



UNIVERSIDADE FEDERAL DO NORTE DO TOCANTINS
CAMPUS DE ARAGUAÍNA - EMVZ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE ANIMAL E SAÚDE PÚBLICA NOS
TRÓPICOS

JOÃO PAULO ARAÚJO FERREIRA

**ANÁLISE DA OCORRÊNCIA, DIVERSIDADE E EFICIÊNCIA DO
CONTROLE DE FUNGOS EM UM AMBIENTE HOSPITALAR
VETERINÁRIO**

Araguaína/TO

2024

João Paulo Araújo Ferreira

Análise da ocorrência, diversidade e eficiência do controle de fungos em um ambiente hospitalar veterinário

Defesa a ser apresentada ao Programa de Pós-graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos da Universidade Federal do Norte do Tocantins, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos

Orientadora: Dra. Bruna Alexandrino

Co-orientador: Taidés Tavares dos Santos

Araguaína/TO

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

- A663a Araujo Ferreira, João Paulo.
 Análise da ocorrência, diversidade e eficiência do controle de fungos em um ambiente hospitalar veterinário. / João Paulo Araujo Ferreira. – Araguaína, TO, 2024.
 68 f.
- Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Araguaína - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos, 2024.
 Orientadora : Bruna Alexandrino
 Coorientador: Taides Tavares dos Santos
1. Micologia. 2. Clínica Veterinária. 3. Dermatofitos. 4. Centro Cirúrgico. I.
 Titulo

CDD 636.089

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Análise da ocorrência, diversidade e eficiência do controle de fungos em um ambiente hospitalar veterinário

João Paulo Araújo Ferreira

Defesa a ser apresentada ao Programa de Pós-graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos da Universidade Federal do Norte do Tocantins, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos

Orientadora: Dra. Bruna Alexandrino
Co-orientador: Taides Tavares dos Santos

Data de aprovação: 19 / 03/ 2024

Banca examinadora

Profa. Dra. Bruna Alexandrino - Orientadora (UFNT)

Profa. Dra. Katyane de Sousa Almeida - Membro Interno (UFNT)

Profa. Dra. Eveleise Samira Martins Canto – Membro Externo (UFOPA)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primordialmente, a Deus por me sustentar quando eu não mais tinha forças. Por me ajudar a vencer mais essa etapa em minha vida. Sem Ele, eu aqui não estaria.

A meus pais, João Ferreira Calixto e Ivanete dos Anjos Araújo Ferreira por sempre me incentivarem a estudar e fazer disso uma prioridade em minha vida. Vocês servem de inspiração para mim.

A minha orientadora, Bruna Alexandrino, por me enviar aquela carta de aceite dia 01 de fevereiro de 2022, aquele dia minha vida mudou completamente. Agradeço também por toda ajuda no trajeto, por me permitir hoje estar alcançando voos mais longos.

A meu coorientador Taídes Tavares e a meus docentes da pós-graduação, sem vocês para me orientarem e me mostrarem o caminho, esse trabalho não seria possível.

A todos que me apoiaram nessa grande jornada, que seguraram minha mão e me incentivaram a encarar essa missão, seja em Goiânia ou Araguaína, meu grande obrigado.

E por último, mas não menos importante, gostaria de agradecer a agência de Fomento PROCAD-Amazonia e ao suporte financeiro do Projeto Alvorecer – desenvolvido pela Universidade Federal do Norte do Tocantins -, ambos auxílios contribuíram para esse trabalho se tornar realidade. Sem vocês a ciência nesse país nada seria.

“Aprenda com o ontem. Viva o hoje. Tenha esperança para o amanhã.”

Albert Einstein

RESUMO - Em ambiente hospitalar é possível encontrar uma enorme variedade de microrganismos potencialmente patogênicos que podem causar diversas doenças aos pacientes. Práticas de higiene e condutas de limpeza de superfícies são primordiais para controlar a propagação de patógenos nesse ambiente. Estudos sobre fungos em ambientes hospitalares veterinários são escassos, e quase inexistentes, portanto, o objetivo da pesquisa foi avaliar a presença e a diversidade fúngica e avaliar a eficácia da desinfecção na sala de medicação pré-anestésica (MPA) e no centro cirúrgico (CC) de uma clínica veterinária universitária, localizado no norte do Tocantins. As amostras foram coletadas de objetos pertencentes a MPA e CC, por meio de swab, antes e logo após os procedimentos de limpeza do ambiente. No laboratório, as amostras foram cultivadas em dois meios de cultura: ágar sabouraud dextrose (SDA) e ágar batata dextrose (BDA), acrescidos de 5% de cloranfenicol para isolamento e purificação dos fungos. Em seguida, os microrganismos foram classificados quanto a morfologia macroscópica e agrupados em morfotipos, para realizar a elucidação taxonômica. Os resultados foram analisados pelo percentual, teste qui-quadrado e análise de diversidade através do índice de diversidade de Simpson (1-D), Shannon (H') e Margalef (DMg). No total, foram isoladas 168 Unidades Formadoras de Colônias (UFC) sendo 123 antes da limpeza e 45 após a limpeza; destas 168 UFCs, 53 foram isoladas no BDA e 115 no SDA, 124 oriundas da MPA e 44 do CC. Deste total, 106 UFC foram dermatófitos, representando 63% da amostragem total e 28 anemófilos (16,7%). O objeto que apresentou maior quantidade de isolados na MPA e no CC foi o armário onde foram isoladas 80 UFCs e 22 UFCs, respectivamente. Por outro lado, as amostras coletadas da almotolia e maçaneta da MPA e o foco cirúrgico do CC não apresentaram crescimento fúngico. A partir do teste de qui-quadrado observou-se que fungos anemófilos, como *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Fusarium* spp. apresentaram maior afinidade para crescimento em BDA ($p < 0,05$), já o *Trichophyton* spp. apresentou melhor crescimento em SDA ($p < 0,05$). A partir dos cálculos de diversidade alfa, a diversidade, a uniformidade e a riqueza de espécies fúngicas foi maior na MPA após a limpeza (1-D = 0,69; H' = 1,433; DMg = 1,406) e no CC antes da limpeza (1-D = 0,7892; H' = 1,76; DMg = 1,642). Os resultados devem ser acompanhados com preocupação, uma vez que na MPA após a limpeza aumentou-se a diversidade fúngica e não houve diferença estatística significativa antes e após a limpeza nos ambientes ($p > 0,05$), demonstrando assim que a limpeza não está sendo eficaz. Como esses espaços desempenham papel crítico na saúde dos animais, cabe à equipe de limpeza e aos gestores elaborar um plano de ação para inibir o crescimento de fungos, estabelecer padrões para a diluição de antissépticos, realizar controles de qualidade internos por meio de ensaios microbiológicos frequentes e conduzir capacitações periódicas.

