no ambiente hospitalar apresentam uma comunicação direta com a vigilância sanitária e epidemiológica, já que podem subsidiar o estabelecimento de medidas capazes de diminuir ou relativizar o risco desses processos ocorrerem (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003). Assim, para a prevenção dessas infecções e recomendação e/ou adoção de medidas de controle nosocomial é fundamental o conhecimento dos fatores determinantes de infecções fúngicas invasivas e dos mecanismos pelos quais os indivíduos se defrontam com os agentes causais (TAMBELLINI; CÂMARA, 2002).

MATERIAL E MÉTODO

MATERIAL

Local de estudo

As coletas da amostra fúngica foram realizadas nas quatro salas (A, B, C e D) do centro cirúrgico do Hospital Universitário Alcides Carneiro, sendo que na última coleta houve disponibilidade de apenas duas delas (A e D) devido a reformas nas demais. A avaliação microbiológica foi realizada no Laboratório Multidisciplinar do Centro de Ciências Biológicas da Saúde.

Coleta do material

Previamente, testes pilotos foram realizados no centro cirúrgico para a seleção dos locais com maior colonização fúngica. Então, elegeu-se como locais de coleta: piso, interruptor de luz, haste do soro, foco e mesa cirúrgica com swabs estéreis, que entraram em contato com uma área de aproximadamente 5x5cm² (adaptado de Lemmen et al., 2004); posteriormente foram colocados em tubos estéreis contendo 10 ml de caldo de ágar BHI (Brain Heart Infusion) para obtenção de culturas melhor desenvolvidas. Os dias de coleta foram escolhidos de forma aleatória, não havendo aviso prévio à equipe cirúrgica.

MÉTODO

Delineamento do estudo

Consta de um estudo do tipo experimental casualizado.

Avaliação microbiológica

I) Semeadura

O material foi semeado na proporção de 0,1 ml de Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) e distribuído na superfície da placa de Petri com *alça de Drigalsky*. Os meios foram incubados em condições de aerobiose em estufa bacteriológica a 28°C durante um período de 96 horas.

II) Identificação

Para identificação das estruturas foi realizada a cultura das amostras para isolamento dos fungos e o exame microscópico direto.

Na cultura, realizou-se o estudo da macromorfologia fúngica através da pigmentação, textura, consistência e forma do verso e reverso das colônias desenvolvidas e da velocidade de crescimento das mesmas. Pela micromorfologia, através do microcultivo, foram visualizadas as estruturas fúngicas de reprodução, como hifas vegetativas, conídios e esporos, o que proporcionou o acréscimo de dados necessários para a correta identificação das colônias selecionadas nas placas de coleta, que foram inicialmente analisadas pela macromorfologia (BARNETT, 1956; WEBSTER, 1970; BOOTH, 1971; ALMEIDA, 1988; SILVEIRA, 1989; SING et al., 1991; MENEZES, OLIVEIRA, 1993).

Para o microcultivo foi empregada uma câmara úmida, através da utilização de placas de *Petri* contendo um disco ou bloco de ASD, onde foram inoculados fragmentos da colônia do fungo, sendo esse disco então recoberto com uma lamínula esterilizada (RIDDEL, 1950). As placas foram acondicionadas à temperatura ambiente, por um breve período de incubação, que variou de 4 a 5 dias, sendo também necessário o acompanhamento diário, para manter essas placas sempre em câmara úmida, através da adição de água estéril (cerca de 2 ml) a pedaços de papel de filtro ou de algodão colocados dentro da placa do microcultivo (LACAZ, 1991). Para observação das estruturas fúngicas através da microscopia óptica, foi necessário a retirada da lamínula do microcultivo, transferindo-a para uma nova lâmina contendo o corante azul de metileno, em quantidade suficiente para corar o material fúngico aderido na lamínula. Alternativamente pôde-se utilizar a lâmina do microcultivo, havendo crescimento.

