

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO AR EM LABORATÓRIOS DIDÁTICOS DA UTFPR *CAMPUS* DOIS VIZINHOS

EVALUATION OF MICROBIOLOGICAL AIR QUALITY IN TEACHING LABORATORIES AT UTFPR, DOIS VIZINHOS *CAMPUS*

RESUMO

Um ambiente estéril é de suma importância em laboratórios para manipulação de materiais e amostras que não devem ser contaminados. Assim, o fluxo laminar é um equipamento imprescindível para atingir este objetivo, associado ao uso da radiação ultravioleta (UV) que possui ação germicida. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi realizar testes em quatro laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), no Câmpus Dois Vizinhos, verificando a qualidade microbiológica do ar ambiente nos laboratórios didáticos e fluxos laminares analisando o efeito da radiação UV. Foram realizados três testes (três condições) em triplicata em cada laboratório: fluxo laminar pré-UV, fluxo laminar pós-UV e ambiente. O método escolhido foi o de coleta passiva, utilizando os meios BDA e PCA, seguido da contagem de unidades formadoras de colônia (UFC). No teste realizado no ambiente observou-se crescimento tanto de bactéria como de fungos em todos os laboratórios. No teste pré-UV em fluxo laminar ocorreu crescimento apenas em dois laboratórios: Microbiologia e Bioprocessos, enquanto no teste pós-UV não houve crescimento em nenhum dos fluxos laminares analisados. Conclui-se com o presente estudo que os fluxos laminares avaliados são seguros para utilização e oferecem um ambiente estéril de trabalho desde que utilizada radiação UV em conjunto.

PALAVRAS-CHAVE: Fluxo laminar. Esterilização. Radiação UV.

Deborah Lizama Boettcher
deborahboettcher@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

João Maximino Gongora Godoi
godoi_joao@hotmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

Naiana Cristine Gabiatti
naianagabiatti@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

Flavia Regina Oliveira de Barros
flaviabarros@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



ABSTRACT

A sterile environment is of great importance to avoid contamination when manipulating samples. Therefore, the biosafety cabinet is indispensable to achieve this goal when associated with ultraviolet (UV) radiation that has a germicide activity. In this manner, this study aimed to test the microbiological quality of air in four teaching laboratories of the Federal University of Technology – Paraná (UTFPR), in Dois Vizinhos *Campus*, and verify the effect of UV radiation on their biosafety cabinets. Three tests (three conditions) were conducted in triplicate in each laboratory: biosafety cabinet pre-UV, biosafety cabinet post-UV and environment. The passive sampling was the chosen method, using BDA and PCA media, followed by counting of colony forming units (CFU). In the environment, bacterial and yeast growth was observed in all laboratories. Before UV radiation, microbiological growth was observed only in Microbiology and Bioprocesses laboratories,

while no growth was detected in any biosafety cabinet after UV radiation. In conclusion, all the biosafety cabinet analyzed are safe to use and provide a sterile environment as long UV radiation is applied before its use.

KEYWORDS: Biosafety cabinet. Esterility. UV radiation.

INTRODUÇÃO

Os poluentes que são formados em ambientes internos não são diluídos de forma adequada, pois não são levados para fora do local, desta forma a concentração é muito mais alta do que em ambientes externos (NUNES, 2005). Existem vários fatores que influenciam na poluição do ar interno, e a contaminação biológica é a que recebe menos atenção, devido ao fato de ter uma diversidade de microrganismos, sendo muitas vezes difícil a identificação de todos (FERNANDES, 2014). A presença de microrganismos é responsável por 2,7% de doenças alérgicas e respiratórias de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS). Além disso, este foi considerado o oitavo fator de risco mais importante a ser analisado (WHO, 2010).

Em laboratórios de microbiologia, como também nos que manuseiam microrganismos, os usuários ficam muito expostos aos bioaerossóis de microrganismos, podendo trazer riscos aos que circulam o local (Ministério da Saúde, 2001). Os bioaerossóis são formados pelos componentes da parede celular das bactérias gram-positivas e negativas, esporos fúngicos, bactérias e vírus (PANTOJA et al., 2007).