Palavras chaves: Clínica veterinária Universitária. Desinfecção. Dermatofitoses. Fungos filamentosos. Hospital veterinário.

ABSTRACT - In a hospital environment, it is possible to find a huge variety of potentially pathogenic microorganisms that can cause various diseases in patients. Hygiene practices and surface cleaning practices are essential to control the spread of pathogens in this environment. To promote decontamination and disinfection of the environment, broad-spectrum chemicals must be used, which have little interference from organic matter, diluted correctly in accordance with the Standard Operating Procedures for Hygiene and Disinfection. Studies on fungi in veterinary hospital environments are scarce, and almost non-existent, therefore, the general objective of the research is to evaluate the presence and fungal diversity and to evaluate the effectiveness of disinfection in the pre-anesthetic medication room (MPA) and in the surgical center (SC) of a university veterinary clinic, located in the north of Tocantins. Samples were collected from objects belonging to MPA and CC, using swabs, before and immediately after the environmental cleaning procedures. In the laboratory, the samples were cultivated in two culture media: sabouraud dextrose agar (SDA) and potato dextrose agar (BDA), added with 5% chloramphenicol for isolation and purification of the fungi. Then, the microorganisms were classified according to their macroscopic morphology, being grouped into morphotypes and subjected to microculture for taxonomic elucidation. The results were analyzed by percentage, chi-square test and diversity analysis using the Simpson (1-D), Shannon (H') and Margalef (DMg) diversity index. In total, 168 Colony Forming Units (CFU) were isolated, 123 before cleaning and 45 after cleaning; 53 isolated in BDA and 115 in SDA, 124 from MPA and 44 from CC. Of this total, 106 CFU were dermatophytes, representing 63% of the total sample and 28 were anemophiles (16.7%). The collection site that presented the highest number of isolates in the MPA and CC was the cabinet where 80 UFCs and 22 UFCs were isolated, respectively. On the other hand, samples collected from the MPA pissette and handle and the CC surgical focus did not show fungal growth. From the chi-square test it was observed that anemophilic fungi, such as *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium* showed greater affinity for growth in PDA ($p < 0.05$), while Trichophyton showed better growth in SDA ($p < 0.05$). From the alpha diversity calculations, the diversity, uniformity and richness of fungal species was greater in the MPA after cleaning (1-D = 0.69; H' = 1.433; DMg = 1.406) and in the CC before cleaning (1-D = 0.7892; H' = 1.76; DMg = 1.642). The results should be monitored with concern, since in the MPA after cleaning, fungal diversity increased and there was no statistically significant difference before and after cleaning in the environments ($p > 0.05$), thus demonstrating that cleaning is not being effective. As these spaces play a critical role in the health of animals, it is up to the cleaning team and local managers to develop an action plan to inhibit the growth of fungi, establish standards for diluting antiseptics, and carry out internal quality controls through testing. frequent microbiological tests and conduct periodic training on the importance of effective surface cleaning.

Keywords: Dermatophytosis. Filamentous fungi. University veterinary clinic. Veterinary hospital

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2 – Isolamento fúngico em ambiente hospitalar veterinário e avaliação da desinfecção ambiental

Tabela 1. Gêneros de fungos isolados de objetos oriundos da sala de medicação pré-anestésica e centro cirúrgico de uma clínica veterinária universitária do norte do Tocantins, colocados por quantidade de Unidades formadoras de colônias de cada morfotipos identificado, antes e após a limpeza do ambiente.

Tabela 2 – Valores dos índices de diversidade relacionados a presença de fungos no ambiente hospitalar de uma clínica veterinária no município de Araguaína, Tocantins, no período de março e maio de 2022 no Centro Cirúrgico e Sala de medicação pré-anestésica.

Tabela 3 - Comparações do número de colônias entre os momentos antes e após o procedimento operacional padrão de limpeza e desinfecção de uma clínica veterinária universitária na cidade de Araguaína – Tocantins, no período de março e maio de 2022

Tabela 4 – Unidades formadoras de colônias de fungos filamentosos isolados de objetos da Sala de medicação pré-anestésica, coletadas antes e após o procedimento operacional padrão de limpeza e desinfecção de uma clínica veterinária na cidade de Araguaína – Tocantins, no período de março e maio de 2022.

Tabela 5 – Unidades formadoras de colônias de fungos filamentosos isolados de objetos do Centro Cirúrgico, coletados antes e após o procedimento operacional padrão de limpeza e desinfecção de uma clínica veterinária na cidade de Araguaína – Tocantins, no período de março e maio de 2022.

