



Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"

TIAGO FIDEMANN

**VERIFICAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM SALA
DE ESPERA DE CONSULTÓRIOS MÉDICOS**

Assis-SP
2014

TIAGO FIDEMANN

VERIFICAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM SALA DE
ESPERA DE CONSULTÓRIOS MÉDICOS

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Licenciatura em Química e Bacharelado em Química Industrial do Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito de graduação.

Orientando: Tiago Fidemann

Orientadora: Gilcelene Bruzon

Área de Concentração: Ciências Exatas e da Terra

Assis
2014

FICHA CATALOGRÁFICA

FIDEMANN, Tiago

Verificação de contaminação microbiológica em sala de espera de consultórios médicos / Tiago Fidemann. Fundação Educacional do Município de Assis - FEMA -- Assis, 2014.

66p.

Orientador: Gilcelene Bruzon.

Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA.

1. Micro-organismos. 2. Ambientes fechados. 3. Superfícies de revistas contaminadas.

CDD:660
Biblioteca da FEMA

VERIFICAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM SALA DE ESPERA DE CONSULTÓRIOS MÉDICOS

TIAGO FIDEMANN

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação, analisado pela seguinte comissão examinadora:

Orientador: M^a Gilcelene Bruzon

Analisador: Dr^a Silvia Maria Batista de Souza

Assis
2014

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, pois sem Ele nada pode ser conquistado. Dedico também a todos que torceram pelo meu sucesso e ao meu pai Ronald e minha mãe Fátima que propiciaram condições para que eu pudesse fazer tudo! Dedico à minha namorada Gabriela por ficar ao meu lado sempre e ao meu irmão, demais familiares e amigos que acompanharam essa trajetória.

AGRADECIMENTOS

A todos os professores, os quais tiveram toda paciência comigo e minhas inúmeras perguntas, ao Prof^o Idécio pela ajuda com inúmeros artigos e livros fornecidos e seu grande conhecimento, a minha orientadora Prof^a Gilcelene, pela orientação independente do horário e dia, paciência, dedicação e por me guiar nesse trabalho.

Aos amigos, de nossa turma de graduação, em especial a Gabriela, a Maria Eduarda, a Adriana Luiza, ao Rodolfo, ao Gabriel, ao Paulo Sérgio e ao Almir, pois todos superaram esses inúmeros desafios juntos e a todos que colaboraram direta ou indiretamente, na execução deste trabalho.

Aos meus pais que sempre estiveram me acompanhando e tornando possível esse sonho se concretizar e minha sempre atenciosa namorada que acreditou todos os momentos que eu era capaz.

Um navio no porto está seguro, mas não é para isso que navios são feitos.

John Sheed

RESUMO

Os micro-organismos trazem diversos benefícios ao ser humano sendo importantes na manutenção do equilíbrio do ambiente pela reciclagem de elementos químicos, produção de alimentos, síntese de produtos químicos como vitaminas, ácidos orgânicos, enzimas, álcoois. Porém alguns desses micro-organismos podem ser causadores de diversas doenças. O estudo desses micro-organismos é de grande importância, pois a contaminação microbiológica vem assolando a humanidade desde os primórdios de nossa existência. A velocidade de propagação das doenças vem aumentando devido à locomoção das pessoas ser muito mais rápida do que antigamente e pela maior convivência em ambientes fechados, com pouca ou nenhuma troca de ar com o ambiente externo. Pensando nessa contaminação o objetivo desse trabalho foi verificar a qualidade microbiológica do ar, pelo método de sedimentação, e a presença de micro-organismos nas superfícies das folhas de revistas, pelo método de *SWAB*, em consultórios de especialidades e ambulatórios na região de Assis/SP. Foram feitas análises para detectar duas bactérias: *E. coli*, com ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), e *S. aureus*, com ágar Baird Parker (ABP). Além de contagem padrão pelo método de PCA (Plate count agar). A partir das análises realizadas para verificação da qualidade do ar, observou-se que houve contaminação. Nas análises realizadas nas revistas, observou-se que não houve contaminação por *E. coli* ou *S. aureus*, porém para contagem padrão todas apresentaram contaminação. Na clínica geral foi de 9 UFC/mL, na clínica gástrica foi de 3 UFC/mL, no consultório dentista 1 foi de 41 UFC/mL e no consultório dentista 2 foi de 26 UFC/mL. Assim, é possível assumir que as revistas desses consultórios não são um grande fator de risco quanto às bactérias oportunistas.

Palavras-chave: Micro-organismos; ambiente fechado; superfícies de revistas contaminadas.

ABSTRACT

The micro-organisms bring many benefits to human-beings, being of great importance in the environment balance maintenance through chemical recycling elements, food production, products chemical synthesis such as vitamins, organic acids, enzymes, alcohols. However, some of these micro-organisms may be causes of several diseases. The study of these micro-organisms is of great importance, because the microbiological contamination comes plaguing humanity since the dawn of our existence. The diseases propagation speed is increasing due to the mobility of people is much faster than before and higher living indoors, with little or no air exchange with the outside environment. Considering this contamination the aim of this study was to assess the microbiological quality of air, by sedimentation method, and the presence of micro-organisms on the magazines leaves surfaces, by the SWAB method in clinics and specialty clinics in the region of Assis/SP. Analysis were performed to detect two bacterias: *E. coli*, with Eosin Methylene Blue (EMB), and *S. aureus*, Baird Parker agar (BPA) agar. Besides, the standard counting method PCA (Plate count agar). Based on the carried out analysis for checking the air quality, it was observed that there was contamination. In the analysis carried out in the magazines, it was observed that there was no contamination by *E. coli* or *S. aureus*, but for standard counting all of them showed contamination. The general practioner's office was 9 CFU/mL; thus in gastric clinic it was 3 CFU/mL, at the dentist's office 1 was of 41 CFU/mL and at the dentist's office 2 was 26 CFU/mL. Therefore, it is possible to presume magazines in clinics are not major risk factors as of a opportunistic bacteria.

Keywords: Micro-organisms; indoor environments; contaminated surfaces magazines.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	- Réplica do microscópio de Leeuwenhoek.....	18
Figura 2	- Esboços das bactérias observadas por Leeuwenhoek.....	19
Figura 3	- Frascos em pescoço de cisne utilizados por Pasteur em seus experimentos com infusões.....	20
Figura 4	- Colônias de <i>E. coli</i> em uma placa de petri com ágar sangue.....	22
Figura 5	- Estrutura química do fenol. Lister começou a usar o fenol nas suas técnicas antissépticas.....	23
Figura 6	- Foto tirada por Alexander Fleming em 1928 mostrando a colônia de <i>Penicillium</i> inibindo o crescimento de bactérias.....	24
Figura 7	- A estrutura da penicilina.....	24
Figura 8	- Principais fatos desde o princípio da microbiologia.....	25
Figura 9	- Classificação dos seres vivos pelo ancestral comum de Woese....	28
Figura 10	- Estrutura padrão de células procariontes e eucariontes.....	30
Figura 11	- Potencial patôgenico de alguns micro-organismos.....	32
Figura 12 (A)	- Arranjo de bactérias em forma bacilos e espirilos.....	34
Figura 12 (B)	- Arranjo dos cocos.....	34
Figura 13	- Gráfico das faixas de temperatura de cada grupo.....	36
Figura 14	- Agregados em forma de cachos de <i>Staphylococcus aureus</i>	36
Figura 15	- Lesões da síndrome da pele escaldada causadas por <i>S. aureus</i> ...	38
Figura 16	- Colônia de <i>Escherichia coli</i>	39
Figura 17	- SWAB sendo esfregado na capa da revista.....	50
Figura 18	- Placas das análises do ar (A) consultório dentista 1 e (B) consultório dentista 2	51

Figura 19 - Placas das análises do ar (A) clínica geral e (B) clínica gástrica....	52
Figura 20 - Placas de controle para E. coli(A) e contagem padrão (B).....	53
Figura 21 - Placas de petri referentes à análise da revista na clínica gástrica..	54
Figura 22 - Placas de petri referentes à análise da revista na clínica geral.....	55
Figura 23 - Placas de petri referentes à análise da revista no consultório dentista 1.....	56
Figura 24 - Placas de petri referentes à análise da revista no consultório dentista 2.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Principais diferenças entre eucariotos e procariotos.....	29
Tabela 2	- Resultados obtidos na contagem padrão das análises do ar.....	52
Tabela 3	- Resultados obtidos nas análises da revista na clínica gástrica....	54
Tabela 4	- Resultados obtidos nas análises da revista na clínica geral.....	55
Tabela 5	- Resultados obtidos nas análises da revista do consultório dentista 1.....	57
Tabela 6	- Resultados obtidos nas análises da revista do consultório dentista 2.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
IMESA	Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
FEMA	Fundação Educacional do Município de Assis
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
IMESC	Instituto de Medicina Social e Criminologia de São Paulo
QAI	Qualidade do Ar Interno
PCA	<i>Plate Count Agar</i>
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
ABP	Agar Baird Parker
EMB	Eosina Azul de Metileno

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	16
2.	MICROBIOLOGIA.....	17
2.1.	EVOLUÇÃO DA MICROBIOLOGIA.....	17
2.1.1.	Antony van Leeuwenhoek.....	17
2.1.2.	Abiogênese <i>versus</i> biogênese.....	19
2.1.3.	Louis Pasteur.....	21
2.1.4.	Robert Koch.....	21
2.1.5.	Outros pesquisadores e suas descobertas.....	22
3.	CLASSIFICAÇÃO DOS ORGANISMOS VIVOS.....	27
3.1.	CÉLULAS PROCARIÓTICAS E EUCARIÓTICAS.....	28
4.	MICRO-ORGANISMOS.....	31
4.1.	PATOGENICIDADE.....	31
4.2.	BACTÉRIAS.....	33
4.2.1.	Faixas de temperatura para micro-organismos.....	35
4.2.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	36
4.2.2.1.	Principais doenças.....	37
4.2.3.	<i>Escherichia coli</i>	38
4.2.3.1.	Principais doenças.....	39
5.	HISTÓRICO DAS GRANDES CONTAMINAÇÕES.....	40
5.1.	CONTAMINAÇÃO EM AMBIENTES FECHADOS.....	40
5.2.	CONTAMINAÇÃO EM CONSULTÓRIOS MÉDICOS.....	41
6.	TÉCNICAS DE VERIFICAÇÃO DE CONTAMINAÇÕES..	43
7.	APLICAÇÃO NO ENSINO MÉDIO.....	45
7.1.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
7.1.1.	Materiais e Reagentes.....	46
7.1.2.	Métodos.....	46
8.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	48

8.1.	MATERIAIS.....	48
8.2.	MÉTODOS.....	49
8.2.1.	Preparo dos meios de cultura.....	49
8.2.2.	Amostragem.....	49
8.2.3.	Inoculação.....	50
9.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	51
9.1.	ANÁLISE DO AR.....	51
9.2.	ANÁLISE DAS REVISTAS.....	53
10.	CONCLUSÃO.....	60
	REFERÊNCIAS.....	61
	ANEXO.....	65

1. INTRODUÇÃO

A contaminação microbiológica vem assolando a humanidade desde os primórdios de nossa existência. Nos últimos anos a disseminação desses micro-organismos tem causado maior receio devido à rápida proliferação, que é causada principalmente pela grande e rápida movimentação feita pelo ser humano, pois a pele humana pode hospedar micro-organismos, os quais pelo contato podem contaminar outras pessoas ou objetos (UFMT, 2009; UJVARI, 2008). Exemplos desse histórico de contaminação são muitos, tais como: formas de bactérias causadoras da tuberculose, descobertas na costa leste africana, revelando sua antiguidade genética e a peste bubônica causada pelo bacilo *Yersinia pestis* que teve seus maiores danos na Idade Média (NASCIMENTO, 2011; UJVARI, 2008).

Podemos perceber a importância do estudo desses micro-organismos, observando os fatores que possibilitam seu desenvolvimento microbiológico, podendo ser citados o pH, a disponibilidade de água e de nutrientes, e a temperatura, entre outros (TRABULSI et al., 2005). Para que possamos entender suas características e assim combater ou prevenir doenças, não permitindo que ocorram epidemias que produzam efeitos demográficos, sociais e econômicos incomensuráveis como o ocorrido com a peste bubônica (NASCIMENTO, 2011).

O aumento da expectativa de vida, o grande convívio em locais de uso comum, tornam diversos ambientes propícios à proliferação de micro-organismos (ALVES et al., 2010; SOUSA; FORTUNA, 2011). Dentre estes locais podemos destacar as salas de espera de consultórios e os objetos nelas existentes, tais como as revistas, que são manuseadas por diversas pessoas com diferentes enfermidades.

Diante desses fatos, este trabalho tem como objetivo verificar a qualidade microbiológica do ar e a presença de micro-organismos nas superfícies das folhas de revistas em consultórios de especialidades e ambulatórios na região de Assis.

2. MICROBIOLOGIA

A microbiologia [do grego: *mikros* (“pequeno”), *bios* (“vida”) e *logos* (“ciência”)] é o estudo dos microrganismos nos seus mais variados aspectos e atividades, como morfologia, reprodução, fisiologia e metabolismo, além da sua interação com o meio ambiente e outros seres vivos (TRABULSI et al., 2005).

Os micro-organismos são especialmente interessantes para muitos pesquisadores por apresentarem estruturas relativamente simples, podem ser usados em experimentos e os resultados são estatisticamente confiáveis, diversas das reações que ocorrem com eles são semelhantes a diversos organismos, inclusive o homem, entre outros fatores (BLACK, 2002; PELCZAR JR; CHAN; KRIEG, 1996).