No exame microscópico direto, colocou-se uma gota de hidróxido de potássio (KOH aquoso a 20%) em uma lâmina de microscopia e sobre esta, uma porção da amostra a ser examinada. Cobriu-se a preparação com uma lamínula e, para intensificar a clarificação, aqueceu-se ligeiramente, sobre a chama de um bico de Bunsen, sem deixar ferver a mistura. Examinou-se a

preparação após 20 minutos, em um microscópico óptico comum, inicialmente, com ojetiva de 10x, seguida de 40x.

A identificação dos gêneros fúngicos foi obtida com base na caracterização da morfologia dos conídios, conidióforos e outras estruturas microscópicas, em associação aos dados previamente obtidos na distinção macroscópica do crescimento de cada colônia (HOOG et al., 2000).

RESULTADOS

Houve crescimento fúngico em 21 (42%) das 50 amostras colhidas (Tabela 1), sendo um índice elevado para centro cirúrgico. Foram identificados 7 gêneros fúngicos, encontrados na seguinte proporção: *Aspergillus spp.*(57,14%), *Candida spp.*(9,52%), *Fusarium spp.*(9,52%), *Trichosporon spp.*(9,52%), *Cryptococcus spp.*(4,76%), *Coccidioides spp.*(4,76%) e *Trichophyton spp.*(4,76%) (Figura 1). Houve prevalência de fungos oportunitas (*Aspergillus spp.*, *Candida spp.*, *Fusarium spp.*, *Trichosporon spp.*, *Cryptococcus spp.*) e presença de fungos primariamente tidos como sistêmico (*Coccidioides spp.*) e cutâneo (*Trichophyton spp.*), conforme proporção esperada para ambiente hospitalar.

Tabela 1. Crescimento e identificação fúngica nos respectivos locais e momentos de coleta (HUAC, Campina Grande-PB, 2011)

Sala	Superfície	Coleta I	Coleta II	Coleta III
A	Piso	<i>Aspergillus spp.</i>	(-)	<i>Fusarium spp.</i>
	Foco	<i>Fusarium spp.</i>	<i>Aspergillus spp.</i>	(-)
	Mesa Cirúrgica	<i>Candida spp.</i>	(-)	(-)
	Interruptor	(-)	<i>Aspergillus spp.</i>	(-)
	Haste do Soro	(-)	(-)	(-)
B	Piso	<i>Coccidioides spp.</i>	<i>Aspergillus spp.</i>	Interditado
	Foco	(-)	(-)	Interditado
	Mesa Cirúrgica	(-)	<i>Aspergillus spp.</i>	Interditado
	Interruptor	(-)	(-)	Interditado
	Haste do Soro	(-)	<i>Aspergillus spp.</i>	Interditado
C	Piso	<i>Cryptococcus spp.</i>	(-)	Interditado
	Foco	<i>Aspergillus spp.</i>	<i>Aspergillus spp.</i>	Interditado
	Mesa Cirúrgica	<i>Trichophyton spp.</i>	(-)	Interditado
	Interruptor	(-)	<i>Aspergillus spp.</i>	Interditado
	Haste do Soro	<i>Aspergillus spp.</i>	<i>Aspergillus spp.</i>	Interditado
D	Piso	<i>Trichosporon spp.</i>	(-)	(-)
	Foco	(-)	<i>Candida spp.</i>	(-)
	Mesa Cirúrgica	<i>Trichosporon spp.</i>	<i>Aspergillus spp.</i>	(-)
	Interruptor	(-)	(-)	(-)
	Haste do Soro	(-)	(-)	(-)