Capítulo 3 - Estudo comparativo de diferentes meios de cultura para isolamento de fungos de ambiente hospitalar

Tabela 1 - Comparação de dois meios de cultura utilizados para isolamento de fungos de objetos pertencentes a sala de medicação pré-anestésica e centro cirúrgico de uma clínica veterinária universitária, distribuídos por gênero e ambiente de origem.

Tabela 2 - Crescimento de fungos nos objetos amostrados na sala de medicação pré-anestésica de uma clínica veterinária universitária do norte do Tocantins em ágar sabouraud e batata, no ano de 2022.

Tabela 3 - Crescimento de fungos nos objetos amostrados no centro cirúrgico de uma clínica veterinária universitária do norte do Tocantins em ágar sabouraud e batata, no ano de 2022.

Tabela 4 – Análise estatística comparativa qualitativa do crescimento fúngico em ágar sabouraud e ágar batata dextrose, amostras coletadas em uma clínica veterinária no município de Araguaína, Tocantins.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - *Tree Map* do isolamento de UFCs em MPA e no CC de acordo com o meio de cultura utilizado.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1 – D – Índice de diversidade de Simpson

SBA – Batata-dextrose ágar

BHI – Caldo de infusão de cérebro e coração

CC – Centro Cirúrgico

DMg – Diversidade de Margalef

EPI – Equipamento de proteção individual

H' – Diversidade de Shannon

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

MPA – Sala de medicação pré-anestésica.

PVHIV – Pessoa vivendo com o vírus da imunodeficiência humana.

SDA – Sabourad-Dextrose ágar

UFC – Unidade Formadora de Colônia

UFNT – Universidade Federal do Norte do Tocantins

SUMÁRIO

1	CAPÍTULO I.....	5
1.1	Introdução.....	5
1.2	Objetivos.....	6
1.2.1	Objetivo geral	6
1.2.2	Objetivos específicos.....	6
1.3	Revisão de literatura	6
1.3.1	Aspectos gerais do reino Fungi	6
1.3.2	Taxonomia e morfologia dos fungos filamentosos	8
1.3.3	Meio de cultura e obtenção de colônias	9
1.3.4	Análise de culturas fúngicas filamentosas.....	10
1.3.5	Fungos anemófilos.....	12
1.3.6	Fungos potencialmente patogênicos.....	13
1.3.7	Principais gêneros fúngicos isolados em ambientes de saúde.....	15
1.3.8	Limpeza e desinfecção de superfícies	21
	REFERÊNCIAS	21
2	CAPÍTULO II – ARTIGO 1.....	31
	RESUMO	31
	ABSTRACT	31
	INTRODUÇÃO.....	32
	MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
	CONCLUSÃO.....	39
	REFERÊNCIAS	41
3	CAPÍTULO III – ARTIGO 2	44
	RESUMO	44
	ABSTRACT	44
	INTRODUÇÃO.....	45
	MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
	CONCLUSÃO.....	52
	REFERÊNCIAS	52
4	CAPÍTULO IV – CONSIDERAÇÕES FINAIS	55

1 CAPÍTULO I

1.1 Introdução

Em ambiente hospitalar as infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) são infecções advindas de microrganismos presentes nesse ambiente que podem desencadear a doença durante a estadia no hospital ou mesmo após a alta do paciente, e impactam na maior morbimortalidade de pacientes imunocomprometidos, pós-cirúrgicos, com quadros de extensa queimadura e àqueles submetidos a cuidados em unidades de terapia intensiva (Stull, Weese, 2015).

Os fungos são microrganismos ubíquos e podem permanecer viáveis por longos períodos no ambiente e em superfícies (Lima *et al.*, 2017), diante disto, a invasão e a proliferação de fungos a sistemas biológicos é um assunto relevante, pois essas infecções estão relacionadas a microrganismos cada vez mais resistentes (Garcia *et al.*, 2013) havendo a preocupação sobre os efeitos adversos à saúde provocada pelo contato ou exposição a micotoxinas e esporos produzidos por esses agentes contaminantes em ambientes fechados e em objetos dentro de hospitais (Calamares-Neto, Colombo, 2015).

Além da presença do microrganismo no ambiente, o estado de comprometimento do hospedeiro e a cadeia de transmissão no ambiente de saúde são fatores determinantes para a instalação e desenvolvimento dessas enfermidades (Panagopoulou *et al.*, 2002). As IRAS podem ser tanto de via endógena, quando o agente é da própria microbiota do indivíduo; ou via exógena, quando a transmissão ocorre pelo contato com as mãos, por transmissão cruzada, contato com secreções corpóreas, ar e materiais hospitalares contaminados (Mansoa *et al.*, 2011). Pensando na via exógena, têm-se a preocupação com o controle dessas infecções em âmbito hospitalar, visto que podem ser associadas com o ambiente de internação ou procedimentos hospitalares (Sherlock *et al.*, 2009; Owens, Stoessel, 2008).

Alguns gêneros filamentosos, presentes no meio ambiente são responsáveis por causarem micoses oportunistas, como por exemplo, *Aspergillus* spp. (Kosmidis, Denning, 2015; Tsantes *et al.*, 2022), *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp. (Conceição *et al.*, 2022), *Trichophyton* spp. (Tang *et al.*, 2022), *Microsporum* spp (Hoog *et al.*, 2017), *Epidermophyton* spp. (Baert *et al.*, 2020), *Fonsecaea* spp. (Moreno *et al.*, 2017) e *Fusarium* spp. (Geiser *et al.*, 2013).