Segundo Bossolan (2002, p.1):

Em Microbiologia pode-se estudar os organismos em grande detalhe e observar seus processos vitais durante o crescimento, a reprodução, o envelhecimento e a morte. Modificando-se a composição do meio ambiente, é possível alterar as atividades metabólicas, regular o crescimento e, até alterar alguns detalhes do padrão genético, tudo sem causar a destruição do microrganismo.

2.1. EVOLUÇÃO DA MICROBIOLOGIA

Apesar de os micro-organismos serem antigos, a microbiologia é uma ciência jovem. Pesquisadores conseguiram observar micro-organismos pela primeira vez somente há pouco mais de 300 anos (por volta de 1670) e sua importância para a sociedade foi pouco compreendida na época (PELCZAR JR, CHAN, KRIEG, 1996).

2.1.1. Antony van Leeuwenhoek

Antony van Leeuwenhoek (1632-1723) era um zelador da prefeitura e provador

oficial de vinhos de sua cidade (Delft na Holanda). Ele tinha como *hobby* polir lentes de vidro e montar uma espécie de microscópio (figura 1) para inspecionar principalmente fibras e tecelagens de roupas, mas devido a sua grande curiosidade, começou a observar outras coisas cotidianas como a água dos rios, saliva e fezes.

Nessas observações, Leeuwenhoek conseguiu observar os micro-organismos, os quais ele nomeou de 'animálculos' (pois acreditava que eram animais pequeninos vivos). A partir dessas primeiras observações ele começou a montar mais microscópios, fazendo em torno de 250 deles, os quais chegaram a ter uma capacidade de aumento de 200 a 300 vezes (PELCZAR JR; CHAN; KRIEG, 1996).

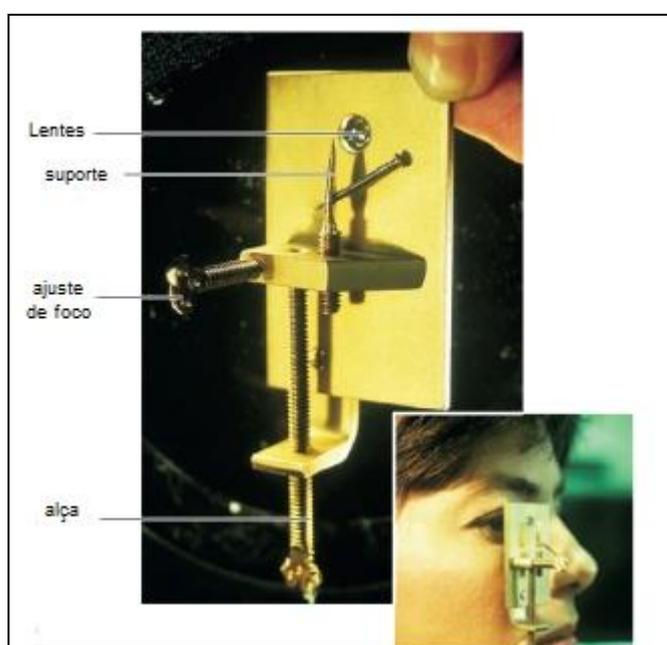


Figura 1 – Réplica do microscópio de Leeuwenhoek (In: WILEY; SHERWOOD; WOOLVERTON, 2009, p. 6).

A descrição ricamente detalhada desses animálculos pôde ser vista nas mais de 300 cartas que Leeuwenhoek enviou à Sociedade Real Inglesa. Um dos trechos das cartas de Leeuwenhoek, em Pelczar; Chan; Krieg (1996, p.4) diz:

No ano de 1675 descobri seres vivos na água da chuva que tinha ficado alguns dias no pote de barro, vitrificado por dentro. Isto me levou a olhar

está água com grande atenção, especialmente aqueles animaizinhos que me pareciam dez mil vezes menores do que os (...) que podem ser percebidos na água a olho nu.

Descobri, numa minúscula gota d'água, um incrível número de pequeníssimos animálculos, de formas e tamanhos diversos. Eles se moviam por meio de ondulações, nadando sempre com a cabeça para frente, nunca ao contrário. No entanto, esses animálculos podiam mover-se tanto para frente quanto para trás, embora seus movimentos fossem muito lentos.

Um dos esboços desses seres minúsculos feitos por Leeuwenhoek pode ser visto na figura 2. Esses desenhos mostram que ele observou bacilos (como pode ser visto em A e F), cocos (em E) e espiraladas (em G).

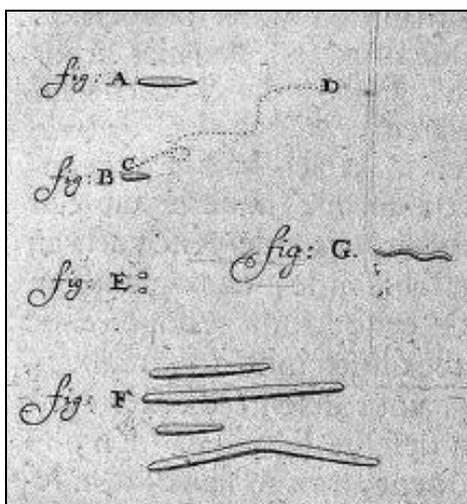


Figura 2 - Esboços das bactérias observadas por Leeuwenhoek (In: PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1996, p.4).

2.1.2. Abiogênese *versus* biogênese

Após a descoberta de Leeuwenhoek duas escolas de pensamento travaram calorosas discussões sobre a origem desses micro-organismos. Até a segunda metade do século XIX muitos cientistas e filósofos defendiam que esses micro-organismos eram resultado da decomposição de plantas e tecidos animais. Defendendo o conceito de que eles podiam surgir de objetos inanimados em uma

geração espontânea, o processo abiogênese (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

Em contrapartida, vários cientistas defendiam a biogênese. Segundo eles os animálculos já existentes davam origem a outros animálculos.

Enquanto esse falso conceito de geração espontânea não fosse refutado a ciência da microbiologia não podia evoluir (PELCZAR JR; CHAN; KRIEG; 1996).

Por mais de cem anos diversos cientistas, de ambas as escolas, fizeram inúmeros experimentos para comprovar suas teorias, porém os defensores da abiogênese não se convenciam que estavam errados.

Somente quando o químico francês Louis Pasteur e o físico inglês John Tyndall expuseram seus experimentos, os quais foram muito bem planejados e executados, que foi derrotada a teoria da abiogênese.

Louis Pasteur realizou o experimento com um frasco de 'pescoço de cisne' com um caldo de alimentos, que pode ser visto na figura 3, onde o ar podia passar, mas os micro-organismos ficavam retidos no gargalo. Já John Tyndall executou experimentos com caixas fechadas e quando toda a poeira sedimentava abria amostras de caldos que se mantinham estéreis (BLACK, 2002).

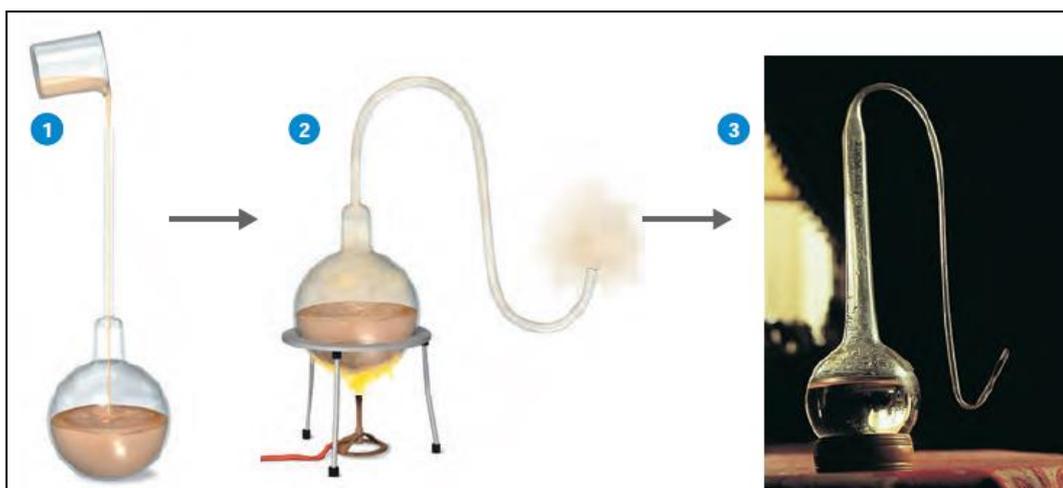


Figura 3 - Frascos em pescoço de cisne utilizados por Pasteur em seus experimentos com infusões (In: TORTORA; FUNKE; CASE, 2012, p.9).

2.1.3. Louis Pasteur

Louis Pasteur continuou seus estudos sobre a química e a microbiologia fazendo muitas contribuições para a sociedade, entre elas a teoria microbiana da fermentação e a pasteurização. Ele descobriu que vinhos bons e ruins continham micro-organismos diferentes e que era necessária uma cuidadosa seleção das leveduras para um bom produto. Para solucionar isso, desenvolveu a técnica da pasteurização que consiste em um tratamento térmico com objetivo de eliminar micro-organismos patogênicos aquecendo o vinho em torno de 50-60°C, por cerca de 30 minutos, assim matando os micro-organismos indesejáveis (PELCZAR JR; CHAN; KRIEG, 1996).

Descobriu que culturas de micro-organismos mantidas por longos períodos em condições laboratoriais perdiam a virulência e se injetadas em um organismo podiam induzi-lo a imunização, assim surgindo o princípio da vacinação (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

2.1.4. Robert Koch

Robert Koch, um contemporâneo de Pasteur, estudou medicina e aos 28 anos começou a explorar o mundo microbiano, tornando rival de Pasteur na tentativa da descoberta da causa do carbúnculo. Por fim, venceu essa disputa, ao encontrar uma bactéria em forma de bastão, no sangue de um carneiro que havia morrido pela doença, e através de experimentos conseguiu comprovar que essa bactéria era a causadora do carbúnculo. Sendo o primeiro cientista a provar que um tipo específico de micróbio era o causador de um tipo específico de doença e sugeriu que animais doentes deviam ser sacrificados e queimados (PELCZAR JR; CHAN; KRIEG, 1996).

Koch continuou suas pesquisas e encontrou uma maneira de cultivar bactérias de apenas um tipo de organismo, a técnica da cultura pura, desenvolvendo meios específicos e utilizando o ágar. Ele também, utilizando os recentes métodos

laboratoriais, organizou os quatro critérios necessários para provar que um micro-organismo específico causava determinada doença, sendo esses os postulados de Koch.

Segundo Black (2002, p. 12):

1. O agente causador específico deve ser encontrado em todos os casos da doença.
2. O organismo causador da doença deve ser isolado em cultura pura.
3. A inoculação de uma amostra susceptível deve fazer com que esse animal desenvolva a mesma doença.
4. O organismo causador da doença deve ser recuperado a partir do animal inoculado.

A figura 4 mostra um dos tipos de ágar utilizados hoje em dia, o ágar sangue apresentando colônias de *E. coli*.



Figura 4 – Colônias de *E. coli* em uma placa de petri com ágar sangue (In: LEBOFFE; PIERCE, 2011, p. 144).

2.1.5. Outros pesquisadores e suas descobertas

Com o avanço das pesquisas e técnicas tanto de Pasteur quanto Koch muitos outros

pesquisadores foram descobrindo a causa de diversas doenças.

Dmitri Ivanovsk descobriu o vírus (do latim *virus*, que significa líquido viscoso ou veneno) pesquisando a doença do mosaico no tabaco. Theobald Smith pesquisando sobre a febre do gado no Texas acabou descobrindo a febre amarela, a malária e a doença do sono. Oliver W. Holmes, Ignaz P. Semmelweis e Joseph Lister contribuíram para o emprego de técnicas antissépticas durante as cirurgias, sendo uma dessas técnicas o uso de compressas cirúrgicas embebidas em soluções com fenol (PELCZAR JR; CHAN; KRIEG, 1996). A estrutura do fenol pode ser observada na figura 5.

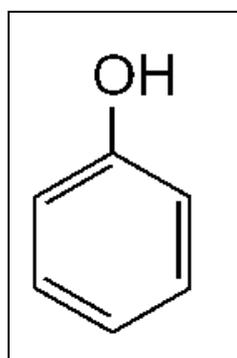


Figura 5 – Estrutura química do fenol. Lister começou a usar o fenol nas suas técnicas antissépticas (In: TORTORA; FUNKE; CASE, 2012, p. 196).

