

Análise da contaminação bacteriana em ambientes internos de laboratório com e sem climatização artificial

Bacteria contamination analysis of indoor laboratory environment with and without artificial climatization

RESUMO

Rodrigo Favaro Braga
rodrigofavarob@gmail.com
Universidade tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

Kátia Valéria Marques Cardoso Prates
kprates@professores.utfpr.edu.br
Universidade tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

Janaína Casado Rodrigues da Silva
janainnacasado@gmail.com
Universidade tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

João Gabriel Cicconi
joangcicconi@gmail.com
Universidade tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

Joseane Débora Peruco Theodoro
jtheodoro@utfpr.edu.br
Universidade tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

O presente estudo teve como objetivo analisar as concentrações de bactérias e diversidade cultural presentes em ambientes interiores de laboratório com e sem climatização artificial. As coletas de amostra foram realizadas em dois laboratórios do bloco A da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR – Londrina, um com climatização artificial, outro sem climatização artificial e um ponto externo para comparação. Utilizou-se de placas de Petri, com meio de cultura *Plate Count Agar*, e da técnica de sedimentação espontânea para a coleta de dados. Após 48h de incubação realizou-se a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) e a caracterização cultural. Para os dados de UFC/m³, encontraram-se os valores de 58, 147,8 e 665,1 para o laboratório com climatização, sem climatização e o ponto externo respectivamente. O ambiente externo foi o que obteve maior diversidade de colônias já ambiente climatizado foi o que obteve a menor diversidade. Conclui-se que o laboratório sem climatização artificial, o qual possui maior contato com o ar externo, apresentou as maiores temperaturas e humidades, e a concentração mais alta de bactérias.

PALAVRAS-CHAVE: Qualidade do ar interior. Concentração de bactérias. Poluição atmosférica. Laboratórios de universidade.

ABSTRACT

The present study analyzed the concentrations of bacteria and cultural diversity present in indoor laboratory environments with and without artificial air conditioning. Sample collections were performed in two laboratories in block A of the Federal Technological University of Paraná, UTFPR - Londrina, one with artificial air conditioning, another without artificial conditioning and an external point for comparison. Petri dishes were used, with Plate Count Agar medium of culture, and the spontaneous sedimentation technique for data collection. After 48 hours of incubation, the Colony-Forming Units (UFC) count and cultural characterization were performed. For the UFC/m³ data, the values of 58, 147,8 and 665,1 were found for the laboratory with air conditioning, without air conditioning and the external point, respectively. The outside environment was the one with most colony's diversity, and the climatized one had less diversity. It is concluded that the laboratory without artificial air conditioning, which has greater influence of the external air, presented the highest temperatures, humidity and the highest concentration of bacteria.

KEYWORDS: Indoor air quality. Bacteria concentration. Atmospheric pollution. Universities' laboratory.

Recebido: 19 ago. 2020.

Aprovado: 01 out. 2020.

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



INTRODUÇÃO

A qualidade do ar é a interação de fatores como a intensidade da emissão de poluentes atmosféricos, a topografia e condições meteorológicas da região (MMA, 2019) que interfere na qualidade de vida dos seres humanos. A má qualidade do ar (altas concentrações de poluentes) influencia diretamente na saúde humana, causando doenças cardiovasculares, respiratórias, neurológicas, irritação do nariz, garganta e olhos, fadiga mental, dor de cabeça, náusea, tontura, alergias e gripes (Santana et al., 2012; Brown, 2019). Traz também maiores gastos do governo com internações hospitalares e o elevado uso de medicamentos (MMA, 2019).

A Qualidade do Ar Interior (QAI) é definida como “condição do ar ambiental de interior, resultante do processo de ocupação de um ambiente fechado com ou sem climatização artificial” segundo a Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) nº9, 2003 (BRASIL, 2003). De acordo com a Organização Mundial da Saúde - OMS (OMS, 2018) a má QAI é a causa da morte de 3,8 milhões de pessoas por ano e a maior parte da população passa 90% do seu tempo em ambientes internos (ALMEIDA et al, 2010).

Há diversos parâmetros para se analisar a QAI, os químicos (concentrações de monóxido e dióxido de carbono, dióxido de nitrogênio, compostos orgânicos voláteis totais e semi-voláteis, e material particulado), físicos (temperatura e umidade) e biológicos (os microrganismos e bioaerossóis).