Práticas de higiene e condutas de limpeza de superfícies são primordiais para controlar a propagação de patógenos em ambientes laboratoriais e hospitalares. As sujidades que predisõem o crescimento de microrganismos são removidas mecanicamente com a limpeza, cuja função também é eliminar a microbiota residente (Andersen *et al.*, 2009). A desinfecção do ambiente associado à limpeza prévia tem bastante relevância, pois pode reduzir em até 99% da carga microbiana (Rutala,

Werber, 2004), porém a escolha do produto químico é importante, devendo ser efetivo na descontaminação e desinfecção ambiental (Bambace *et al.*, 2003). A desinfecção ambiental deve ser realizada com produtos químicos de amplo espectro, e que tenha pouca interferência por matéria orgânica; outro aspecto é fazer rodízio periódico de agentes químicos que sejam capazes de eliminar ou inibir o crescimento microbiano (Xavier *et al.*, 2007).

Este estudo tem enfoque na quantificação, isolamento e identificação de agentes causadores de infecções fúngicas em unidade de saúde veterinária, assim como visa analisar diversidade fúngica nos ambientes e identificar os melhores meios de cultura para crescimento de diversas espécies, contribuindo com dados que possam auxiliar no isolamento, na profilaxia e prevenção de micoses que acometem animais e/ou humanos.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Verificar a presença de fungos com potencial patogênico em superfícies de objetos e ambientes de uma clínica veterinária universitária localizada no norte do Tocantins, antes e após os procedimentos de limpeza e desinfecção do local.

1.2.2 Objetivos específicos

- Avaliar os fungos filamentosos de objetos pertencentes a uma clínica veterinária universitária;
- Verificar o impacto da limpeza na desinfecção do ambiente;
- Identificar o gênero dos fungos presentes no ambiente;
- Verificar a diversidade fúngica encontrada no ambiente hospitalar veterinário.
- Comparar a eficiência *in vitro* dos meios de cultura utilizados em laboratório para isolamento fúngico de ambiente hospitalar

1.3 Revisão de literatura

1.3.1 Aspectos gerais do reino Fungi

Os fungos contemplam uma ampla variedade de organismos que se diferenciam tanto do domínio vegetal quanto animal. Esses são organismos eucariontes, comensais ou parasitas, ubíquos e heterotróficos, ou seja, não conseguem sintetizar seu próprio alimento por meio da fotossíntese, ao contrário das plantas (Lima, Lima, Silva, 2019). Ao invés disso, obtêm nutrientes através da absorção

de compostos orgânicos presentes no entorno, desempenhando assim um importante papel como decompositores, por meio da nutrição saprofítica. Notáveis exemplos desses organismos incluem cogumelos e leveduras, desempenhando papéis cruciais como agentes fermentadores na produção de alimentos como pão, cerveja e vinho (Alvarenga, 2021).

De acordo com Azevedo e Barata (2018) a estrutura celular dos fungos abarca um núcleo bem definido e compartimentalizado, organelas membranosas, como mitocôndrias e complexo de Golgi, além das paredes celulares compostas por quitina, um polissacarídeo que atribui rigidez e resistência. Ademais, as hifas, que exibem uma morfologia filamentar, constituem a maior parte da estrutura fúngica, e o termo “micélio” é empregado para descrever o conjunto formado por essas hifas.

Os fungos dividem-se em duas categorias principais: leveduras e fungos filamentosos. As leveduras são unicelulares e frequentemente têm morfologia arredondada ou ova e se reproduzem por brotamento, onde uma célula-mãe emite pequenas células filhas que se destacam e amadurecem em células independentes (Chow *et al.*, 2019). Em contraste, os fungos filamentosos, também conhecidos como fungos hifomicetos ou filamentosos, caracterizam-se por apresentar um corpo multicelular constituído por hifas. As hifas são filamentos longos e finos que podem bifurcar-se, formando um emaranhado denominado micélio. O micélio constitui a principal estrutura vegetativa dos fungos filamentosos, desempenhando papel crucial na absorção de nutrientes e na propagação (Alvarenga, 2021).

As leveduras são frequentemente encontradas em ambientes líquidos ou úmidos, enquanto os fungos filamentosos geralmente se desenvolvem em superfícies sólidas e substratos. Esses podem gerar estruturas reprodutivas especializadas, tais como esporos e conídios, que são responsáveis pela propagação e reprodução. Essas estruturas reprodutivas são vitais para a sobrevivência e disseminação dos fungos (Ferriol Molina, 2023).

Alvarenga (2021) afirma que os fungos têm a capacidade de realizar tanto reprodução sexuada quanto assexuada. O termo “Anamorfo” é utilizado para descrever o processo de reprodução assexuada, enquanto “Teleomorfo” refere-se à reprodução sexual. Na reprodução assexuada, a produção de esporos é comum, sendo conídios, zoósporos e esporangiósporos exemplos dessas estruturas. A reprodução vegetativa ocorre por meio de três processos principais: brotamento, fissão e fragmentação.

Adicionalmente, de acordo com Ferriol Molina (2023), a reprodução sexuada envolve a formação e disseminação de esporos específicos, como ascósporos, basidiósporos e oósporos. É importante salientar que, no reino dos fungos, o método convencional de reprodução sexuada nem sempre está presente. Em alguns fungos, a fusão de duas hifas haploides não resulta imediatamente em uma célula diplóide, nesses casos, há um estágio intermediário denominado dicariofase em que a formação das células diplóides acontece subsequentemente, após a conclusão dessa fase de transição.