Em 1928 Alexander Fleming, um médico e bacteriologista escocês, descobriu o primeiro antibiótico por acidente quando placas com colônias de bactérias foram contaminadas por fungos que inibiam o crescimento delas. O fungo foi depois identificado com *Penicillium notatum*, mais tarde chamado de *Penicillium chrysogenum*, sendo assim desenvolvida a Penicilina (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

A figura 6 mostra o crescimento bacteriano ocorrendo normalmente na parte inferior da placa de petri, já na parte superior, onde se encontra uma colônia do fungo, o crescimento bacteriano é inibido (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

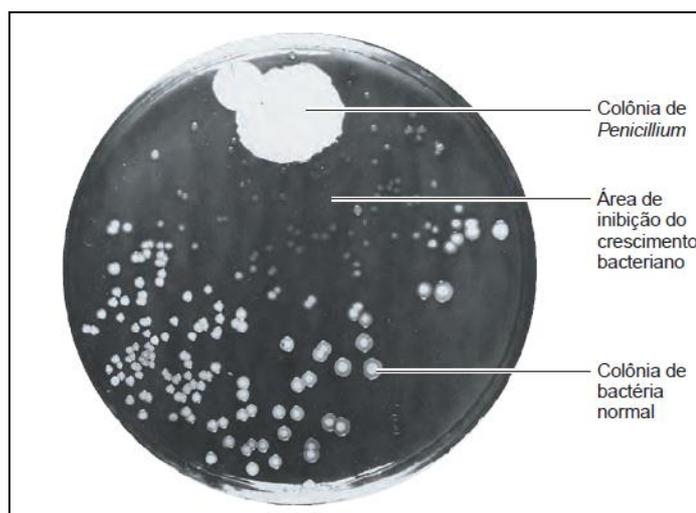


Figura 6 - Foto tirada por Alexander Fleming em 1928 mostrando a colônia de *Penicillium* inibindo o crescimento de bactérias (In: TORTORA; FUNKE; CASE, 2012, p. 12).

Na figura 7 podemos observar a estrutura química da penicilina com a estrutura central comum, contendo um anel β -lactâmico e suas cadeias laterais que diferenciam os diversos tipos de penicilina.

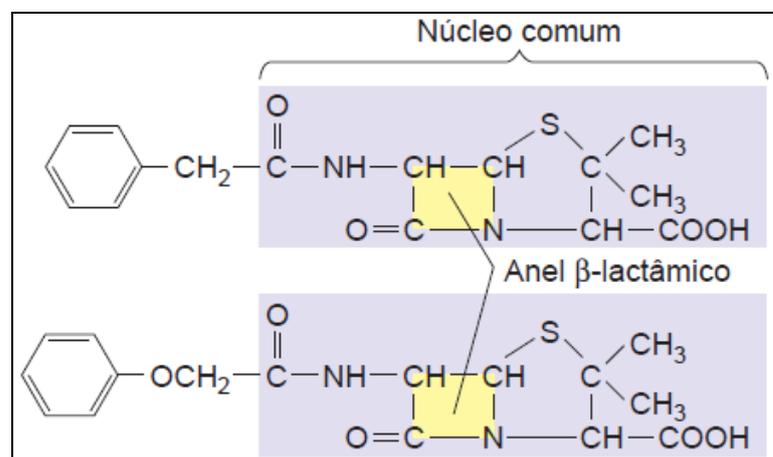


Figura 7 – A estrutura da penicilina (In: TORTORA; FUNKE; CASE, 2012, p. 560).

A figura 8 demonstra em ordem cronológica fatos importantes no estudo da microbiologia.

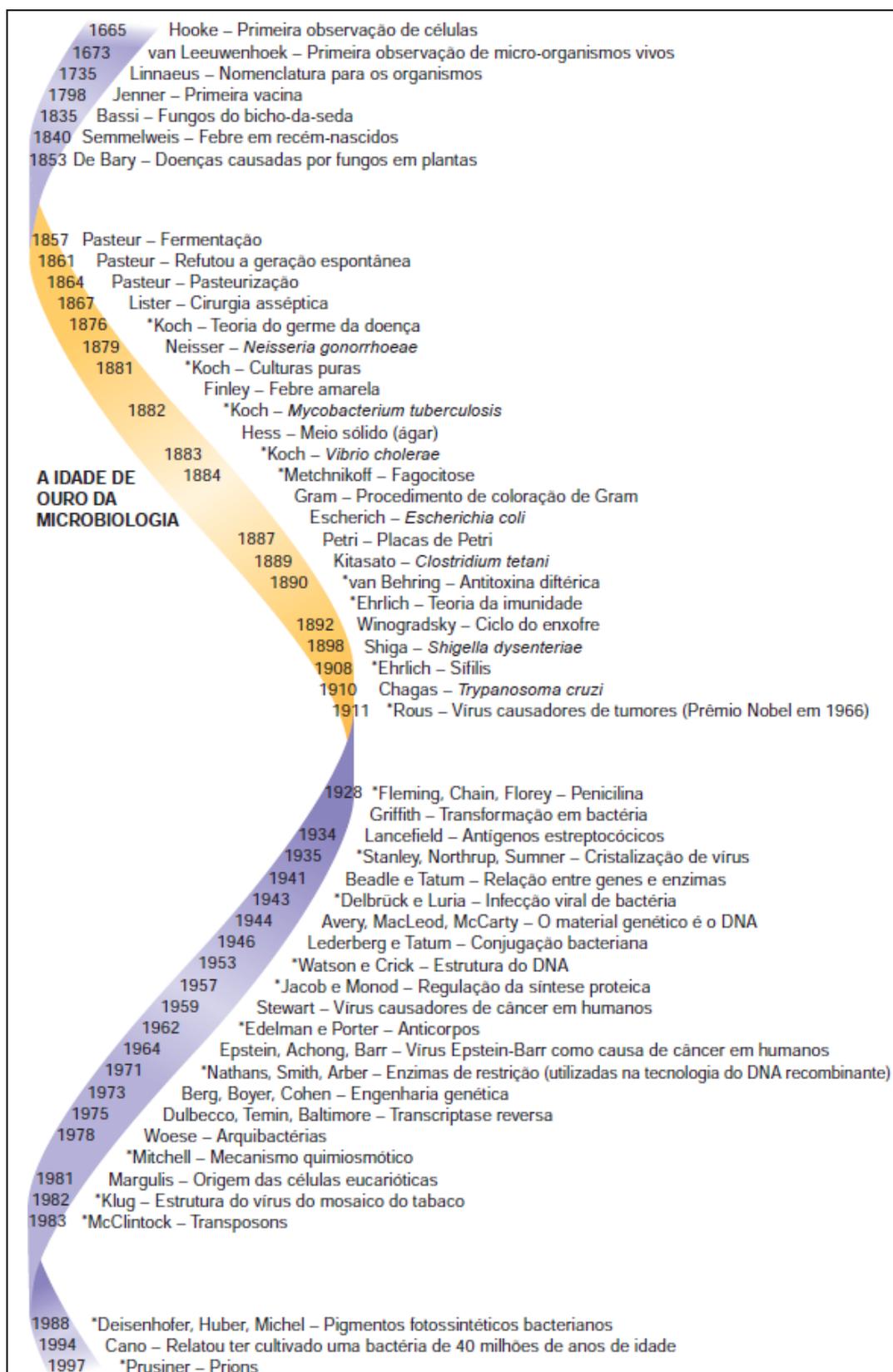


Figura 8 – Principais fatos desde o princípio da microbiologia (In: TORTORA; FUNKE; CASE, 2012, p. 10).

Sendo considerada a idade de ouro o período de maior importância, de 1857 até 1911, por terem sido desenvolvidos diversos trabalhos que serviram de base para descobertas posteriores (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

Apesar dos grandes avanços de Pasteur e Koch na microbiologia até esse momento os estudos eram de um ponto de vista generalistas e sobre uma gama muito grande de problemas. A partir dos avanços até então obtidos, outros pesquisadores direcionaram mais especificamente seus estudos, assim criando segmentos mais específicos da microbiologia. Alguns desses campos são a imunologia, a virologia e a genética microbiana, que são campos com intensas pesquisas atuais (BLACK, 2002).

3. CLASSIFICAÇÃO DOS ORGANISMOS VIVOS

Devido a enorme quantidade de espécies de organismos vivos (cerca de 10 milhões, incluindo os micro-organismos) houve a necessidade de organizar esses organismos em grupos, buscando agrupá-los por suas semelhanças (PELCZAR JR; CHAN; KRIEG, 1996).

O médico e botânico sueco, Carolus Linnaeus, propôs uma divisão em dois reinos, o *Plantae* e o *Animalia*. Nesse sistema os micro-organismos ficavam distribuídos nos dois reinos, mas ainda existiam alguns deles que não se enquadravam em nenhuma classificação.

Para sanar este problema, o zoologista alemão Ernst H. Haeckel propôs um terceiro reino, chamado de *Protista*, no qual alguns tipos de micro-organismos também foram incluídos.

Com o avanço dos estudos e o maior conhecimento da estrutura de diversos organismos, uma nova classificação tornou-se necessária. Foi quando Robert H. Whittaker propôs uma divisão pela maneira que o organismo obtém os nutrientes da sua alimentação (fotossíntese, absorção ou ingestão). Sendo essa a classificação dos cinco reinos – *Plantae*, *Animalia*, *Fungi*, *Protista* e *Monera* – na qual os micro-organismos ficaram distribuídos por três dos cinco reinos (*Fungi*, *Protista* e *Monera*).

Entretanto, Carl Woese, estudando as semelhanças e diferenças entre RNAs ribossômicos, sustenta a ideia da evolução a partir de um ancestral comum e propôs outra classificação para os seres vivos: Eucarioto (incluindo plantas, animais, fungos, protozoários e algas), Arquibactéria (incluindo bactérias metanogênicas, termófilas, acidófilas e halófilas) e Eubactéria (incluindo as demais bactérias e as cianobactérias), classificação que pode ser vista na figura 9 (TRABULSI et al., 2005).

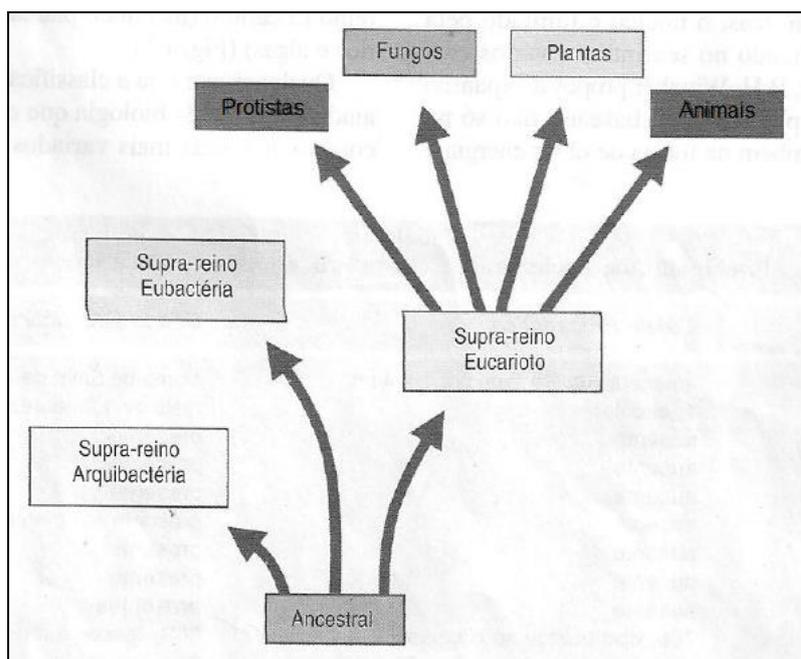


Figura 9 – Classificação dos seres vivos pelo ancestral comum de Woese (In: TRABULSI et al., 2005, p. 4).

3.1. CÉLULAS PROCARIÓTICAS E EUCARIÓTICAS

Apesar da grande variedade e complexidade que apresentam, todas as células vivas podem ser classificadas em procarióticas e eucarióticas, com base em suas estruturas (vista em microscópio eletrônico) (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

As células de bactérias e algas cianofíceas são procariontes (do grego “núcleo primitivo”) já de animais, plantas e fungos são eucariontes (do grego “núcleo verdadeiro”) (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010).

Esses dois tipos de células têm algumas semelhanças, como por exemplo, membrana celular, porém são diferentes em outros aspectos importantes (BLACK, 2002). Uma das principais diferenças é o fato de as células procarióticas não terem seu material genético (DNA) envolvido por membranas, e já nas células eucarióticas, o material genético é encontrado no núcleo, separado do citoplasma por uma membrana nuclear (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

A tabela 1 cita outras importantes características diferenciais entre eucariotos e

procariotos.

Características	Procariotos	Eucariotos
Material genético separado do citoplasma por um sistema de membranas	Não	Sim
Tamanho usual da célula ou diâmetro	0,2 a 2,0 μm	>2,0 μm
Mitocôndria	Ausente	Presente
Cloroplastos (em espécies fotossintéticas)	Ausentes	Presentes
Retículo endoplasmático e complexo de Golgi	Ausente	Presente
Vacúolos de gás	Formados por algumas espécies	Ausentes
Inclusões de poli- β -hidroxibutirato	Formados por algumas espécies	Ausentes
Fluxo citoplasmático	Ausente	Freqüentemente presente
Habilidade em ingerir partículas alimentares insolúveis	Ausente	Presente em algumas espécies
Flagelos, se presentes:		
Diâmetro	0,01 a 0,02 μm	Ca. 0,2 μm
Arranjo dos microtúbulos: "9 + 2"	Não	Sim
Esporos termorresistentes (endósporos)	Formados por algumas espécies	Ausentes
Ácidos graxos poliinsaturados ou esteróis em membranas	Raros	Comuns
Ácido murâmico na parede celular	Comum	Ausente
Habilidade de utilizar compostos inorgânicos como única fonte de energia	Presente em algumas espécies	Ausente
Habilidade em fixar nitrogênio atmosférico	Presente em algumas espécies	Ausente
Habilidade em reduzir nitratos a gás nitrogênio	Presente em algumas espécies	Ausente
Habilidade em produzir gás metano	Presente em algumas espécies	Ausente
Sítio da fotossíntese, se ocorrer	Extensões de membrana citoplasmática: tilacóides	Cloroplastos
Divisão celular ocorre por mitose	Não	Sim
Mecanismo de transferência genética e recombinação, se ocorrerem, envolvem gametogênese e formação de zigoto	Não	Sim
Cromossomos:		
Forma	Circular	Linear
Número por célula	Usualmente 1	Usualmente > 1
Ribossomos:		
Localização na célula	Dispersos no citoplasma	Ligados ao retículo endoplasmático
Coeficiente de sedimentação (em unidade Svedberg)	70 S	80 S*

* Exceção em mitocôndrias e cloroplastos, que têm ribossomos típicos de procariotos (70 S).