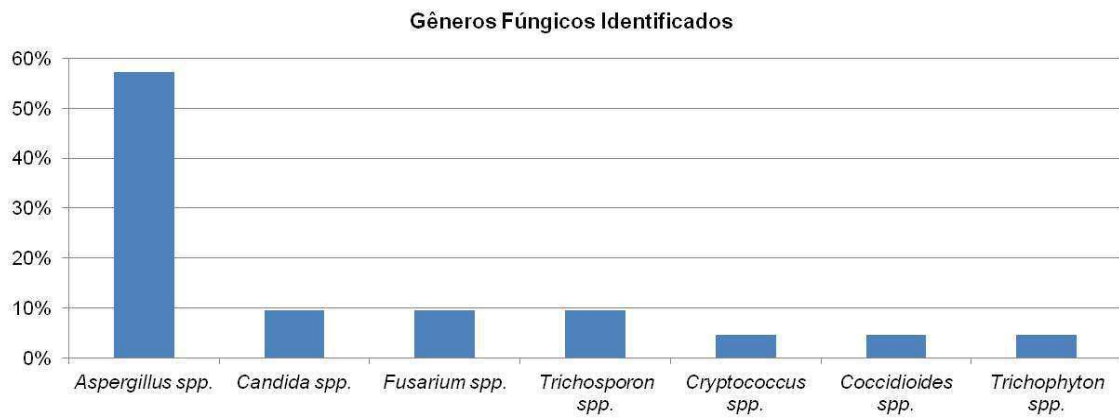


Figura 1 Prevalência dos gêneros fúngicos obtida na amostra

DISCUSSÃO

O alto índice de contaminação fúngica observado no centro cirúrgico pode estar associado com fluxo humano elevado, falta de metodologia de limpeza e até uma provável baixa eficiência da desinfecção utilizada, além de outros fatores que também contribuem para a permanência ou penetração de microrganismos, como: ventilação, temperatura e a umidade ambiental, entre outros. Fazendo-se necessária a adoção de algumas intervenções como: manutenção do fluxo de ar filtrado, consideração da utilização da tecnologia de fluxo laminar, maior frequência de procedimentos de desinfecção, redução do tráfego de pessoas, bem como a paramentação adequada da equipe, além do manejo adequado dos materiais dentro da sala operatória (MENEZES et al, 2007).

O gênero fúngico mais encontrado na pesquisa, *Aspergillus spp.* (57,14%), aparece em congruência com a literatura como sendo o fungo oportunista mais prevalente. Ele provoca reações alérgicas em hospedeiros hipersensíveis ou doença grave pulmonar invasiva e destrutiva, além de doença disseminada em pessoas com graves problemas de imunodepressão. Há também numerosos relatos do gênero *Candida spp.*, que tivemos na prevalência de 9,52%, como sendo um dos principais responsáveis por infecções sanguíneas nosocomiais. No entanto, infecções pelos outros gêneros fúngicos encontrados vêm aumentando com frequência, como por *Fusarium spp.*, *Cryptococcus spp.* e *Trichosporon spp.*, sobretudo em pacientes imunocomprometidos (MORETTI, 2007). Sendo ultimamente o *Trichosporon spp.*, encontrado também com prevalência de (9,52%), relacionado a fungemia associada a cateteres profundos em pacientes neutropênicos (MURRAY, 2006).

Há consenso na literatura sobre o aumento na incidência das infecções fúngicas invasivas e alteração no espectro dos agentes etiológicos. Em consequência do profundo comprometimento dos mecanismos de defesa dos hospedeiros hospitalizados, fungos encontrados no ambiente hospitalar passaram a se comportar como oportunistas, sendo capazes de causar quadros infecciosos de alta letalidade. Dietas ricas em carboidratos e fermentos, pílulas anticoncepcionais, cortisona e outras drogas podem também