1.3.2. Taxonomia e morfologia dos fungos filamentosos

Os fungos filamentosos constituem um grupo diversificado de organismos caracterizados por suas estruturas filamentosas chamadas hifas. Esses fungos são classificados em diferentes classes com base em suas características morfológicas, reprodutivas e genéticas, proporcionando um entendimento mais aprofundado de sua diversidade e relações evolutivas (Naranjo, Gabaldón, 2019). Uma das classes principais é a dos *Zygomycetes*, que abrange fungos como *Rhizopus* e *Mucor* caracterizados pela formação de esporângios e zigósporos durante seu ciclo de vida, esses fungos desempenham papéis importantes na decomposição de matéria orgânica e podem formar associações simbióticas com plantas, como as micorrizas (Pitt; Hocking, 2022). *Mucor* apesar de ser importante fungo ambiente, também pode causar as mucormicoses, que são micoses com potencial invasivo (Yasmeen *et al.*, 2017). A taxa de mortalidade varia entre 17% a 66% dependendo dos fatores de risco (Gina *et al.*, 2021). Os fatores de risco são semelhantes em animais e humanos, ou seja, são observadas infecções em hospedeiros imunocomprometidos ou debilitados devido a distúrbios metabólicos. No entanto, uma exposição exacerbada a fungos *Mucorales* spp. ou uma previa perturbação da microbiota estomacal pode resultar em infecção até mesmo em animais aparentemente saudáveis (Seyedmousavi *et al.*, 2018)

Os fungos do filo *Ascomycota*, denominados também de “fungos saculares”, constituem uma classe de grande importância, nesse grupo estão inclusos organismos como *Penicillium*, *Aspergillus*, *Saccharomyces* (leveduras) e diversos fungos fitopatogênicos. Os *Ascomycota* se destacam pela formação de estruturas reprodutivas chamadas ascos, que abrigam os ascósporos. Apresentam uma ampla gama de funções ecológicas, desde a decomposição até relações simbióticas (Thines *et al.*, 2020; Wilson *et al.*, 2019).

O filo dos *Basidiomycota* é conhecido por abrigar fungos que produzem basídios, estruturas portadoras dos basidiósporos. Exemplos incluem os cogumelos, cogumelos lamelares e crustáceos. Esses desempenham um papel fundamental na reciclagem de matéria orgânica em ecossistemas e podem ser microrganismos decompositores de importância (Ludley, 2008)

Por fim, o filo dos *deuteromicetos*, englobam fungos cujo estágio sexual é desconhecido ou não foi identificado. Historicamente, esses fungos foram temporariamente agrupados, mas avanços na pesquisa genética permitiram muitos deles serem associados a outras classes por meio de análises moleculares (Sivanandhan, 2017).

Cortez, Castro e Andrade (2017) afirmam que é relevante destacar que a taxonomia dos fungos filamentosos é sujeita a revisões contínuas à medida que novos dados genéticos e moleculares são obtidos. Essa abordagem multidisciplinar, que combina informações morfológicas, genéticas e

evolutivas, proporciona uma compreensão mais abrangente da diversidade e das relações evolutivas dentro deste grupo diversificado de organismos

1.3.3. Meio de cultura e obtenção de colônias

Pelo fato de os fungos serem heterotróficos, se alimentam das mais variadas fontes de nutrientes, portanto, diversos meios de cultura podem ser utilizados, sendo os mais comuns o Batata-Dextrose-Ágar (BDA), o ágar sabouraud dextrose (SDA) e o meio específico para dermatófitos, ágar Mycosel (Ascari *et al.*, 2022)

As transferências sequenciais nesses meios de cultura, conhecidas como repicagens, são procedimentos rotineiros amplamente empregados para manter a viabilidade dos microrganismos. Essas transferências periódicas são realizadas para novos tubos de ensaio contendo novos meios de cultura. Esses tubos são mantidos em temperaturas adequadas ao desenvolvimento do agente patogênico até que o meio de cultura seja colonizado, e é comum utilizar tampões de algodão hidrofóbico para prevenir a contaminação. No entanto, as repicagens podem induzir o patógeno a adotar o hábito saprofítico, resultando em alterações morfológicas, redução ou perda da capacidade de esporulação e diminuição da agressividade. Nas repicagens, somente partes jovens e produtoras de esporos da colônia devem ser transferidas (Sophia *et al.*, 2021).

O meio SDA é amplamente empregado para o cultivo de fungos, incluindo aqueles associados a doenças dermatológicas. Além disso, é utilizado na análise de microrganismos presentes em cosméticos e produtos alimentícios. Esse meio proporciona o crescimento de diversos fungos, incluindo os filamentosos, as leveduras, as espécies de *Candida* e os fungos relacionados a infecções. Além disso, possui notável seletividade devido ao seu pH ligeiramente ácido, que favorece o desenvolvimento de dermatófitos. Para inibir crescimento bacteriano pode-se adicionar antibiótico ao meio (Widyana; Tarsikah; Naimah, 2019).

O SDA se diferencia pelo alto teor de dextrose, favorecendo o crescimento de fungos osmófilos, ao contrário de muitas bactérias que não toleram esse alto índice de açúcar. O período mínimo de incubação é de 3 dias a uma temperatura de 25°C. (Widyana; Tarsikah; Naimah, 2019). Já o meio BDA é empregado no cultivo e na quantificação de leveduras e bolores. Ele é respaldado por associações de saúde pública para avaliar microrganismos em comestíveis e derivados lácteos, sendo recomendado por farmacopeias para ensaios de limiar microbiano. Ele também pode ser modificado pela acidificação ou adição de antibióticos para maior seletividade, conforme métodos de referência e é empregado para induzir esporulação, manter culturas estoque e distinguir cepas não típicas de fungos dermatófitos (Ascari *et al.*, 2022).