Os contaminantes biológicos em ambientes internos podem vir do processamento de comida e atividades humanas comuns (espirros, tosses, andar e descargas de banheiros) (CHEN e HILDEMANN 2009; NAZAROFF, W. W., 2016). O estudo destes é importante pois os contaminantes podem ser patogênicos, agravando as consequências de uma má QAI. Dentro dos parâmetros biológicos, um tópico muito importante é a concentração de bactérias no ambiente interno.

Em universidades os alunos passam maior parte do tempo em ambientes fechados, como salas de aula e laboratórios, com e sem climatização artificial. Um estudo realizado em salas de aulas universitária, feito por Hospodovsky et al., 2012 mostra que a maior parte da contaminação por bactérias em ambientes internos é proveniente dos seres humanos, devido a maior quantidade de bactérias encontradas serem específicas do corpo humano (pele, cabelo e saliva).

A Resolução ANVISA nº 9, 2003 (BRASIL, 2003), informa valores máximos recomendados (VMR) para fungos em unidades formadoras de colônia por metro cúbico (UFC/m³), porém não há valores recomendados para concentrações de bactérias. Já na Nota Técnica de Portugal, NT-SCE-02 do Sistema Nacional e Certificação Energética da Qualidade do Ar Interior (ADENE, 2009) é encontrado o VMR de 500 UFC/m³. Todas as normas citadas comentam apenas sobre ambientes com climatização artificial, já para ambientes com ventilação natural não há legislações.

Neste contexto, este estudo tem como objetivo analisar a concentração e diversidade de colônias de bactérias presentes em ambientes internos de laboratórios com e sem climatização da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) – Londrina.

METODOLOGIA

Para atingir o objetivo proposto neste trabalho as coletas de amostras foram realizadas em dois laboratórios da área biológica do Curso de Engenharia Ambiental localizadas no bloco A da UTFPR – Câmpus Londrina um ao lado do outro, um com climatização (P1) e outro sem (P2) (Figura 1a e 1b, respectivamente), além de um ponto externo (P3) em frente ao bloco A, para avaliação da influência do ar externo no ambiente interno dos laboratórios. Os dois laboratórios são utilizados para atividades didáticas e de pesquisa por discentes e docentes dos cursos de graduação e mestrado em Engenharia Ambiental.

Figura 1 – Locais de amostragem nos laboratórios da área biológica da UTFPR-LD com climatização (a) e sem climatização (b)



(a)

(b)

Fonte: Autoria própria (2020).

Para promover o crescimento das bactérias, preparou-se placas de Petri contendo meio de cultura *Plate Count Agar* (PCA) (Merk), seguindo as instruções do fabricante e estas foram reservadas na geladeira até o dia da coleta. As coletas ocorreram em março de 2020, no período da manhã (10:00). No momento das coletas foram aferidos a temperatura e Umidade Relativa do Ar (UR) utilizando o equipamento Homis 269. As placas de Petri foram identificadas e armazenadas em caixas térmicas com bolsas de gelo para melhor conservação durante o período de amostragem.

Para a coleta, foi utilizada a técnica de sedimentação espontânea, na qual as partículas e microrganismos se sedimentam sobre o meio de cultura pela força da gravidade. As amostragens foram feitas em triplicata com tempo de amostragem de 10 minutos (BRASIL, 2003) em cada ponto. Com esta metodologia não é possível determinar o volume de ar que teve contato com as placas.

Após as coletas, as placas de Petri foram incubadas em estufa bacteriológica (*Fanem*, Brasil) por um período de 48 horas à $35 \pm 1^\circ\text{C}$. Transcorrido o tempo de incubação procedeu-se a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) com o auxílio de um contador de colônia (Met One 804).

Para calcular o valor de UFC/m³ utilizou-se a Eq. 1, a qual é multiplicada pela “razão entre o número de células na superfície e o número de células no ar”, que para a técnica de sedimentação espontânea é 23:1 (MORAIS et al. 2010; ABELHO, 2013). A área da placa era de 0,005m²

$$\frac{UFC}{m^3} = \frac{UFC \text{ em cada placa de Petri}}{\text{área de cada placa de Petri}} \times \frac{1}{23} \quad (1)$$

Comparou-se os resultados obtidos no estudo com a Norma Técnica de Portugal NT-SCE-02, onde encontra-se o valor de referência para concentração máxima de bactérias de 500 UFC/m³ (ADENE, 2009).

As colônias foram caracterizadas macroscopicamente de acordo com cor, forma, margem e elevação segundo Rodina (1972), e foram escolhidas com o objetivo de se analisar a maior diversidade de bactérias.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Tabela 1 são apresentados os resultados referentes ao número de UFC totais médio e seu desvio padrão e o valor de UFC/m³ calculado.