Tabela 1 – Principais diferenças entre eucariotos e procariotos (In: PELCZAR JR; CHAN; KRIEG, 1996, p. 57).

A figura 10 é uma representação básica dos dois tipos de células com suas estruturas características. Observa-se que na célula procariótica temos um cromossomo único e circular sem nenhuma membrana para separá-lo do restante da célula, já na célula eucariótica existe uma membrana celular separando o núcleo do restante da célula, além da presença de algumas organelas como os lisossomos, aparelho de Golgi e ribossomos.

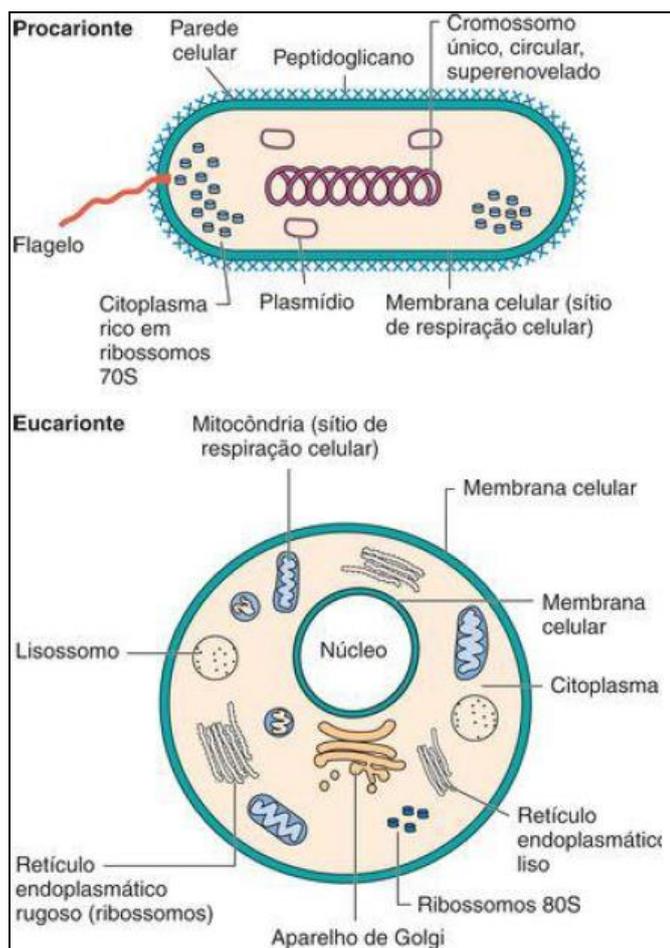


Figura 10 – Estrutura padrão de células procariontes e eucariontes (In: MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010, p.13).

4. MICRO-ORGANISMOS

Os micro-organismos já existiam no planeta bilhões de anos antes do aparecimento das plantas ou animais. Eles têm uma incrível variedade genética e fisiológica que permite que eles sejam encontrados em locais que outros organismos não conseguem sobreviver (MADIGAN et al., 2012).

Diversos micro-organismos podem ser benéficos, sendo importantes na manutenção do equilíbrio do ambiente pela reciclagem dos elementos químicos, produção de alimentos, síntese de produtos químicos como vitaminas, ácidos orgânicos, enzimas, álcoois e drogas (como antibióticos), no tratamento de detritos, controle de pestes e limpeza de poluentes. Porém, podem também serem prejudiciais, sendo agentes causadores de diversas doenças (TALARO; TALARO, 2002; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Apenas uma pequena parcela desses micro-organismos é causadora de doenças, sendo de vital importância o conhecimento de quais são os causadores específicos, como são transmitidos, bem como a doença pode ser tratada (BLACK, 2002).

4.1. PATOGENICIDADE

A patogenicidade é a capacidade, depois de instalado no organismo humano ou animal, de um agente infeccioso produzir sintomas, que podem ser de maior ou menor proporção, entre os hospedeiros infectados (FILHO; ROUQUAYROL, 2006). Essa instalação de micro-organismos no corpo humano ocorre ao longo de toda a vida dos indivíduos, sadios ou não, de maneira intermitente (ANVISA, 2004).

Muitos dos micro-organismos são encontrados no interior ou na superfície do corpo não causando doenças, portando não patogênicos, sendo constituintes da microbiota normal (BLACK, 2002).

Dessas bactérias algumas são patogênicas ao homem, das quais podemos destacar: *Staphylococcus aureus*, as quais colonizam o homem desde o momento

da amamentação sendo um dos mais importantes patógenos ao ser humano (ANVISA, 2004), e em alguns casos quando resistentes a metilina, o maior responsável pelas mortes por infecções hospitalares (FRANÇA et al., 2009), *Salmonella typhi* e *Salmonella enteridis*, causadoras das febres tifoide e paratifoide que são doenças intestinais infecciosas agudas (BOSSOLAN, 2002), *Escherichia coli* relacionadas a surtos de diarreias (TRABULSI et al., 2005), *Mycobacterium tuberculosis*, causadora da tuberculose (ANVISA, 2004), onde devemos ficar atentos aos diferentes potenciais patogênicos de cada uma delas. A figura 11 relata o potencial patogênico de alguns micro-organismos.

Classe de Risco 1	(baixo risco individual e baixo risco para a comunidade) - organismo que não causa doença ao homem ou animal. Ex: microrganismos usados na produção de cerveja, vinho, pão e queijo. (<i>Lactobacillus casei</i> , <i>Penicillium camembertii</i> , <i>S. cerevisiae</i> , etc).
Classe de Risco 2	(risco individual moderado e risco limitado para a comunidade) - patógeno que causa doença ao homem ou aos animais, mas que não consiste em sério risco, a quem o manipula em condições de contenção, à comunidade, aos seres vivos e ao meio ambiente. As exposições laboratoriais podem causar infecção, mas a existência de medidas eficazes de tratamento e prevenção limita o risco. Exemplo: bactérias - <i>Clostridium tetani</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> ; vírus - EBV, herpes; fungos - <i>Candida albicans</i> ; parasitas - <i>Plasmodium</i> , <i>Schistosoma</i>
Classe de Risco 3	(elevado risco individual e risco limitado para a comunidade) - patógeno que geralmente causa doenças graves ao homem ou aos animais e pode representar um sério risco a quem o manipula. Pode representar um risco se disseminado na comunidade, mas usualmente existem medidas de tratamento e de prevenção. Exemplos: bactérias - <i>Bacillus anthracis</i> , <i>Brucella</i> , <i>Chlamydia psittaci</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ; vírus - hepatites B e C, HTLV 1 e 2, HIV, febre amarela, dengue; fungos - <i>Blastomyces dermatitidis</i> , <i>Histoplasma</i> ; parasitas - <i>Echinococcus</i> , <i>Leishmania</i> , <i>Toxoplasma gondii</i> , <i>Trypanosoma cruzi</i>
Classe de Risco 4	(elevado risco individual e elevado risco para a comunidade) - patógeno que representa grande ameaça para o ser humano e para aos animais, representando grande risco a quem o manipula e tendo grande poder de transmissibilidade de um indivíduo a outro. Normalmente não existem medidas preventivas e de tratamento para esses agentes. Exemplos: Vírus de febres hemorrágicas, Febre de Lassa, Machupo, Ébola, arnavírus e certos arbovírus.

Figura 11 – Potencial patogênico de alguns micro-organismos (In: ANVISA, 2004, p. 98).

Como pode ser visto o potencial patogênico é dividido em classes. Na classe 1 temos diversos micro-organismos que estão inseridos no nosso cotidiano e trazem benefícios ao ser humano, como por exemplo, os utilizados na produção de certos alimentos e bebidas. Já na classe 4 temos micro-organismos que podem ser

altamente prejudiciais ao ser humano.

4.2. BACTÉRIAS

As bactérias são micro-organismos procarióticos, em sua maioria unicelulares e, apesar dos por volta de 4 bilhões de anos de evolução, apresentam uma forma simples (PELCZAR JR; CHAN; KRIEG, 1996). Entre as principais características das células bacterianas estão suas dimensões, forma, estrutura e arranjo. Estes elementos constituem a morfologia da célula (TRABULSI et al., 2005). Embora o número de espécies bacterianas diferentes seja enorme, elas se apresentam de três maneiras gerais: Esféricas ou cocos, cilíndricas ou bacilos e de espiral (BOSSOLAN, 2002). Sendo essas as formas de interesse médico (TRABULSI et al., 2005).

As bactérias têm como unidade de medida de seu tamanho o micrômetro (10^{-6} m), sendo que as espécies que estudamos normalmente nos laboratórios medem aproximadamente de $0,5\mu\text{m}$ a $1,0\mu\text{m}$ por $2,0\mu\text{m}$ a $5,0\mu\text{m}$ (BOSSOLAN, 2002; PELCZAR JR; CHAN; KRIEG, 1996).

Segundo Trabulsi et al. (2005, p.7):

A forma das bactérias é uma característica genética e geralmente as bactérias são monomórficas, isto é, mantêm uma única forma. Entretanto, algumas condições ambientais e de cultivo podem fazer com que os micro-organismos apresentem formas ou arranjos diferentes.

Elas podem ser encontradas em suas formas características e também em grupos. Esses grupos ocorrem quando as células se dividem sem se separar, e dependendo do tipo de divisão formam grupos aos pares (*diplo*), em cadeias (*estrepto*), *tétrade*, cachos (*estafilo*) (BLACK, 2002). As figuras 12(A) e 12(B) representam as formas básicas das bactérias e seus arranjos.

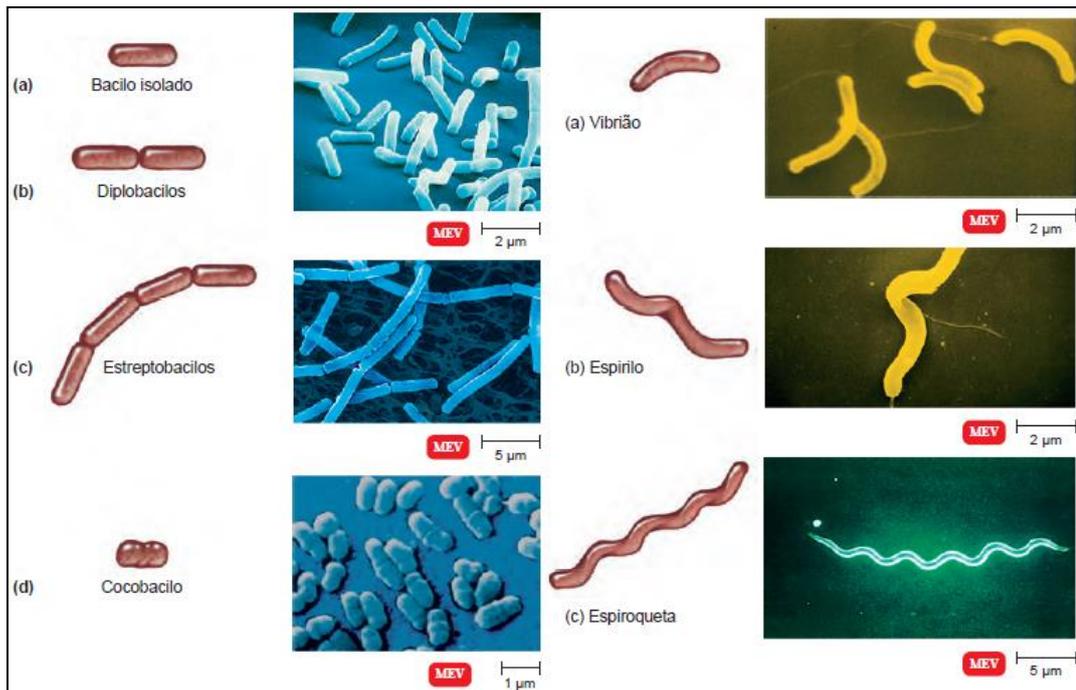


Figura 12(A) – Arranjo de bactérias em forma bacilos e espirilos (In: TORTORA; FUNKE; CASE, 2012, p. 78).

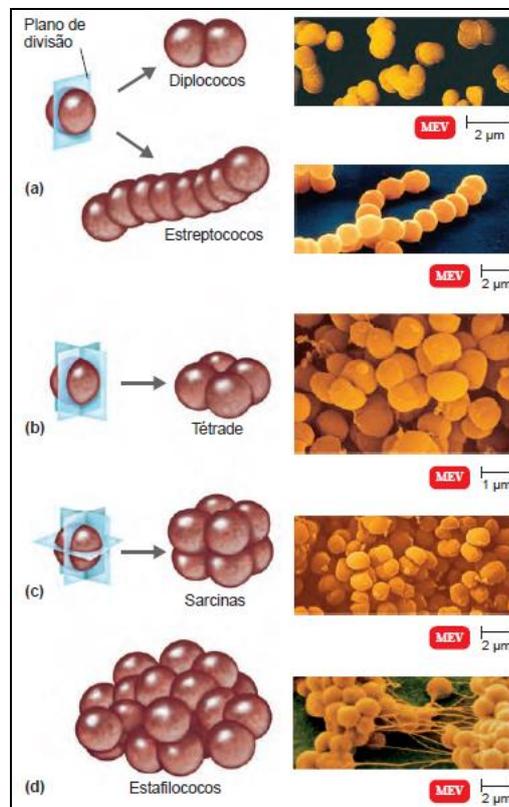


Figura 12(B) – Arranjo dos cocos (In: TORTORA; FUNKE; CASE, 2012, p. 78).