Existe uma grande variedade de microrganismos em um ambiente (FERNANDES, 2014), e alguns exemplos de microrganismos que se encontram com maior frequência são os fungos filamentosos como *Penicillium spp.* e *Aspergillus spp.*, leveduras, bactérias gram-negativas como *Pseudomonas spp.* e *Aeromonas spp.*, bacilos formadores de endósporos como *Bacillus spp.* e bactérias gram-positivas como *Micrococcus*, *Kocuria* e *Staphylococcus spp.* (GÓRNY, DUTKIEWICZ, 2002).

Assim, é de grande importância para manipulação de materiais e amostras que não devem ser contaminados a utilização do fluxo laminar. Este equipamento consiste em uma cabine biológica que filtra o ar de fora para dentro, obtendo-se assim um ambiente estéril dentro do fluxo. Além disso, possui radiação UV que tem ação germicida com 99,97% de eficiência (GOULART, 2005).

Desta forma o objetivo do trabalho foi realizar testes em quatro laboratórios da UTFPR do campus Dois Vizinhos, verificando a qualidade microbiológica do ar ambiente nos laboratórios didáticos e em fluxos laminares analisando o efeito da utilização da radiação UV.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas as quantidades de bioaerossóis fúngicos e bacterianos no ar ambiente e no interior do fluxo laminar de quatro laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná do Campus Dois Vizinhos: laboratório de Bioprocessos, laboratório de Biotecnologia Celular, laboratório de Reprodução Animal e laboratório de Microbiologia. O ar ambiente foi considerado o próprio laboratório. O método escolhido para avaliar os microrganismos no ar foi o de coleta passiva, onde ocorre a sedimentação de microrganismos no ar em placas

de Petri com meio de cultivo específico, seguida de contagem de UFC por superfície (FERNANDES, 2014).

Preparo dos meios BDA e PCA

Foram utilizadas 18 placas de Petri para cada laboratório, das quais 9 placas possuíam o meio BDA (*potato dextrose agar*) para contagem de fungos, e 9 o meio PCA (*plate count agar*) para contagem de bactérias. Das 9 placas, 3 foram colocadas no ambiente, 3 no fluxo antes de utilizar a radiação UV e três depois que a radiação UV foi ligada.

Primeiramente as placas foram higienizadas com água e detergente, e então autoclavadas a 121°C por 15 minutos. Em seguida foram colocadas em estufa de circulação a 100°C por uma hora. Para a preparação do meio BDA foram utilizados 27,3 g de BDA para 700 mL de água destilada, e para o meio PCA 16,45 g de PCA para 700 mL de água destilada. Ambos os meios foram tamponados e autoclavados a 121°C por 15 minutos. Após o preparo das placas, estas permaneceram em estufa bacteriológica a 37°C por 3 dias para o teste de esterilidade. As placas foram armazenadas a 4°C até o início do experimento.

Teste

Para o teste do ar do fluxo laminar, este foi ligado e então 6 placas foram colocadas em seu interior, sendo 3 para cada meio (BDA ou PCA), distanciadas por 30 cm umas das outras. As placas foram abertas e permaneceram no fluxo por 15 minutos e depois vedadas com plástico filme. Em seguida foi aplicada a radiação UV por 20 minutos antes da colocação de 6 novas placas, sendo 3 para cada meio (BDA ou PCA). É importante ressaltar que o comprimento de onda da radiação UV deve ser de 210 a 330 nm, pois este intervalo é mais eficiente em relação à ação germicida pois as ondas são absorvidas por ácidos nucléicos e proteínas, provocando inativação de enzimas e morte celular (ALEXANDRE et al, 2008).

Para o teste do ar ambiente, 3 placas com meio PCA e as outras 3 com meio PDA permaneceram abertas sobre uma bancada, distanciadas entre si por 30 cm, por 15 minutos e então vedadas. Esta técnica foi utilizada para os quatro laboratórios. Ao final, as placas com meio PDA foram transferidas para estufa BOD a 28,1°C e as placas com meio PCA para estufa bacteriológica a 35,2°C por 48 horas.

Contagem

Primeiramente foram verificadas quais placas apresentaram crescimento de bactérias e fungos, e então foi feita a contagem das UFC em cada placa.