Tabela 1 – Valores médios encontrados de UFC total nas placas de Petri e por metro cúbico para as amostras de bactérias coletadas nos pontos P1 (laboratório com climatização artificial), P2 (laboratório sem climatização artificial) e P3 (ponto externo).

| Local | UFC médio | Desvio Padrão | UFC/m ³ |
|-------|-----------|---------------|--------------------|
| P1 | 6,7 | 1,53 | 58,0 |
| P2 | 17,0 | 8,00 | 147,8 |
| P3 | 75,3 | 13,50 | 655,1 |

Fonte: Autoria Própria (2020).

Analisando os resultados mostrados na Tabela 1 nota-se que em P3 o número de UFC foi superior aos outros pontos amostrados. Comparando o P3 ao P2 verifica-se que o valor de UFC é aproximadamente 4 vezes maior e do P3 para o P1 é cerca de 11 vezes maior.

Com os dados obtidos pode-se confirmar, como o indicado em um estudo feito por Lyng, (2015), que o ambiente externo influencia nas concentrações de poluentes em ambientes internos. O ambiente com climatização artificial, o qual possui menor influência do ambiente externo, foi o que apresentou a menor concentração de bactérias por m³. Enquanto o P2, que está exposto a ventilação natural teve aproximadamente 2,5 vezes mais colônias quando comparado ao P1.

Com os dados de UFC/m³ calculou-se a relação I/E (valores encontrados para o ambiente interno sobre valores para ambiente externo), sendo que para o P1 encontrou-se o valor de 0,09 e para P2 encontrou-se para o valor de 0,23. Na Resolução nº 9, 2003 da ANVISA é indicado um valor recomendado de I/E para fungos de 1,5, fazendo um paralelo para as bactérias, neste estudo encontrou-se valores abaixo do indicado na Resolução, mostrando que as concentrações estão dentro de um possível limite para bactérias.

Comparando os valores de UFC/m³ encontrados nos laboratórios, com o VMR indicado na NT-SCE-02 de Portugal, pode-se ver que os valores de concentrações de bactérias estão dentro do adequado, sem representar riscos a saúde humana.

Para os dados de temperatura e umidade encontrados em cada ponto, tem-se a Tabela 2.

Tabela 2 – Valores de temperatura e umidade durante a manhã nos ambientes internos.

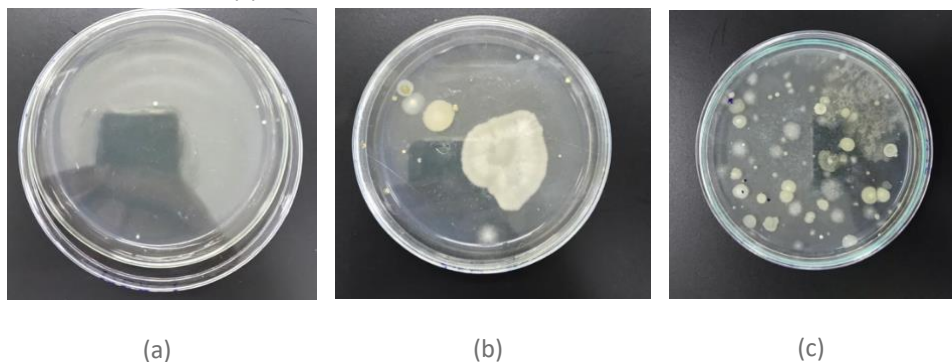
| Parâmetros | P1 | P2 |
|------------------|------|------|
| Temperatura | 24,4 | 27,4 |
| Umidade Relativa | 49,3 | 55,2 |

Fonte: Autoria própria (2020).

Por meio da análise dos dados apresentados na Tabela 2, pode-se notar que o P1 tem menores valores de umidade relativa do ar e temperatura, coincidindo com menores concentrações de bactérias encontradas no estudo.

Na Figura 2 pode-se visualizar três placas de Petri contendo o resultado do crescimento das colônias nos ambientes estudados.

Figura 2 – Fotos das placas de Petri contendo crescimento de bactérias, utilizadas na coleta para cada ambiente, o com climatização artificial (a), sem climatização artificial (b) e o ambiente externo (c).



Fonte: Autoria própria (2020).