4.2.1. Faixas de temperatura para micro-organismos

Um dos fatores que influenciam no crescimento microbiano é a temperatura, tanto que, sabemos que todas as reações químicas são afetadas pela temperatura (PELCZAR JR; CHAN; KRIEG, 1996). Juntamente com o fato de que as células microbianas não são capazes de controlar sua temperatura, elas devem estar adaptadas ao ambiente em que estão inseridas (TALARO; TALARO, 2002). Sendo assim os micro-organismos foram divididos em três grupos considerando a melhor temperatura para o crescimento, onde o número de divisões celulares por hora é o melhor possível. Esses grupos são os Psicrófilos (crescem em baixas temperaturas), os Mesófilos (crescem em temperaturas moderadas) e os Termófilos (crescem em altas temperaturas) (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

Para qualquer um desses grupos existem três temperaturas importantes: a temperatura mínima, ótima e máxima, sendo respectivamente, a menor temperatura na qual a espécie pode crescer, a melhor temperatura para a espécie crescer e a maior temperatura de crescimento possível para a espécie (PELCZAR JR; CHAN; KRIEG, 1996; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

A grande maioria dos micro-organismos são mesófilos, apresentando uma temperatura boa de crescimento de 25 a 40°C, sendo próximo dos 37°C a melhor temperatura (PELCZAR JR; CHAN; KRIEG, 1996). Justamente por esse fato os micro-organismos de interesse médico pertencem aos mesófilos, já que o ser humano apresenta a temperatura corporal normal nessa faixa (BLACK, 2002; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

A figura 13 mostra a faixa de crescimento de cada grupo, sendo os picos a faixa ótima e ainda traz uma subdivisão mais atual dos psicrófilos e dos termófilos. Pois pesquisas recentes descobriram que certos micro-organismos psicrófilos conseguem suportar uma temperatura um pouco mais elevada (até 30°C sem morrer) sendo subdivididos em psicrotróficos e também alguns termófilos que suportam temperaturas ainda maiores (acima dos 100°C) que foram subdivididos em hipertermófilos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

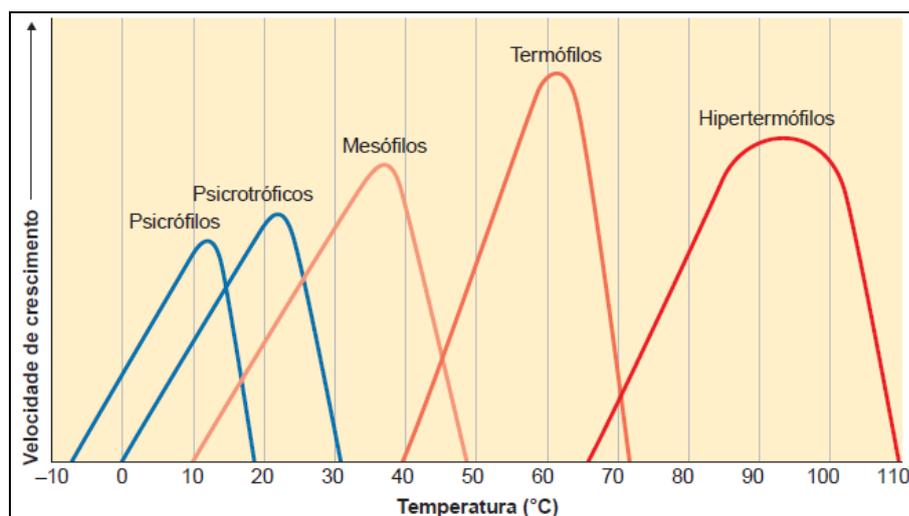


Figura 13 – Gráfico das faixas de temperatura de cada grupo (In: TORTORA; FUNKE; CASE, 2012, p. 157).

4.2.2. *Staphylococcus aureus*

Espécie mais importante dos estafilococos, o *Staphylococcus aureus* (figura 14), é assim denominado pela pigmentação amarelada das suas colônias (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012), *Staphylo* = cachos, *kokkus* = grão, *aureus* = áureo (BLACK, 2002).



Figura 14 - Agregados em forma de cachos de *Staphylococcus aureus* (In: TORTORA; FUNKE; CASE, 2012, p. 318).

Crescem com um perfil que se assemelha a cachos de uvas, porém, em material clínico podem também aparecer como células únicas, pares, ou cadeias curtas. Em

sua maioria medem de 0,5 a 1,5 μm de diâmetro, são imóveis, anaeróbios facultativos (podem crescer tanto em ambiente aeróbio como em ambiente anaeróbio), são capazes de crescer em meios contendo alta concentração de sal e a temperaturas que variam de 18°C a 40°C (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010).

Encontrado frequentemente na microbiota normal do corpo humano é uma das bactérias patogênicas mais importantes, já que atua em uma grande quantidade de infecções que podem ser localizadas e superficiais, até disseminadas e com elevada gravidade (ANVISA, 2004; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010; TRABULSI et al.; 2005).

Algumas características desses micro-organismos são responsáveis pelo seu grau de patogenicidade: Eles se desenvolvem relativamente bem sob condições de pressão osmótica elevada e baixa umidade, explicando parcialmente porque podem crescer e sobreviver nas secreções nasais e também em alguns alimentos com alta pressão osmótica (como presunto e outras carnes curtidas) ou em alimentos com baixa umidade, além do fato de produzirem diversas toxinas, assim aumentando sua capacidade de invadir o corpo e danificar os tecidos e a capacidade de desenvolver rapidamente resistência a antibióticos, sendo assim um grande risco para pacientes em ambientes médicos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

4.2.2.1. Principais Doenças

O *Staphylococcus aureus* é considerado um patógeno oportunista, pois é membro da microbiota normal e não produzem doença em seus locais normais, mas estabelecem doença quando são introduzidos em sítios desprotegidos, por exemplo, no sangue e tecidos rompidos (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010).

Esse micro-organismo é responsável por uma grande quantidade de infecções em humanos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Segundo Trabulsi et al. (2005) podendo ser divididas em três principais tipos:

As infecções superficiais, tais como os abscessos cutâneos e as infecções de feridas; as infecções sistêmicas, tais como osteomielite, miosite tropical, endocardite, pneumonia e septicemia e os quadros tóxicos, tais como síndrome do choque tóxico, síndrome da pele escaldada e a intoxicação alimentar.

A figura 15 mostra o dano causado a pele que descama devido o ataque de toxinas liberadas pelo micro-organismo.



Figura 15 - Lesões da síndrome da pele escaldada causadas por *S. aureus* (In: TORTORA; FUNKE; CASE, 2012, p. 588).

4.2.3. *Escherichia coli*

Escherichia coli (figura 16), juntamente com *Enterobacter aerogenes*, e *Klebsiella pneumoniae*, pertencem aos coliformes e são membros da família *Enterobacteriaceae*. Coliformes são definidos como facultativos anaeróbicos, não esporulados, bactérias em forma de bastonete, gram-negativas que fermentam a lactose com a formação de gás dentro de 48 horas a 35°C. A *E. coli* compõe a microbiota normal intestinal de seres humanos e de outros animais (WILEY; SHERWOOD; WOOLVERTON, 2009). Sua presença é benéfica e ajuda na

produção de certas vitaminas e participa da digestão de alimentos que não seriam digeridos sem a sua presença, porém algumas linhagens podem causar fortes diarreias (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

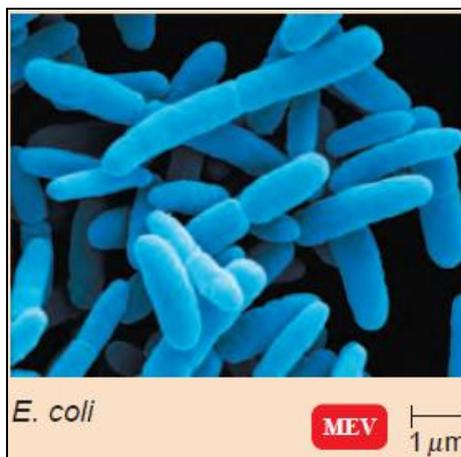


Figura 16 - Colônia de *Escherichia coli* (In: TORTORA; FUNKE; CASE, 2012, p. 276).

Apresenta incrível diversidade patogênica, compreendendo ao menos cinco categorias de amostras que causam infecção intestinal por diferentes mecanismos e é encontrada nas fezes de todos os indivíduos normais, tanto homem quanto animal, sendo essa estreita relação usada como parâmetro para verificar contaminação fecal da água e de alimentos (TRABULSI et al., 2005).

4.2.3.1. Principais doenças

Presente no corpo humano por toda a vida, a *E. coli*, faz parte da microbiota normal, mas, em contato com outras regiões do corpo, como pulmões, o trato urinário, medula espinal ou feridas, ela pode causar infecções pulmonares, infecções urinárias, meningites ou abscessos, respectivamente (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). É o organismo aeróbico mais comum responsável por doença intra-abdominal, considerado um patógeno oportunista (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010).

5. HISTÓRICO DAS GRANDES CONTAMINAÇÕES

As contaminações por micro-organismos vêm assolando a humanidade desde os primórdios da nossa existência até os dias atuais. Exemplos desse histórico de contaminação são muitos, tais como: formas de bactérias causadoras da tuberculose, descobertas na costa leste africana, revelando sua antiguidade genética (UJVARI, 2008); a Peste de Atenas, causada pela *Salmonella enterica serovar typhi* (REZENDE, 2009); a Peste Bubônica, causada pelo bacilo *Yersinia pestis*, que teve seus maiores danos na Idade Média (NASCIMENTO, 2011); a epidemia de cólera em 1854 na cidade de Londres, Inglaterra, causada pelo *V. cholerae* (FILHO; ROUQUAYROL, 2006), dentre tantos outros fatos que ocorreram no decorrer da história.

Grande parte dessas epidemias ocorreu em virtude das condições sanitárias das cidades e do desconhecimento da etiologia das doenças infecciosas (REZENDE, 2009). Esses acontecimentos, em alguns casos, dizimaram populações, causando efeitos demográficos, políticos, culturais e religiosos incomensuráveis (NASCIMENTO, 2011).

Todos esses acontecimentos associados à maior possibilidade de disseminação desses micro-organismos devido à mais intensa e rápida mobilidade do ser humano, à maior expectativa de vida e ao grande convívio em locais de uso comum geram grandes receios de novas epidemias (ALVES et al., 2010; UJVARI, 2008).

5.1. CONTAMINAÇÃO EM AMBIENTES FECHADOS

Com a tendência global da urbanização e industrialização as pessoas tem cada vez mais passado seu tempo em ambientes fechados, estima-se que por volta de 90% de nosso tempo estamos nesses ambientes, sendo exemplos disso, apartamentos, casas, escritórios e escolas (DALES et al., 2008; KELLEY; GILBERT, 2013; SILVA, 2008).

Nesse processo de mudança do habitat natural do homem da área rural para grandes centros e o desenvolvimento de nossas vidas em ambientes fechados tem criado diversos pequenos habitats que são colonizados por milhares de micro-organismos, os quais criam condições físico-químicas que antes não eram encontradas naturalmente (KELLEY; GILBERT, 2013).

Desde então a qualidade do ar interno (entende-se por ar interno aquele de áreas não industriais, como habitações, escritórios, escolas e hospitais) começou a ser estudada, pois é um importante fator a ser observado para garantir saúde aos ocupantes dos diferentes edifícios, bem como o ótimo desempenho de suas atividades (SCHILMER et al., 2011).

A preocupação com a Qualidade do Ar Interno (QAI) surgiu principalmente com a tendência em se construir edifícios selados (onde não há a troca de ar com o ambiente externo por janelas) por motivos econômicos, de estética, controle de ruído e mesmo climatização, o que causou um aumento nos casos de problemas relacionados à qualidade do ar de tais ambientes (NASCIMENTO, 2011; SCHILMER et al., 2011).

Nesse contexto diversas doenças infecciosas e alérgicas têm sido associadas à qualidade do ar em ambientes fechados, pois nesses locais existe uma enorme variedade de agentes biológicos (bactérias, fungos, grãos de pólen, ácaros e esporos) que podem ser associados a uma ampla gama de doenças (OMS, 1990). Sendo alguns exemplos de doenças que podemos citar: o Mal dos Legionários, a febre do umidificador, asma brônquica, pneumonia, entre outros (SCHILMER et al., 2011).

5.2. CONTAMINAÇÃO EM CONSULTÓRIOS MÉDICOS

Segundo a resolução número 9 da ANVISA (2003), em anexo, a definição de ambiente aceitável é: “ambientes livres de contaminantes em concentrações potencialmente perigosas à saúde dos ocupantes ou que apresentem um mínimo de 80% dos ocupantes destes ambientes sem queixas ou sintomatologia de

desconforto”.