Análise estatística

Após a contagem, foi realizada a análise estatística para os resultados dos testes em todos os laboratórios. Dada a distribuição não-normal dos dados, foi utilizado teste não-paramétrico. No teste ambiente foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido do pós-teste de comparação múltipla de Dunn. Para as análises de fluxo laminar pré-UV e pós-UV de todos os laboratórios, tanto para BDO e para PCA, foi utilizado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. E para a comparação entre os laboratórios no teste pré-UV para BDA e para PCA foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido do pós-

teste de comparação múltipla de Dunn. Foi utilizado o software Prism 7.0 (Graphpad).

RESULTADOS

Não houve crescimento de bactérias e fungos em nenhuma placa que foi colocada no fluxo depois da aplicação da radiação UV, porém antes de da radiação UV foi observado o crescimento em duas placas de PCA e duas de BDA no laboratório de Microbiologia, e em uma placa de PCA e uma de BDA no laboratório de Bioprocessos, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1 - Crescimento de microrganismos pré-UV

	Microbiologia BDA	Bioprocessos BDA	Microbiologia PCA	Bioprocessos PCA
Placa 1	0	1	1	5
Placa 2	2	0	0	0
Placa 3	2	0	1	0

Fonte: Autoria Própria (2019).

Para o teste ambiente observou-se o crescimento de fungos em todas as placas de BDA nos laboratórios de microbiologia, de bioprocessos e o de biotecnologia celular, já no laboratório de reprodução ocorreu o crescimento somente em uma placa, como mostra a Tabela 2.

Tabela 2 - Teste ambiente com meio de cultivo BDA

	Microbiologia	Bioprocessos	Biotec. Celular	Reprodução
Placa 1	73	21	10	2
Placa 2	95	19	7	0
Placa 3	91	13	7	0

Fonte: Autoria Própria (2019).

O mesmo foi observado para o teste ambiente com as placas contendo meio PCA com crescimento de bactérias em todas as placas dos laboratórios de microbiologia, bioprocessos e o de reprodução animal. Já no laboratório de biotecnologia celular foi observado o crescimento em apenas duas placas, como mostra a Tabela 3.

Tabela 3 - Teste ambiente com meio de cultivo PCA

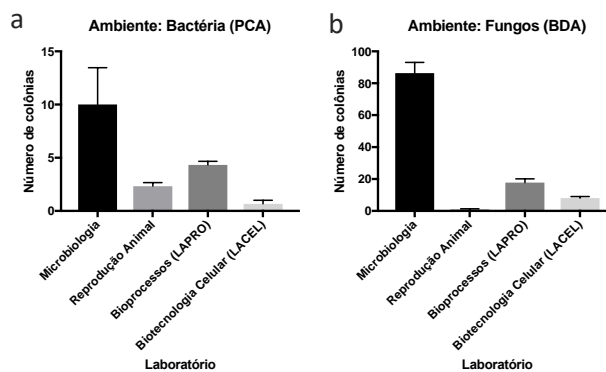
	Microbiologia	Bioprocessos	Biotec.Celular	Reprodução
Placa 1	4	4	1	3
Placa 2	16	5	0	2
Placa 3	10	4	1	2

Fonte: Autoria Própria (2019).

Na análise ambiente com meio PCA, houve o efeito de laboratório ($p=0,0007$) e no pós-teste houve diferença significativa apenas entre o laboratório de Microbiologia e Biotecnologia Celular ($p=0,0253$), como mostra a

Figura 1 (a). Em relação à análise realizada no ambiente com meio BDA, foi observado efeito de laboratório ($p < 0,0001$) sendo que no pós-teste foi detectada diferença significativa apenas entre o laboratório de Microbiologia e Reprodução animal ($p = 0,0253$), como mostra a Figura 1 (b).