Das colônias que cresceram nas placas de Petri foram escolhidas 10 colônias dentre todas as placas amostradas, com base na diversidade das bactérias que estavam presentes nas placas, para a caracterização macroscópica das colônias, descritos no Quadro 1.

O ponto de coleta 3 foi o que houve maior diversidade de colônias, representando amostras analisadas, devido a grande variação de coloração das colônias de bactérias, além de a cor mais presente foi a branca. Está maior diversidade deve-se provavelmente ao tipo de atividade desenvolvida no local relacionado a aulas de botânica.

Quadro 1 – Características culturais das colônias de bactérias presentes nas placas de Petri.

| Tipo de colônia | Local | Cor | Margem | Forma | Elevação |
|-----------------|-------|-------------------|-------------|-------------|----------|
| 1 | P1 | Branca opaca | Lobulada | Filamentosa | Papilada |
| 2 | P1 | Rosada brilhante | Lobulada | Irregular | Plana |
| 3 | P2 | Branca opaca | Ondulada | Irregular | Plana |
| 4 | P2 | Branca opaca | Ondulada | Irregular | Papilada |
| 5 | P2 | Branca brilhante | Ondulada | Irregular | Convexa |
| 6 | P3 | Amarela brilhante | Ondulada | Irregular | Plana |
| 7 | P2 | Creme brilhante | Inteira | Circular | Convexa |
| 8 | P1 | Branca cotonosa | Filamentosa | Rizóide | Elevada |
| 9 | P3 | Amarela brilhante | Inteira | Circular | Convexa |
| 10 | P3 | Branca brilhante | Inteira | circular | plana |

Fonte: Autoria própria (2020).

CONCLUSÃO

Com este estudo pode-se concluir que o laboratório que possui ventilação natural sofre mais influência do ar externo que é a principal fonte de bactérias, se comparado com o laboratório com climatização artificial. Além de que notou-se a influência da maior temperatura e umidade na maior atividade microbiana, resultando na maior concentração de bactérias no laboratório sem climatização artificial.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) por me proporcionar a oportunidade e as condições de realizar este estudo.

REFERÊNCIAS

ABELHO, M. Protocolos de microbiologia ambiental: parte 3 – microbiologia ambiental aplicada. Coimbra: Instituto Politécnico de Coimbra, 2013.

ADENE. Nota técnica NT-SCE-02: metodologia para auditorias periódicas de QAI em edifícios de serviços existentes no âmbito do RSECE. Lisboa: Agência para a Energia, 2009. Air Quality Guidelines for Europe. WHO Regional Publications. European Series. 2nd Edition 2000, n.o91.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 09, de 16 de janeiro de 2003. Dispõe sobre padrões referenciais de qualidade do ar interior em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 20 jan. 2003. Seção 1, p. 35

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente (MMA). Disponível em:
<https://www.mma.gov.br/cidades-sustentaveis/qualidade-do-ar>. Acesso em: 20 de nov. de 2019

BROWN, Nellie J. Indoor air quality. 2019.

CHEN, Q., & HILDEMANN, L. M. The effects of human activities on exposure to particulate matter and bioaerosols in residential homes. *Environmental science & technology*, 43(13), 4641-4646. 2009.

HOSPODSKY, Denina et al. Human occupancy as a source of indoor airborne bacteria. *PloS one*, v. 7, n. 4, p. e34867, 2012.

LYNG, N. L.; GUNNARSEN, L.; ANDERSEN, H. V. The effect of ventilation on the indoor air concentration of PCB: an intervention study. *Building and Environment*, v. 94, p. 305-312, 2015.

MORAIS, G. R.; SILVA, M. A. da; CARVALHO, M. V. de; SANTOS, J. G. S. dos; DOLINGER, E. J. O. von; BRITO, D. von D. de. Qualidade do ar interno em uma instituição de ensino superior brasileira. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 26, n. 2, p. 305-310, 2010.

NAZAROFF, W. W. Teaching indoor environmental quality. *Indoor air*, 26.4: 515-516, 2016.

PIMENTEL, I. C.; DIONISIO, J. A.; SIGNOR, D. Bactérias. Embrapa Semiárido- Capítulo em livro científico (ALICE), 2016.

RODINA, A. G. *Methods in aquatic microbiology*. Baltimore: University Park Press, 1972

SANTANA, E.; CUNHA, K. B. da; FERREIRA, A. L.; ZAMBONI, A. Padrões de qualidade do ar: experiência comparada Brasil, EUA e União Europeia. São Paulo: Instituto de Energia e Meio Ambiente, 2012.