estimular o crescimento dos fungos. Além disso, os fungos produzem toxinas que sensibilizam o sistema imunológico, que também é afetado, adversamente, por deficiências nutricionais, consumo de açúcar e exposição às substâncias químicas do ambiente (ROSA et al., 2008). Então, com o advento da terapia com antibióticos de largo espectro e o tratamento de pacientes com doenças metabólicas crônicas, neoplásicos e transplantados, em uso de agentes citotóxicos e imunossupressores, além da AIDS, a diferença entre fungos contaminantes e patogênicos (classicamente os agentes de micoses superficiais, subcutâneas e profundas), tornou-se pouco clara. Agentes como *Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus* e espécies de zigomicetos, considerados antigamente, como contaminantes de laboratório e, portanto, de pouca importância clínica, são agora conhecidos como causadores de enfermidades disseminadas, endocardites, infecções pulmonares, ceratites entre outras, em pacientes imunodeprimidos (ANVISA, 2009).

As infecções fúngicas invasivas permanecem como importante causa de morbidade e mortalidade, em especial na população de pacientes gravemente enfermos e os imunocomprometidos, tais como: pacientes com câncer, politraumatizados, em uso de quimioterapia para tumores sólidos ou hematológicos, AIDS, entre outros. Estes pacientes estão sob risco especial de desenvolver infecções oportunistas por leveduras e fungos filamentosos.

Sabe-se que o tratamento das infecções fúngicas em pacientes imunodeprimidos é difícil e estas se tornam geralmente fatais. A prevenção vem ser a melhor medida de controle e, portanto conhecer a epidemiologia do ambiente hospitalar vem ser crucial no desenvolvimento de estratégias preventivas (MEZZARI et al., 2003). A identificação e o controle da colonização fúngica no centro cirúrgico são de fundamental importância para redução dos níveis de infecção hospitalar, evitando sua ocorrência ou mesmo permitindo, avanços no diagnóstico e desenvolvimento de novos métodos de abordagem para estas patologias.

CONCLUSÕES

A prevenção é a melhor medida de controle e, portanto conhecer a epidemiologia do ambiente hospitalar vem ser crucial no desenvolvimento de estratégias preventivas. Faz-se necessário o reforço da interação Médico x Microbiologia na prevenção da emergência de cepas resistentes e sua disseminação no ambiente hospitalar.

Através da identificação das diferentes causas de processo infeccioso deve haver a aplicação racional do conhecimento técnico disponível, mediante atos administrativos coerentes e oportunos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Sítio Cirúrgico: Critérios nacionais de Infecções relacionadas à assistência à saúde.** Março, 2009. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/criterios_nacionais_ISC.pdf. Acesso em 11 de maio de 2010.

AFONSO, M. S. M. *et al.* A qualidade do ar em ambientes hospitalares climatizados e sua influência na ocorrência de infecções. *Revista Eletrônica de Enfermagem*, v. 06, n. 02, p. 181-188, 2004.

ALMEIDA, M.E.S. Identificação da microbiota fúngica de ambientes considerados assépticos. *Revista de Saúde Pública*, v. 22, p.201-206, 1988.

ANDRADE, D.; ANGERAMI, E.L.S. Reflexões acerca das infecções hospitalares às portas do terceiro milênio. *Medicina*, v.32, p. 492-497, 1999.

BARNETT, H.L. **Illustrated genera of imperfect fungi.** Minneapolis: Burgess Publishing Co., 1956

BOOTH, C. **The genus Fusarium.** Surrey: Commonwealth Mycological Institute, 1971

BRASIL, Ministério da Saúde. Lei nº. 9.431, de 06 de janeiro de 1997. Dispõe sobre a obrigatoriedade da manutenção de programa de controle de infecção hospitalar pelos hospitais do país. **Centro de Documentação do Ministério da Saúde**, Brasília, 1997. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/leis/9431_97.htm. Acesso em 10 de maio de 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.616, 12 de maio de 1998. Estabelece Dietrizes e Normas para prevenção e controle das infecções hospitalares. **Diário Oficial da União**, Brasília, 1998. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=482>. Acesso em 08 de maio de 2010.