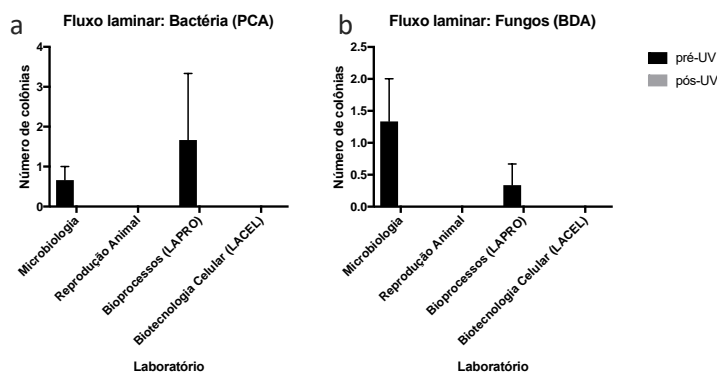
Figura 1 - Ambiente PCA e BDA



Fonte: Autoria Própria (2019).

Para as análises de fluxo laminar, não houve diferença entre os grupos pré-UV e pós-UV ($p > 0,05$) para todos os laboratórios analisados, tanto para PCA quanto BDA. Quando os laboratórios foram comparados entre si, no grupo pré-UV para PCA, não houve diferença estatística ($p = 0,5091$), como mostra a Figura 2 (a). Ainda, quando os laboratórios foram comparados entre si, no grupo pré-UV BDA, também não houve diferença estatística ($p = 0,1818$), como mostra a Figura 2 (b).

Figura 2 - Fluxo Laminar PCA e BDA



Fonte: Autoria Própria (2019).

DISCUSSÃO

O teste realizado no ar ambiente foi o que apresentou maior crescimento de microrganismos, tanto para fungos como para bactérias em todos os laboratórios. Tal resultado foi esperado pois são estes ambientes não estéreis. Contudo, os laboratórios que apresentaram maior crescimento, tanto para o teste ambiente como para o teste no fluxo laminar pré-UV, foram o de Microbiologia e o de Bioprocessos; enquanto no laboratório de Reprodução

Animal e de Biotecnologia Celular não foi observado crescimento no teste do fluxo laminar pré-UV. Há maior circulação de usuários e manipulação de microrganismos nos laboratórios de Microbiologia e Bioprocessos, o que pode explicar os resultados observados. Isso só reforça a importância de boas práticas de utilização dos espaços laboratoriais.

Já para o teste no fluxo laminar pós-UV, não houve crescimento de bactérias e fungos em nenhuma placa de todos os laboratórios. Considerando a baixa frequência de certificação e troca dos filtros dos fluxos laminares testados neste estudo, trata-se de um resultado bastante positivo, pois os fluxos laminares cumpriram sua função quando a radiação UV foi aplicada

CONCLUSÃO

No presente trabalho observou-se que todos os fluxos laminares estão seguros seguindo-se as normas de boas práticas no laboratório e utilização da radiação UV.

REFERÊNCIAS

ALEXANRE, F. A.; FARIA, J. A. F.; CARDOSO, C. F. **Avaliação da eficiência da radiação ultravioleta na esterilização de embalagens plásticas**. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1524-1530, set./out. 2008.

FERNANDES, H. P. **Avaliação microbiológica da qualidade do ar no interior da biblioteca central do campus da Universidade Federal de Juiz de Fora**. 2014. Trabalho de conclusão de curso - Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2014.

GÓRNY, R. L.; DUTKIEWICZ, J. Bacterial and fungal aerosols in indoor environment in central and eastern european countries. **Annals of agricultural and environmental medicine: AAEM**, Berlin, April. 2002.

GOULART, A. C. P. **Fungos em sementes de soja: detecção, importância e controle**. Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados, p. 72. 2004.

Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde. **Biossegurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia**. Brasília, p. 290, out. 2001.

NUNES, Z. G. **Estudo da qualidade microbiológica do ar de ambientes internos climatizados**. 2005. Dissertação (Vigilância Sanitária) - Instituto de Controle da Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2005.

PANTOJA, L. D. M. et. al. **Diversidade de Bioaerossóis presentes em ambientes urbanizados e preservados de um Campus universitário**. Biológico, São Paulo, v.69, n.1, p.41-47, jan./jun. 2007.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Programmes and projects: indoor air pollution**. 2010. Disponível em: <
<http://www.who.int/heli/risks/indoorair/indoorairdirectory/en/index6.html>>. Acesso em: 02 ago. 2019.