Há também meios seletivos para o crescimento de fungos dermatófitos, como o ágar Mycosel. Esse ágar um meio amplamente usado na micologia, com cloranfenicol e cicloheximida (Joseph *et al.*, 2015). Em sua composição além do cloranfenicol que ajuda suprimir o crescimento de bactérias contaminantes também é possível encontrar um pH neutro a levemente alcalino, o que favorece o crescimento de fungos e dificulta o crescimento de bactérias. Já a cicloheximida é um antimicrobiano que inibe fungos saprófitas, permitindo dessa forma o isolamento de fungos patogênicos. Além disso o meio também possui peptona de soja e glicose como fonte de nutrientes (Chadeganipour, Mohammadi, Shadzi, 2016).

1.3.4. Análise de culturas fúngicas filamentosas

Os fungos filamentosos formam colônias com características diversas, apresentando aparência seca, aveludada, felpuda ou purulenta. Essas colônias podem ser baixas ou aéreas, apresentando sulcos, reentrâncias e saliências. As bordas podem ser arredondadas, irregulares ou franjadas e apresentam cores variadas tanto na superfície frontal quanto no anverso. Em relação à textura, as colônias exibem uma gama de padrões superficiais que abarcam desde a lisura homogênea até a granulidade (Anupma, Tamang, 2020; Gafforov *et al.* 2023). A textura lisa, por exemplo, frequentemente testemunhada em espécies filamentosas, sugere um desenvolvimento micelial uniforme, destituído de proliferação proeminente. Por contraste, a rugosidade textural denota um crescimento micelial mais denso, potencialmente delineando vigorosa expansão e eventual ramificação (Jesus, Souza, 2020).

A granulidade, caracterizada por minúsculos agregados superficiais, pode indicar produção esporal ou formação de estruturas reprodutivas (Péricas *et al.*, 2021). A textura aveludada, remanescente ao toque do veludo, tipicamente se origina de um crescimento micelial difuso e homogêneo, uma característica associada a diversas espécies de mofo branco. A presença de uma textura lanosa ou pilosa, imitando finos apêndices piliformes, é frequentemente manifestação de estruturas fúngicas eretas, como conidióforos e conídios (Spricigo *et al.*, 2022).

No domínio morfológico, a conformação geral das colônias e suas estruturas adjacentes, como hifas, conídios e esporos, desempenham um papel preponderante. O padrão de crescimento radial, onde a expansão tem início a partir de um ponto central, frequentemente culminando em padrões concêntricos, é notável em fungos prolificamente esporulados como diversas espécies de *Penicillium* (Costa *et al.*, 2015). Em contraparte, o crescimento filamentoso delineia uma rede intrincada de hifas, irradiando em várias direções e conseqüentemente gerando um arranjo morfológico complexo. O crescimento em massa, caracterizado por um aglomerado denso e compacto de micélio, é

característico de muitos fungos patogênicos com afinidade por organismos vegetais ou animais (Moreira *et al.*, 2022).

Sendo assim, o crescimento filamentososo é uma característica marcante de muitos fungos, resultando na formação de uma intrincada rede de hifas entrelaçadas que permeiam o meio de cultura. A morfologia também está intrinsecamente ligada à formação de estruturas de dispersão (Sobral, 2023). A produção de conídios, por exemplo, desencadeia a geração de estruturas especializadas, como conidióforos, que são morfologicamente distintos e têm papéis essenciais na disseminação de esporos. A morfologia das culturas fúngicas serve como testemunho da estratégia adaptativa da espécie para otimizar a dispersão eficaz, garantindo a sobrevivência e a colonização de novos ambientes (Moreira *et al.*, 2022).

No nível microscópico, as hifas constituem a espinha dorsal da morfologia fúngica. A complexidade e padrão de ramificação das hifas contribuem para a diversidade de formas que os fungos podem assumir. Os micélios septados, compostos por compartimentos separados por septos, são comuns em muitas espécies filamentosas. Já os micélios cenocíticos, sem septos, são predominantes em fungos como os pertencentes a Ordem Mucorales (Benny *et al.*, 2016). Essa variação estrutural impacta a eficiência de transporte de nutrientes e a disseminação de substâncias bioquímicas ao longo das hifas. Já a topologia intrínseca das colônias confere uma dimensão tridimensional às estruturas fúngicas. A elevação das estruturas, que se projeta acima da superfície do meio de cultura, assume papel relevante na topologia, sendo frequentemente associada à projeção de esporos e outras estruturas reprodutivas (Spricigo *et al.*, 2022).

A partir da técnica de microcultivo de Riddell (1950) é possível analisar as características microscópicas dos fungos confrontando-a com a literatura disponível e associando as características macroscópica, para identificar vários gêneros fúngicos. Na microscopia são avaliadas as características das hifas (septada ou cenocítica, hialina ou demáceas) e as características do corpo de frutificação e dos esporos (Brasil, 2013)

No nível microscópico os fungos hialinos, possuem hifas transparentes e septadas, sendo assim denominados como “hialinos” devido à ausência de pigmentação significativa em suas células. Estão inclusos nesse grupo, microrganismos como *Aspergillus* e *Penicillium* (Chen *et al.*, 2015). Por outro lado, os fungos demáceos, também são conhecidos como pigmentados, apresentam essa pigmentação em suas hifas devido à presença de melanina, conferindo-lhes assim uma coloração escura. Exemplos de fungos demáceos incluem *Microsporum* e *Trichophyton* (Youngchim *et al.*, 2011).