O ambiente hospitalar é um grande reservatório de patógenos virulentos e oportunistas, apresentando risco de infecções não somente aos pacientes, os quais se apresentam mais susceptíveis, mas também as pessoas que frequentam esse local (ANVISA, 2004).

Nesse ambiente a água, os objetos, as bancadas e o ar apresentam uma grande relação com as infecções hospitalares (infecções nosocomiais), sendo as bactérias encontradas desse ambiente, em sua maioria, de origem humana (SILVA, 2008).

Por serem ambientes onde a circulação de ar é insuficiente pelo fato de janelas e portas serem mantidas fechadas, o ar torna-se viciado, aumentando a chance de contaminação por contaminantes biológicos, pois não há a ventilação natural que os dispersariam, propiciando a colonização de micro-organismos que podem trazer riscos à saúde (SOUSA; FORTUNA, 2011).

6. TÉCNICAS DE VERIFICAÇÃO DE CONTAMINAÇÕES

Existem algumas técnicas que podem ser utilizadas para verificar a contaminação nesses ambientes fechados tanto no ar como em superfícies. Para a análise do ar podemos usar o método de sedimentação, o qual consiste em expor as placas de petri (com os devidos meios de cultura para cada tipo específico de micro-organismo) por 15 minutos no ambiente a ser analisado (SOUSA; FORTUNA, 2011).

Outro método é o uso de amostradores de bioaerossóis (micro-organismos no ar) que segundo Dias (2010) pode ser resumido da seguinte maneira:

1. Uma placa de Petri, contendo um ágar apropriado aos micro-organismos, é instalada no impactador.
2. Aspira-se ar de amostragem através do impactador. A aspiração é feita com uma bomba de vácuo operando em regime “constante”, em torno de 28,3 L/min.
3. O ar com as partículas viáveis entra no impactador e acelera através dos orifícios de jateamento. As partículas maiores são inercialmente impactadas e retidas na placa com ágar, enquanto que as menores se deixam escapar para fora, através da saída na base do impactador e da mangueira da bomba.
4. Após o término da amostragem, registra-se o tempo decorrido da amostragem, remove-se a placa com a amostra, coloca-se a tampa de volta à placa e identifica-se a placa.
5. A placa de Petri é incubada e contada mediante um método aceitável. A contagem das partículas viáveis (bactérias e/ou fungos) é normalmente apresentada em termos de UFC (unidade de formação de colônias). Nota: UFC é tradução de CFU (colony forming unit).
6. Conhecendo-se o fluxo de ar, o tempo decorrido da amostragem e o número de colônias (UFC), tem-se então a concentração de bioaerossóis no ar, em termos de UFC/m³.

Nos dois casos as placas são levadas para análise no laboratório e colocadas em estufa por 48 horas a 37°C (SOUSA; FORTUNA, 2011).

A Organização Mundial da Saúde também monitora a quantidade de outros compostos, para avaliar a qualidade do ar interno, tais como: monóxido de carbono, benzeno, dióxido de nitrogênio, formaldeído, entre outros (OMS, 2010).

Para a análise de superfícies a técnica empregada é do *SWAB*. Essa técnica consiste basicamente de uma haste com algodão na ponta (um cotonete) que pode

ser usada embebida em soluções ou à seco que é esfregada na superfície que deseja-se analisar (BROWN, 2001; PAGNOCCA; SETTE, 2013).

O método de *SWAB* é amplamente utilizado, como por exemplo, em mucosas para análises de contaminantes microbiológicos (ANVISA, 2004), em perícias criminais (TEIXEIRA, 1998), análises microbiológicas em revistas (CHARDOCK, 2005).

7. APLICAÇÃO NO ENSINO MÉDIO

Apesar de diversas legislações desde 1930 proporem um ensino de Química orientado pelos preceitos do método experimental e em 1978, a Proposta Curricular de Química do Estado de São Paulo também enfatizar essa necessidade de usos de laboratórios para uma melhor compreensão (CURRÍCULO DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2011) e das diversas críticas ao método de ensino de química onde o professor expõe as informações e o aluno fica passivamente como um mero ouvinte, na grande maioria dos casos, o ensino ainda é realizado dessa maneira tradicional (GUIMARÃES, 2009).

São muitos os autores que defendem experimentação no ensino de Química, pois essa prática constitui um recurso pedagógico importante no auxílio da construção de diversos conceitos (FERREIRA, HARTWIG, OLIVEIRA, 2009) onde, essas experiências podem ser uma estratégia eficiente para a criação de problemas reais que permitam a contextualização e o estímulo de questionamentos de investigação (GUIMARÃES, 2009).

Contextualização que tornaria a aprendizagem significativa, pois as informações, quase sempre, que os professores expõem não se relaciona com o conhecimento prévio adquirido por esses alunos no decorrer de suas vidas, e quando não existe uma relação do que está sendo ensinado com o que o aluno já sabe ou percebe indícios, a aprendizagem não é significativa (GUIMARÃES, 2009).

Devido aos pontos acima citados, que demonstram a importância da prática em química para uma melhor assimilação dos conteúdos teóricos é proposto um experimento com alunos do Ensino Médio de testar se realmente os produtos desinfetantes presentes no mercado são eficientes, já que é um tema tão comum no cotidiano.

7.1. MATERIAIS E MÉTODOS

7.1.1. Materiais e Reagentes

- Desinfetante;
- Placas de petri;
- Zaragatoas (espécies de cotonetes utilizados para obtenção de amostras a serem testadas);
- Solução salina estéril;
- Peptona;
- Extrato de carne;
- Extrato de levedura;
- Ágar;
- Balança;
- Bico de Bunsen;
- Erlenmeyer;
- Água destilada.

7.1.2. Métodos

Para realizar essa experiência podem ser utilizados dois meios de cultura comuns na rotina dos laboratórios de microbiologia: ágar simples e ágar Sabourand.

Para o ágar simples deve-se pesar em uma balança 1,0g de peptona, 0,3g de extrato de carne, 0,5g de NaCl, 1,5g de ágar e misturar tudo em um erlenmeyer juntamente com 100mL de água destilada. Para o ágar Sabourand deve-se pesar

em uma balança 1,0g de peptona, 0,5g de extrato de levedura, 2,0g de glicose, 1,5g de ágar e misturar tudo em um erlenmeyer juntamente com 100mL de água destilada. Colocam-se os meios de cultura nas placas de petri.

Logo após deve-se escolher a área a ser analisada, dividindo essa área em duas partes. Na primeira não será feito o uso do desinfetante e na segunda parte será feito. Então próximo à chama, molhe a zaragatoa na solução salina e passe na “área suja”. Depois passe a zaragatoa no meio de cultura, repetindo o processo para a área onde foi utilizado o desinfetante, para assim ser feita uma comparação dos dois meios de cultura posteriormente, do crescimento ou não de micro-organismos nas placas.

8. MATERIAIS E MÉTODOS

8.1. MATERIAIS

- Placas de petri;
- Estufa de esterilização TE 397/4 TECNAL;
- Tubos de ensaio com tampa;
- Água peptonada Synth;
- Erlenmeyer de 500mL;
- Proveta de 100mL;
- Meio de cultura ABP (Baird Parker Agar Base) Synth;
- Meio de cultura EMB (Ágar eosina-azul de metileno-lactose segundo teague) Synth;
- Meio de cultura PCA (Plate Count Agar) Synth;
- Grade de suporte;
- Pinça de metal;
- Pipetas de 2mL e 5mL;
- Autoclave vertical Phoenix AV-30;
- Estufa bacteriológica TE 398/2;
- Fluxo laminar Trox 1341;
- Solução salina;
- Bico de Bunsen;
- Balança semianalítica Digimed KN15;
- Zaragatoas (SWABs);
- Alça de Drigalski;

- Alça de platina.

8.2. MÉTODOS

8.2.1. Preparo dos meios de cultura

Todas as placas de petri utilizadas foram esterilizadas em estufa de esterilização por 1 hora a 180°C.

Os meios de cultura foram pesados em balança semianalítica nos erlenmeyers com as quantidades indicadas pelo fornecedor. Adicionou-se água destilada. Agitou-se e em seguida colocou-se na autoclave. Juntamente foram colocados palitos para *SWABs* dentro de tubos de ensaio vazios. Os materiais foram esterilizados em autoclave por 15 minutos na pressão de 1 atm a 121°C.

O plaqueamento foi realizado em fluxo laminar para que os micro-organismos do ambiente não contaminassem os meios de cultura.

8.2.2. Amostragem

Realizaram-se análises microbiológicas do ar e das revistas em dois consultórios dentista, uma clínica geral e uma clínica gástrica, todos situados na região de Assis/SP.

Para a análise do ar colocou-se duas placas de petri abertas contendo o meio de cultura PCA na região central da sala de espera por 15 minutos para que os micro-organismos presentes sedimentassem na placa.

Para análise das superfícies de revistas realizou-se a técnica de *SWAB*. Umedeceu-se o palito de *SWAB* em solução peptonada 0,1% e esfregou-se na capa das revistas, como pode ser visto na figura 17. Colocou-se o *SWAB* no tubo contendo água peptonada e fechou-os para transporte e posterior inoculação.



Figura 17 – SWAB sendo esfregado na capa da revista.

8.2.3. Inoculação

A inoculação foi feita em fluxo laminar. Para análise qualitativa os SWABs utilizados nas coletas foram semeados em duplicata em placas de petri com os meios de cultura para contagem padrão, *S. aureus* e *E. coli*. Para análise quantitativa foi colocado 0,1mL da água peptonada em que o SWAB encontrava-se imerso nas placas de petri contendo os meios para contagem padrão, *S. aureus* e *E. coli*. Para contagem padrão foi colocado 1mL. Realizou-se diluição 10^{-1} (1mL da amostra foi transferida para um tubo contendo 9 mL de peptona 0,1%), para que contagem pudesse ser realizada caso houvesse grande crescimento microbiano. Para comprovar que as amostras não foram contaminadas por algum fator externo foram preparadas placas que serviram como branco.

Todas as análises foram realizadas em duplicata para maior confiabilidade. As placas foram levadas para estufa bacteriológica a 37°C por 48 horas.

9. RESULTADOS E DISCUSSÕES

9.1. ANÁLISE DO AR

Nas análises de contagem padrão para a qualidade microbiológica do ar foi observado crescimento bacteriano em todos os consultórios e também foi possível observar o crescimento de fungos, mesmo o meio não sendo específico para essa finalidade. A figura 18 mostra as placas para contagem padrão utilizadas no consultório dentista 1 (A) e no consultório dentista 2 (B) após as 48 horas de incubação com crescimento de micro-organismos.

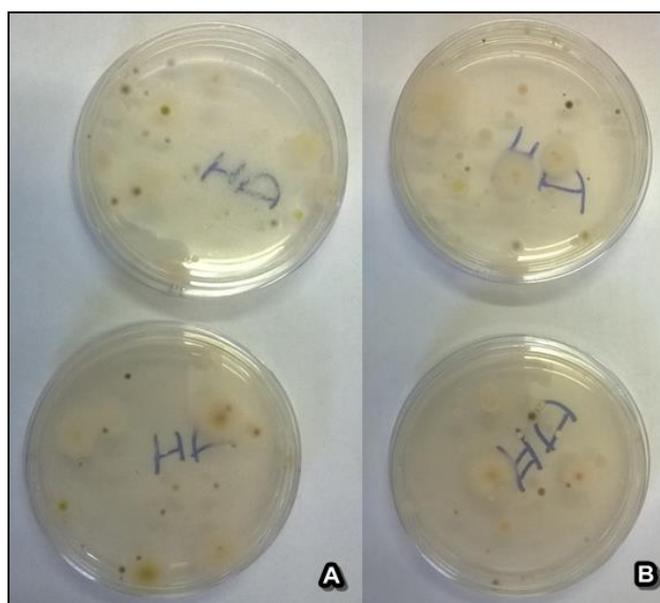


Figura 18 – Placas das análises do ar (A) Consultório dentista 1 e (B) Consultório dentista 2.

Nota-se que nos dois casos houve elevado crescimento bacteriano e também houve crescimento de fungos. Ambos os consultórios apresentavam baixa circulação de ar (eram ambientes mantidos fechados) e situados em locais com pouca incidência de luz solar. Ambos possuem sistema de ar condicionado. Visualmente os dois

consultórios pareciam limpos.

A figura 19 mostra as placas para contagem padrão utilizadas na clínica geral (A) e na clínica gástrica (B) após as 48 horas de incubação com crescimento de micro-organismos.

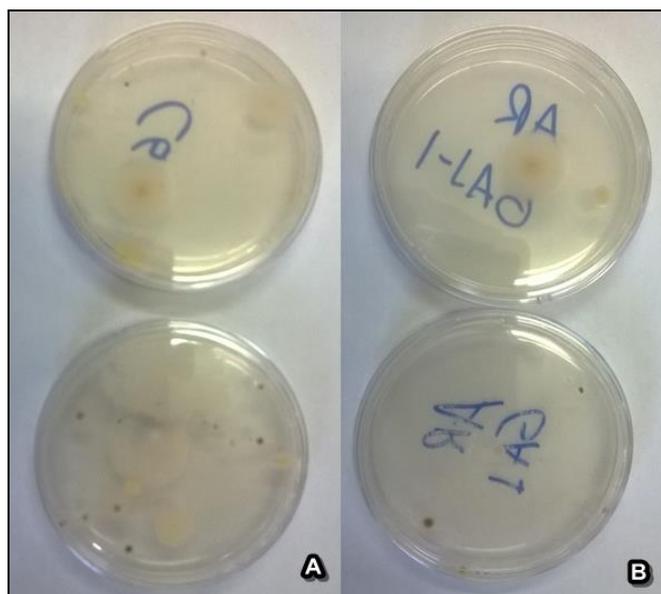


Figura 19 – Placas das análises do ar (A) clínica geral e (B) clínica gástrica.