BRONDI, L. *et al.* Perfil da infecção hospitalar em um Hospital Universitário. **Rev. enferm.** v.17, n. 1, p.96-101, 2009

CARMO E. S. *et al.* Microbiota fúngica presente em diversos setores de um hospital público em Campina Grande – PB. **RBAC**, vol. 39(3): 213-216, 2007.

CASALINUOVO, I. A. *et al.* Fluconazole resistance in *Candida albicans*: a review of mechanisms. **Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.**, v. 8, n. 2, p. 69-77, mar-apr. 2004.

CATÃO, R. M. R. *et al.* Distribuição da microbiota anemófila em ambiente hospitalar (Campina Grande, PB). **RBAC**. vol. 30, p. 25-30, 1998.

COLOMBO, A. L. et al. Fluconazole susceptibility of Brazilian *Candida* isolates assessed by a disk diffusion method. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 6, n. 3, p. 118-123, jun. 2002.(a)

COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 36, n. 5, p. 599-607, 2003.

FERNANDES, A.T. **Percepções de profissionais de saúde relativas à infecção hospitalar e às práticas de controle de infecção**. São Paulo, 2008. 214f. Dissertação (Mestrado em Medicina Preventiva), Universidade de São Paulo.

GUPTA A. et al. Spectrum and clinical profile of post cataract surgery endophthalmitis in North India. **Ind J Ophthalmol** v. 51, p.139—145, 2003

HOOG, G.S. et al. **Atlas of clinical fungi**. 2ªed. Utrecht/Reus: CBS/Universitat Rovirai Virgili; 2000.

KNOBBEN, B.A.S. et al. Evaluation of measures to decrease intraoperative bacterial contamination in orthopedic implant surgery. **Journal of Hospital Infection**. v.66, n.2, p.174-180, 2006.

KULLBERG, B. J.; OUDE-LASHOF, A. M. L. Epidemiology of opportunistic invasive mycoses. **Eur. J. Med. Res.**, v. 7, p. 183-191, 2002

LACAZ, C.L. **Micologia Médica**. 8.ed. São Paulo: Sarvier, 1991

LOBATO R. C. et al. Sazonalidade e Prevalência de Fungos Anemófilos em Ambiente Hospitalar no Sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Rev. Fac. Ciênc. Méd. Sorocaba**, v. 11, n. 2, p. 21 - 28, 2009.

LEMMEN, S.W. et al. Distribution of multi-resistant Gram-negative versus Gram-positive bacteria in the hospital inanimate environment. **Journal of Hospital Infection**, v.56, p.191-197, 2004

MALUCHE M. E.; SANTOS J. I. *Candida* sp. e infecções hospitalares: aspectos epidemiológicos e laboratoriais. **RBAC**, vol. 40(1): 65-67, 2008.

MENEZES, E. A. et al. Frequência e percentual de suscetibilidade de bactérias isoladas em pacientes atendidos na Unidade de Terapia Intensiva do Hospital Geral de Fortaleza. **J Bras Patol Med Lab**. v.43, n.3, p. 149-155, 2007

MENEZES, M.; OLIVEIRA, S.M.A. **Fungos fitopatogênicos**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária. 1993

MEZZARI, A. et al. (2003). Os fungos anemófilos e sensibilização em indivíduos atópicos em Porto Alegre, RS. **Rev. Assoc. Med. Bras**. 49:30-46.

MORETTI, M.L. (2007). A importância crescente das infecções fúngicas. **Revista Panamericana de Infectologia**. 9: 8-9.

MOURA, M.E.B et al. Infecção hospitalar: estudo de prevalência em um hospital público de ensino. **Rev Bras Enferm**, v.60, n.4, p.416-421, 2007.

NUCCI, M.; PERFECT. J. R. When primary antifungal therapy fails. **Clin. Infect. Dis.**, v. 46, n. 9, p. 426-33, may 2008.