1.3.5. Fungos anemófilos

Os fungos anemófilos, no âmbito micológico, são microrganismos que adotam uma estratégia de dispersão predominantemente aerotransportada, aproveitando as correntes de ar como veículo de disseminação de seus propágulos reprodutivos, tais como esporos e conídios fazendo com que tenha um alcance geográfico extenso e ampla distribuição nos ecossistemas (Pires *et al.*, 2021). Esta adaptação evolutiva está em consonância com a busca por habitats ecológicos que ofereçam apropriadas condições para sua propagação e colonização.

A habilidade dos fungos anemófilos em produzir uma grande quantidade de esporos leves e aerodinâmicos é um traço distintivo desta estratégia de dispersão. A geometria e ornamentações superficiais desses esporos frequentemente são adaptadas para facilitar sua suspensão no ar e otimizar a eficiência de transporte por correntes atmosféricas. As estruturas reprodutivas que favorecem a liberação e propagação anemófila, tais como conidióforos e estruturas de frutificação elevadas, caracterizam a adaptação desses fungos para explorar essa via de disseminação (Sobral, 2023).

Esses fungos anemófilos estão em constante interação com o ambiente físico e atmosférico, que influencia a dinâmica de dispersão, deposição e sobrevivência dos propágulos. A variabilidade sazonal, fatores meteorológicos e topográficos, bem como mudanças climáticas, podem influenciar a eficácia da dispersão anemófila e, conseqüentemente, moldar a distribuição e diversidade desses fungos. Portanto, a estratégia anemófila de dispersão é uma característica notável e adaptativa dos fungos, proporcionando uma visão fascinante sobre a interação entre a biologia fúngica, os padrões de dispersão atmosférica e a ecologia dos ecossistemas em que esses microrganismos se inserem (Pires *et al.*, 2021).

É imperativo ressaltar que o sucesso dos fungos anemófilos como agentes de dispersão aérea é profundamente influenciado por fatores abióticos. As condições climáticas, tais como velocidade do vento, umidade atmosférica e temperatura, exercem influência direta sobre a eficácia da dispersão anemófila. Além disso, fatores geográficos e topográficos também modulam o transporte e a deposição dos propágulos, impactando a distribuição desses fungos em diferentes ecossistemas (Sobral, 2023).

A dispersão anemófila não apenas influencia a distribuição geográfica e a colonização de habitats, mas também desempenha um papel importante na dinâmica de comunidades microbianas. Os fungos anemófilos podem servir como indicadores ecológicos sensíveis a mudanças ambientais, incluindo poluição atmosférica e mudanças climáticas (Sobral *et al.* 2023). A sua presença em ambientes internos, como edifícios, pode ter implicações para a qualidade do ar interno e a saúde humana. Portanto, os fungos anemófilos, através de sua notável adaptação à dispersão aérea, destacam-se como protagonistas na ecologia microbiana e na relação entre os microrganismos e o

ambiente atmosférico (Calumby *et al.*, 2019). Cordeiro *et al.* (2021) afirmam que o estudo desses fungos oferece uma janela para a compreensão das complexas interações entre a biologia fúngica, os padrões de dispersão ecológica e os fatores abióticos que moldam a biodiversidade e a ecologia dos ecossistemas.

Dentre os principais representantes dos fungos anemófilos, destacam-se gêneros *Cladosporium*, *Penicillium* e *Aspergillus*. Os seus conídios, frequentemente multicelulares e com estruturas apicais especializadas, apresentam características que aumentam a estabilidade aérea, favorecendo sua suspensão no ar (Reis-Menezes, 2011). *Cladosporium* spp., por sua vez, é reconhecido por sua ubiquidade e presença em diversos ambientes. Suas cadeias conidiogênicas, associadas à produção massiva de conídios uniloculares, exemplificam uma estratégia adaptativa bem-sucedida para a dispersão anemófila. O gênero *Aspergillus*, um dos mais estudados, exibe uma arquitetura morfológica peculiar, com conidióforos ramificados que culminam em estruturas de ramificação, conhecidas como metúlas. Essas metúlas suportam conídios na extremidade, permitindo sua liberação e propagação por correntes de ar (Borba *et al.*, 2021). Já *Penicillium* spp., possui como característica principal seus conídios de 2 a 6 µm em cadeia que podem ser observados na microscopia, a liberação desses conídios no ambiente permite a dispersão eficiente do fungo, facilitando a colonização de substratos diversos, incluindo alimentos, solo e materiais orgânicos (Almaguer *et al.*, 2021)

1.3.6. Fungos potencialmente patogênicos

Alguns gêneros e espécies de fungos emergem como agentes causadores de doenças significativas, sendo objeto de investigação e interesse clínico. O gênero *Candida* assume um papel proeminente, com várias espécies capazes de causar infecções, desde candidíase superficial até formas disseminadas em pacientes imunocomprometidos. *Candida albicans*, notório por sua habilidade de colonizar diversas superfícies mucosas, manifesta-se como um importante patógeno oportunista. A evolução de resistência a antifúngicos tem desafiado a abordagem terapêutica dessas infecções (Macedo *et al.*, 2023). Além disso, o Mucorales, um grupo de fungos filamentosos, têm surgido como patógenos emergentes em indivíduos imunocomprometidos. As espécies como *Rhizopus* spp. e *Mucor* spp. estão associadas a mucormicose, uma infecção grave que pode levar a complicações fatais. Esses fungos exibem rápida invasão tecidual e alta resistência aos tratamentos antifúngicos convencionais (Nicolás *et al.*, 2020).