Nota-se maior crescimento bacteriano na clínica geral (A) do que na clínica gástrica. Talvez o menor crescimento de micro-organismos na clínica gástrica seja devido ao fato de o local realizar certos procedimentos cirúrgicos e então a preocupação com agentes contaminantes ser maior. Ambas as clínicas possuem sistema de ar condicionado. Os resultados obtidos na contagem padrão das placas utilizadas para análise do ar podem ser observados na tabela 2.

	BRANCO	DENTISTA 1	DENTISTA 2	CLÍNICA GÁSTRICA	CLÍNICA GERAL
CONTAGEM PADRÃO (UFC)	AUSENTE	24	29	3	15

Tabela 2 – Resultados obtidos na contagem padrão das análises do ar.

Observando-se a tabela 2 que apresenta todos os resultados das análises do ar podemos perceber que os consultórios dentistas apresentaram maior contaminação do que nas clínicas, sendo então importante uma maior atenção aos sistemas de ar desses locais, com um controle e limpeza mais efetivos.

9.2. ANÁLISE DAS REVISTAS

A figura 20 mostra as placas de controle sem crescimento microbiano, comprovando que não houve contaminação por algum fator externo. Sendo (A) o controle para *E. coli* e (B) o controle para contagem padrão.

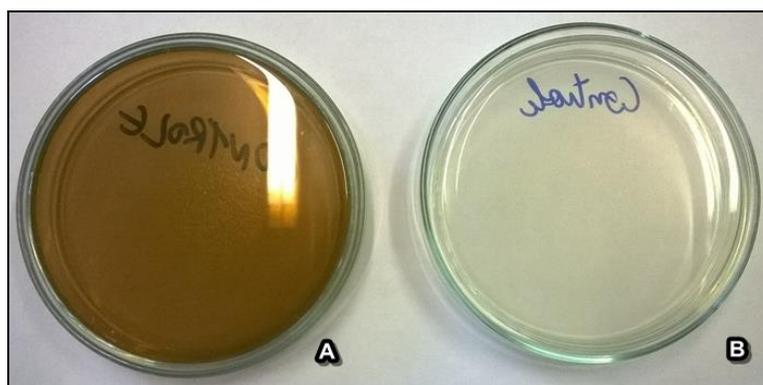


Figura 20 – Placas de controle para *E. coli*(A) e contagem padrão (B).

A figura 21 apresenta as placas referentes às análises realizadas na revista da clínica gástrica. As revistas que se encontravam na sala de espera apresentavam um aspecto de pouco desgaste e em sua maioria tinham de 1 mês até 3 meses. À esquerda observam-se as culturas de *E. coli*, no centro culturas de *S. aureus* e à direita contagem padrão. A placa 1 (não em duplicata) é o controle, as placas 2 são referentes a análise qualitativa, as placas 3 e 4 são referentes as análises quantitativas, sendo as placas 4 da diluição 10^{-1} .

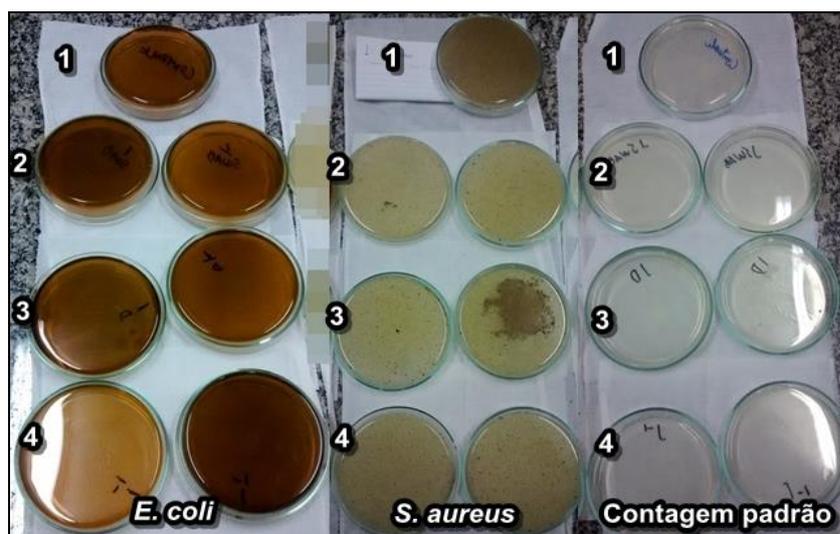


Figura 21 – Placas de petri referentes à análise da revista na clínica gástrica.

A tabela 3 apresenta os resultados obtidos nas análises qualitativas (SWAB) e quantitativas (UFC/0,1mL) na clínica gástrica.

	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	Bactérias mesófilas totais*
SWAB	AUSENTE	AUSENTE	PRESENTE
Contagem UFC/0,1mL	AUSENTE	AUSENTE	3
* Nas bactérias mesófilas totais os valores são referentes à 1mL			

Tabela 3 - Resultados obtidos nas análises da revista na clínica gástrica.

Observa-se que não houve crescimento nas placas para *E. coli*. Nas placas para crescimento de *S. aureus* houve crescimento de um micro-organismo que não apresentou características de *S. aureus*. Nas placas de contagem padrão houve crescimento de micro-organismos.

A figura 22 apresenta as placas referentes às análises realizadas na revista da clínica geral. As revistas encontravam-se na sala de espera e foi analisada a revista

que se encontrava por cima das demais. Todas eram revistas com pouco tempo de uso (1 mês até 4 meses).

À esquerda observam-se as culturas de *E. coli*, no centro culturas de *S. aureus* e à direita contagem padrão. A placa 1 (não em duplicata) é o controle, as placas 2 são referentes a análise qualitativa, as placas 3 e 4 são referentes as análises quantitativas, sendo as placas 4 da diluição 10^{-1} .

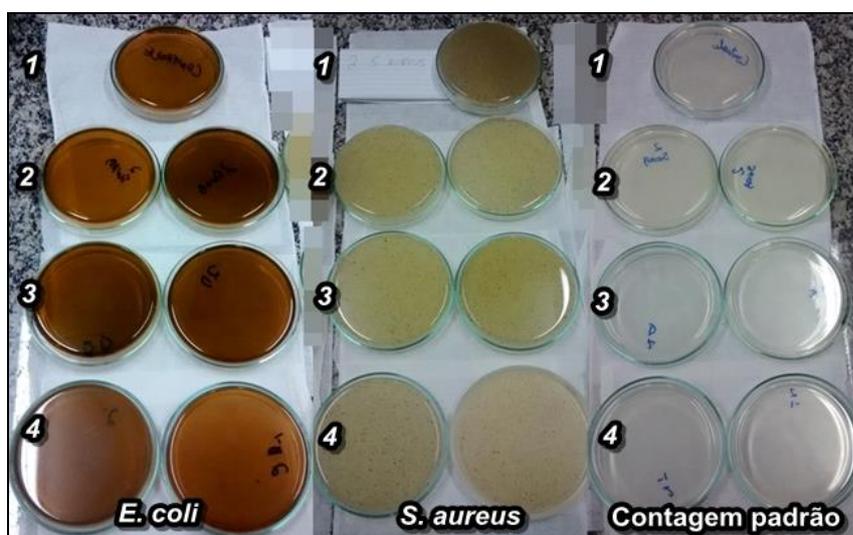


Figura 22 – Placas de petri referentes à análise da revista na clínica geral.

A tabela 4 apresenta os resultados obtidos nas análises qualitativas (SWAB) e quantitativas (UFC/0,1mL) na clínica geral.

	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	Bactérias mesófilas totais*
SWAB	AUSENTE	AUSENTE	PRESENTE
Contagem UFC/0,1mL	AUSENTE	AUSENTE	9
* Nas bactérias mesófilas totais os valores são referentes à 1mL			

Tabela 4 - Resultados obtidos nas análises da revista na clínica geral.

Observa-se que não houve crescimento nas placas para *E. coli*. Nas placas para crescimento de *S. aureus* houve crescimento de um micro-organismo que não apresentou características de *S. aureus*. Nas placas de contagem padrão houve crescimento de micro-organismos.

A figura 23 apresenta as placas referentes às análises realizadas na revista no consultório dentista 1. As revistas encontravam-se na sala de espera e foi analisada a revista que se encontrava por cima das demais. Eram revistas que apresentavam enorme desgaste devido ao grande uso e ao tempo que ali se encontravam (revistas de até 2 ano).

À esquerda observam-se as culturas de *E. coli*, no centro culturas de *S. aureus* e à direita contagem padrão. A placa 1 (não em duplicata) é o controle, as placas 2 são referentes a análise qualitativa, as placas 3 e 4 são referentes as análises quantitativas, sendo as placas 4 da diluição 10^{-1} .

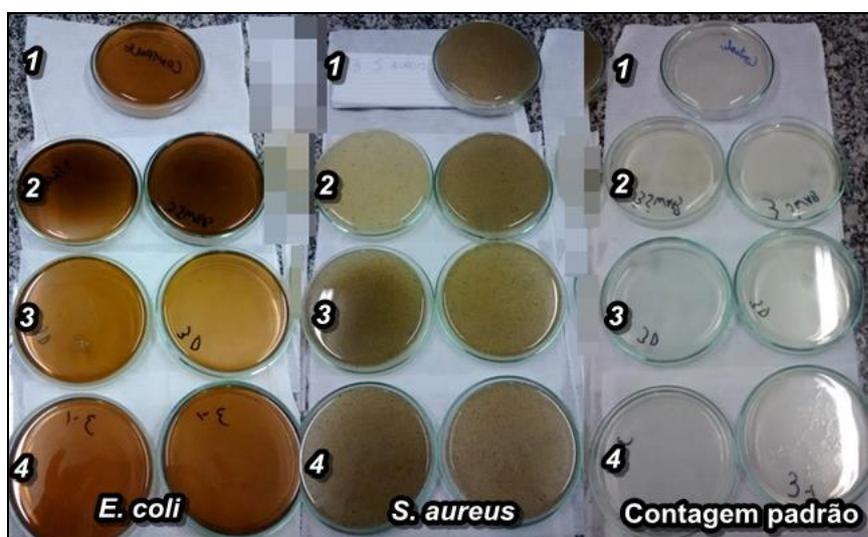


Figura 23 – Placas de petri referentes à análise da revista no consultório dentista 1.

A tabela 5 apresenta os resultados obtidos nas análises qualitativas (SWAB) e quantitativas (UFC/0,1mL) no consultório dentista 1.

	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	Bactérias mesófilas totais*
SWAB	AUSENTE	AUSENTE	PRESENTE
Contagem UFC/0,1mL	AUSENTE	AUSENTE	51
* Nas bactérias mesófilas totais os valores são referentes à 1mL			

Tabela 5 - Resultados obtidos nas análises da revista do consultório dentista 1.

Observa-se que não houve crescimento nas placas para *E. coli*. Nas placas para crescimento de *S. aureus* houve crescimento de um micro-organismo que não apresentou características de *S. aureus*. Nas placas de contagem padrão houve grande crescimento de micro-organismos.

A figura 24 apresenta as placas referentes às análises realizadas na revista no consultório dentista 2. As revistas encontravam-se na sala de espera e foi analisada a revista que se encontrava por cima das demais.

À esquerda observam-se as culturas de *E. coli*, no centro culturas de *S. aureus* e à direita contagem padrão. A placa 1 (não em duplicata) é o controle, as placas 2 são referentes a análise qualitativa, as placas 3 e 4 são referentes as análises quantitativas, sendo as placas 4 da diluição 10^{-1} .

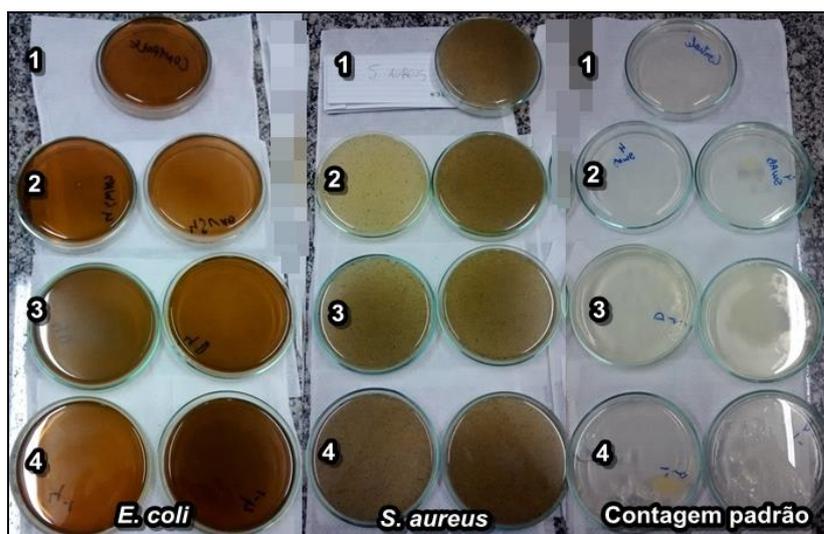


Figura 24 – Placas de petri referentes à análise da revista no consultório dentista 2.