ODDS, F. C. Resistance of yeasts to azoles derivative antifungals. **J. AgentsChemother.**, v. 31, p. 463-471, 1993

OLIVEIRA, A. C. **Controle de Egresso Cirúrgico - impacto na incidência da infecção de sítio cirúrgico em um Hospital Universitário**. Belo Horizonte, 1999. Dissertação (Mestrado em Enfermagem), Universidade Federal de Minas Gerais.

OWENS, C. D.; STOESSEL, K. Surgical site infection: epidemiology, microbiology and prevention. **Journal of Hospital. Infection**. v.70, supplement 2, pages 3-10. 2008.

PEREIRA, M.S.; MORIYA, T. M.; GIR, E. Infecção hospitalar nos hospitais escola: uma análise sobre seu controle. **Rev.latino-am.enfermagem**, v. 4, n. 1, p. 45-62, 1996.

PERSON. O.C. et al. Avaliação da flora bacteriana dos fones de ouvido de telefones públicos e hospitalares de Marília. **Arq. Med. ABC**. v.30, n.1, p 34-38, 2005.

PFALLER, M. A. et al. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surveillance program. **J. Clin. Microbiol.**, v. 39, n. 9, p. 3254-3259, 2001.

RIDDEL, R.W. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture mycology, v. 42, p.265-270, 1950

ROSA, F. G.; GARAZZINO, S.; PASERO, D.; DI PERRI, G.; RANIERI, V. M. Invasive candidiasis and candidemia: new guidelines. **Minerva Anestesiol.**, v. 75, p. 1-6, jan. 2008.

SANTOS, A. A. M. et al. **Diagnóstico do controle da infecção hospitalar no Brasil**. Brasília: ANVISA. 2005. 19 p. Programa de pesquisas hospitalares - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Gerência Geral de Tecnologia em Serviços de Saúde, Brasília.

SILVA, I.A. et al. Análise microbiológica quantitativa e qualitativa do ar do centro cirúrgico durante realização de cirurgias cardíacas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia. **Horizonte Científico**, v.1, n.11, p 1-19, 2009.

SILVA, M. F. I.; SANTOS, B. M. O. Estudo histórico-organizacional da comissão de controle de infecção hospitalar de um hospital universitário. **Medicina**, v. 34, p. 170-174, ab./jun. 2001.

SILVA, M.G. (1983). Flora fúngica do ar e do piso no Hospital das Clínicas da UFMG - Belo Horizonte, Brasil. **Revista Microbiol.**, 14:215-222.

SILVEIRA, V.D. Elementos de fitopatologia. **Agronomia**, v.8, p.189-247, 1989.

SING, K.V. et al. An illustrated manual on identification of some seed-borne *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* and their mycotoxins. Hellerup: Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries, 1991

SMITH, P.W. et al. SHEA/APIC Guideline: Infection Prevention and Control in the Long-Term Care Facility. **Inf Control and Hospital Epid.** v.29, n.9, p. 785-814, 2008.

SWINNE, D.; NOLARD, N.; VAN ROOIJ, P.; DETANDT, M. Bloodstream yeastinfections: a 15-month survey. **Epidemiol. Infect.**, v. 12, p. 1-4, jan. 2009.

TAMBELLINI, A. T.; CÂMARA, V. M. Vigilância ambiental em saúde: conceitos, caminhos e interfaces com outros tipos de vigilância. **Cad. Saude Colet.**, v. 10, n. 1, p. 77-93, 2002.

WEBSTER, J. Introduction to fungi. Cambridge: University Press., 1970

WRIGHT, S.B. et al. Expanding Roles of Healthcare Epidemiology and Infection Control in Spite of Limited Resources and Compensation. **Inf Control and Hospital Epid.** v. 31, n.2, p.127-132, 2010.

YALCIN, A. N. Socioeconomic burden of nosocomial infections. **Indian Journal of Medical Sciences.** v.57, n.10, p 450-456, 2003.

ANEXOS