A tabela 6 apresenta os resultados obtidos nas análises qualitativas (SWAB) e quantitativas (UFC/0,1mL) no consultório dentista 2.

	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	Bactérias mesófilas totais*
SWAB	AUSENTE	AUSENTE	PRESENTE
Contagem UFC/0,1mL	AUSENTE	AUSENTE	26
* Nas bactérias mesófilas totais os valores são referentes à 1mL			

Tabela 6 - Resultados obtidos nas análises da revista do consultório dentista 2

Observa-se que não houve crescimento nas placas para *E. coli*. Nas placas para crescimento de *S. aureus* houve crescimento de um micro-organismo que não apresentou características de *S. aureus*. Nas placas de contagem padrão houve crescimento de micro-organismos.

Essas análises foram realizadas em um dia em que a temperatura era elevada (a

semana toda teve temperaturas elevadas, de 27 a 30°C), podendo os resultados serem diferentes em uma época de temperaturas mais baixas. Pois a incidência de certas doenças aumenta, a população fica mais tempo em locais fechados e o ar torna-se mais viciado ainda pelo maior isolamento das janelas para que o ar frio não adentre.

Como realizado por Chaddock, 2005, em pesquisa semelhante, bactérias com potencial patogênico não foram encontradas nas análises. Porém tanto a análise do ar quanto da superfície das revistas apresentou um crescimento inesperado de fungos, talvez pelo fato de serem micro-organismos mais resistentes do que as bactérias as adversidades do ambiente. Sendo necessária uma maior atenção ao controle da qualidade do ar, realizando-se a manutenção e limpeza correta dos sistemas de ar, pois a falta de condições de uso adequadas pode resultar em contaminação do ambiente por meio do ar (SOUSA; FORTUNA, 2011).

A má qualidade do ar pode resultar infecções e reações alérgicas, resultando em doenças e outros desconfortos (NASCIMENTO, 2011; OMS, 1990; SCHILMER et al., 2011, SOUSA; FORTUNA, 2011).

10. CONCLUSÃO

A respeito das análises da qualidade do ar conclui-se que os ambientes analisados nesse trabalho apresentaram contaminação. Sendo necessária uma atenção especial quanto aos sistemas de ar.

Para as análises das superfícies de revistas, não foi observada contaminação por *E. coli* ou *S. aureus*, demonstrando então não serem locais de grande risco quanto à presença desses micro-organismos e então não justificando a retirada de revistas das salas de espera. Porém para contagem padrão os resultados foram os seguintes: a clínica geral foi de 9 UFC/mL, na clínica gástrica foi de 3 UFC/mL, no consultório dentista 1 foi de 41 UFC/mL e no consultório dentista 2 foi de 26 UFC/mL.

Como as placas de contagem padrão apresentaram crescimento de micro-organismos, é interessante que em trabalhos futuros sejam analisadas uma variedade maior de micro-organismos a fim de verificar se há algum de alto grau patogênico.

REFERÊNCIAS

ALVES, Amanda P.; SOUZA, Daniele; BORGES, Jorge G.; ROCHA, Michael A. da; JESUS, Raquel P. de. Análise asséptica em ambientes de uso comum no *campus* da Universidade Castelo Branco, Realengo. **Revista Eletrônica Novo Enfoque**, v.11, n.11, 2010. p 21-26.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde. In: IX CONGRESSO BRASILEIRO DE CONTROLE DE INFECÇÃO E EPIDEMIOLOGIA HOSPITALAR, 2004, Salvador, Brasil. **IX Congresso Brasileiro de Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar**, setembro, 2004. 381p.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior em Ambientes Climatizados Artificialmente de Uso Público e Coletivo**. Resolução n.9. Tecnologia de Serviços de Saúde. Brasília, 2003.

BLACK, Jacquelyn G.; **Microbiologia: fundamentos e perspectivas**. 4. ed. Tradução de Eiler Fritsch Toros. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2002.

BOSSOLAN, Nelma R. Segnini. Introdução à Microbiologia. **DISCIPLINA BIOLOGIA 3 - INTRODUÇÃO À MICROBIOLOGIA**. Universidade de São Paulo, Instituto de Física de São Carlos, São Carlos, 2002, 67 p.

BROWN, Alfred E.. **Benson's Microbiological Applications**. 8. ed. Editora: McGraw-Hill Companies. Nova York, 2001.

CHARDOCK, Colin. Swabbing of waiting room magazines reveals only low levels of bacterial contamination. **British Journal of General Practice**, n. 55, janeiro, 2005, p. 37-39.

CURRÍCULO DO ESTADO DE SÃO PAULO, **Ciências da Natureza e suas Tecnologias**, 1. ed. São Paulo, Editora Atual, 2011.

DALES, Robert; LIU, Ling; WHELLER, Amanda J.; GILBERT, Nicholas L.. Quality of indoor residential air and health. **CMAJ - Canadian Medical Association Journal**, v. 179, n. 2, julho 2008, p. 147-52.

DIAS, José Wanderley Coelho. **Amostrador de bioaerossóis de um estágio/n6**. Rio de Janeiro: Editora Energética, 2010.

FERREIRA, Luís Henrique, HARTWIG, Dácio R., OLIVEIRA, Ricardo Castro de, Ensino Experimental de Química: Uma Abordagem Investigativa Contextualizada. **Revista Química Nova na Escola**, v.32, n.2, maio, 2010, p. 101-106.

FILHO, Naomar de Almeida; ROUQUAYROL, Maria Zélia. **Introdução à Epidemiologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2006.

FRANÇA, Hildegardo Seibert; KUSTER, Ricardo Machado; RITO, Priscila da Nóbrega, OLIVEIRA, Adriana Passos de, TEIXEIRA, Lenise Arneiro, ROCHA, Leandro. Atividade antibacteriana de floroglucínóis e do extrato hexânico de *Hypericum brasiliense Choisy*. **Revista Química Nova**, v. 32, n.5, 2009, p. 1103-1106.

GUIMARÃES, Cleidson Carneiro. Experimentação no Ensino de Química: Caminhos e Descaminhos Rumo à Aprendizagem Significativa. **Revista Química Nova na Escola**, v. 31, n. 3, agosto, 2009, p. 198-202.

KELLEY, Scott T.; GILBERT, Jack A. Studying the microbiology of the indoor environment. **Genome Biology**. v. 14, n. 204, fevereiro, 2013, p. 1-9.

LEBOFFE, Michael J.; PIERCE, Burton E.; **A Photographic Atlas for the Microbiology Laboratory**. 4. ed. Englewood: Editora Morton Publishing Company, 2011.

MADIGAN, Michael T.; MARTINKO, John M.; STAHL, David A.; CLARK, David P.; **Brock Biology of Microorganisms**. 13. ed. São Francisco: Editora Benjamin Cummings, 2012.

MURRAY, Patrick R.; ROSENTHAL, Ken S.; PFALLER, Michael A.; **Microbiologia Médica**. 6. ed. Tradução Carlos Pelleschi Taborda et al. Rio de Janeiro. Editora: Elsevier Ltda, 2010.

NASCIMENTO, Dilene R. do. Quando a peste aportou no Brasil no ano de 1899. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE HISTÓRIA – ANPUH, 16, 2011, São Paulo, Brasil. **Anais do XXVI Simpósio Nacional de História**, v.1, julho, 2011, p.1-13.

NASCIMENTO, Guilherme Caetano do. **Avaliação da qualidade do ar em ambientes internos: biblioteca pública**. 2011. 170p. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Hidráulica e Saneamento – Universidade de São Paulo – São Carlos, 2011.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Indoor air quality: biological contaminants**. In: WHO meeting, n. 31, Rautavaara, 29 August -2 September 1988. WHO regional publications, European series, 1990. 75p.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **WHO guidelines for indoor air quality: selected pollutants**. Publications WHO Regional Office for Europe, 2010. 484p.

PAGNOCCA, Fernando C.; SETTE, Lara. **Isolamento de Micro-organismos**. UNESP/ Rio Claro. Disponível em: www.rc.unesp.br/ib/bioquimica/aula7fernando.doc. Acesso em: 14 mai. 2013.

PELCZAR JR, Michael Joseph; CHAN, E. C. S.; KRIEG, Noel R.; **Microbiologia: conceitos e aplicações**, volume I, 2ª ed. Tradução de Sueli Fumie Yamada, Tania Ueda Nakamura, Benedito Prado Dias Filho, São Paulo: Editora Makron books, 1996.

REZENDE, Joffre Marcondes de. **À sombra do Plátano**. 1. ed. São Paulo: Editora Fap-Unifesp, 2009.

SCHILMER, Waldir Nagel; PIAN, Lucas Bischof; SZYMANSKI, Mariani Sílvia Ester; GAUER, Mayara Ananda. A poluição do ar em ambientes internos e a síndrome dos edifícios doentes. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, n. 8, agosto, 2011, p. 3583-90.

SILVA, Emília R. Souza dos Santos. **Avaliação microbiológica do ar em ambiente Hospitalar**. 2008. 99p. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Biologia - Universidade de Aveiro, Aveiro, 2008.

SOUSA, Katilane Silva de; FORTUNA, Jorge Luiz. Micro-organismos em ambientes climatizados de consultórios odontológicos em uma cidade no extremo sul da Bahia. **Revista Baiana de Saúde Pública**. v.35, n.2, abril/junho, 2011. p.250-263.

TALARO, Kathleen Park; TALARO, Arthur. **Foundations on Microbiology**. 4. ed.

Pasadena. Editora: The McGraw–Hill Companies, Inc, 2002.

TEIXEIRA, Wilmes R. G.. A Importância do Swab na Perícia de Estupro. **Revista IMESC**, n.1, 1998.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L.. **Microbiologia**, 10. ed. Tradução de Aristóbolo Mendes da Silva. Porto Alegre. Editora Artmed, 2012.

TRABULSI, Luiz Rachid; ALTERTHUM, Flavio; MARTINEZ, Marina Baquerizo; CAMPOS, Leila Carvalho; GOMPERTZ, Olga Fischman; RÁCZ; Maria Lucia. **Microbiologia**, 4. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

UFMT, **Higienização das Mãos**. Hospital universitário Júlio Müller - Universidade Federal do Mato Grosso. Disponível em:<
<http://www.ufmt.br/hujm/arquivos/e2a4d1826a78a35703d4c497826c4e64.pdf>>.

Acesso em: 19 set. 2013.

UJVARI, Stefan C. A história da disseminação dos micro-organismos. **Estudos Avançados**, v.22, n.64, setembro, 2008, p. 171-182.

WILEY, Joanne M.; SHERWOOD, Linda M.; WOOLVERTON, Christopher J.; **Prescott's principles of microbiology**, 1ª ed., Nova York: Editora The McGraw-Hill Companies, Inc, 2009.

ANEXO

RESOLUÇÃO – RE Nº9, DE 16 JANEIRO DE 2003. Página 3 da resolução.

II - ABRANGÊNCIA O Grupo Técnico Assessor elaborou a seguinte Orientação Técnica sobre Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo, no que diz respeito a definição de valores máximos recomendáveis para contaminação biológica, química e parâmetros físicos do ar interior, a identificação das fontes poluentes de natureza biológica, química e física, métodos analíticos (Normas Técnicas 001, 002, 003 e 004) e as recomendações para controle (Quadros I e II). Recomendou que os padrões referenciais adotadas por esta Orientação Técnica sejam aplicados aos ambientes climatizados de uso público e coletivo já existentes e aqueles a serem instalados. Para os ambientes climatizados de uso restrito, com exigências de filtros absolutos ou instalações especiais, tais como os que atendem a processos produtivos, instalações hospitalares e outros, sejam aplicadas as normas e regulamentos específicos.

III - DEFINIÇÕES Para fins desta Orientação Técnica são adotadas as seguintes definições, complementares às adotadas na Portaria GM/MS n.º 3.523/98: a) Aerodispersóides: sistema disperso, em um meio gasoso, composto de partículas sólidas e/ou líquidas. O mesmo que aerosol ou aerossol. b) ambiente aceitável: ambientes livres de contaminantes em concentrações potencialmente perigosas à saúde dos ocupantes ou que apresentem um mínimo de 80% dos ocupantes destes ambientes sem queixas ou sintomatologia de desconforto, 2 c) ambientes climatizados : são os espaços fisicamente determinados e caracterizados por dimensões e instalações próprias, submetidos ao processo de climatização, através de equipamentos. d) ambiente de uso público e coletivo: espaço fisicamente determinado e aberto a utilização de muitas pessoas. e) ar condicionado: é o processo de tratamento do ar, destinado a manter os requerimentos de Qualidade do Ar Interior do espaço condicionado, controlando variáveis como a temperatura, umidade, velocidade, material particulado, partículas biológicas e teor de dióxido de carbono (CO₂). f) Padrão Referencial de Qualidade do Ar Interior : marcador qualitativo e quantitativo de qualidade do ar ambiental interior, utilizado como sentinela para determinar a necessidade da busca das fontes poluentes ou das intervenções ambientais g) Qualidade do Ar Ambiental Interior: Condição do ar ambiental de interior, resultante do processo de ocupação de um ambiente fechado com ou sem climatização artificial. h) Valor Máximo Recomendável: Valor limite recomendável que separa as condições de ausência e de presença do risco de agressão à saúde humana.

IV - PADRÕES REFERENCIAIS Recomenda os seguintes Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior em ambientes climatizados de uso público e coletivo.