Ademais, *Cryptococcus neoformans*, um fungo encapsulado, merece destaque devido à sua capacidade de causar meningoencefalite em indivíduos imunocomprometidos. A infecção é particularmente preocupante em pacientes com vírus da imunodeficiência adquirida. A variação

genética e a presença de múltiplos sorotipos têm implicações na epidemiologia e na virulência (Rathore, 2020). Além disso, a criptococose, frequentemente envolvendo o sistema nervoso central, desencadeia sintomas como cefaleia, febre, rigidez de nuca, confusão e alterações neurológicas. A disseminação hematogênica pode levar a manifestações cutâneas, osteoarticulares e viscerais. A presença de lesões cutâneas, particularmente em indivíduos imunocomprometidos, pode ser indicativa de envolvimento sistêmico (Garcia-Rubio *et al.*, 2020).

De acordo com Ladeia *et al.*, (2019) as doenças fúngicas causadas por fungos potencialmente patogênicos, quando ocorrem em indivíduos com HIV ou imunocomprometidos, desencadeiam uma série de impactos clínicos e epidemiológicos complexos. A interação entre a supressão do sistema imunológico e a virulência fúngica pode resultar em manifestações clínicas graves e desafios diagnósticos, exigindo uma abordagem cuidadosa e multidisciplinar para o manejo clínico adequado. É importante observar essa situação, pois diversos colaboradores que laboram nas clínicas veterinárias podem ser pessoas que vivem com HIV (PVHIV) ou usam medicamentos imunossupressores.

Em animais é possível observar grande quantidade de fungos filamentosos que podem levar à alergia, entre os mais frequentes, há *Alternaria* spp. e *Aspergillus* spp. No entanto, *Malassezia* spp, um gênero que pertence ao grupo de leveduras possui notável responsabilidade em condições dermatológicas inflamatórias, principalmente em pacientes alérgicos, nas quais a barreira cutânea é frequentemente prejudicada (Martins, 2022) Uma classe fúngica que também merece atenção na infecção em animais, são os dermatófitos, grupo composto pelos gêneros *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*.

A susceptibilidade à dermatofitose depende da idade, do sexo e da espécie dos animais. Além disso, o sistema imunológico do hospedeiro e os fatores de virulência do agente são elementos importantes que influenciam na progressão da doença. Os dermatófitos possuem fatores de virulência, como glicopeptídeos e queratinases, a partir dos quais o sistema imunológico do hospedeiro inicia a resposta imune. No entanto, durante a infecção por dermatófitos, a liberação do hormônio do estresse pode ter efeitos adversos na resposta imune do hospedeiro (Paryuni *et al.*, 2020). Fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Trichophyton* e *Microsporum* merecem uma atenção especial por serem fungos filamentosos encontrados no ambiente e amplamente envolvidos em quadros clínicos complexos, dessa forma, serão abordados separadamente no próximo tópico.

1.3.7. Principais gêneros fúngicos isolados em ambientes de saúde

1.3.7.1. *Aspergillus* spp.

Aspergillus spp. pertencentes à classe Eurotiomycetes e à família Aspergillaceae, constituem um gênero proeminente de fungos filamentosos que desempenham papéis ecológicos diversificados, porém também são notáveis patógenos oportunistas de animais e seres humanos. A ampla distribuição geográfica e a presença em uma variedade de substratos ambientais demonstram a adaptação versátil desses fungos a diferentes habitats. Caracterizados por sua morfologia filamentosa, os membros do gênero *Aspergillus* exibem hifas septadas e conidióforos ramificados, que sustentam a produção de conídios assexuados. A diversidade morfológica dos conídios, que inclui características como cor, tamanho e ornamentações superficiais, confere uma dimensão taxonômica ecológica e médica (Baltussen *et al.*, 2020).

Aspergillus fumigatus, em particular, emerge como uma espécie proeminente e clinicamente relevante, envolvida em várias formas de aspergilose (Tsantes *et al.*, 2022). A aspergilose pulmonar invasiva, frequentemente afeta indivíduos imunocomprometidos e é caracterizada por sintomas respiratórios graves, como tosse, dispneia e hemoptise (Kosmidis, Denning, 2015). Além disso, o *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger* também são destacados devido à sua relevância na produção de toxinas e micotoxinas em alimentos e rações, tendo implicações em saúde humana e segurança alimentar (Alves *et al.*, 2014)

A produção de metabólitos secundários bioativos, incluindo aflatoxinas e ocratoxinas, confere a esses fungos um papel notável na microbiota do solo e em interações com outros microrganismos. Além disso, *Aspergillus* spp. desempenham um papel vital na decomposição da matéria orgânica, contribuindo para a reciclagem de nutrientes em ecossistemas (Baltussen *et al.*, 2020). Entretanto, a relevância médica do gênero *Aspergillus* não pode ser subestimada, aspergilose invasiva, aspergilose broncopulmonar alérgica e aspergiloma são apenas algumas das manifestações clínicas desencadeadas pela interação entre esses fungos e o hospedeiro (Mesquita-Rocha, 2019). A resistência crescente a antifúngicos, juntamente com a variedade de espécies de *Aspergillus* e suas diferenças na virulência e sensibilidade a drogas, desafia a abordagem terapêutica e diagnóstica dessas infecções (Tsantes *et al.*, 2022).

Em suma, *Aspergillus* spp. representam uma peça intrigante do quebra-cabeça da biodiversidade fúngica, desempenhando papéis essenciais na ecologia do solo, na segurança alimentar e, simultaneamente, constituindo um desafio médico com implicações significativas para a saúde humana. O contínuo avanço nas áreas da taxonomia, genômica, epidemiologia e terapia é fundamental para elucidar as complexas interações entre esses fungos e seu ambiente, bem como para

aprimorar as abordagens de prevenção e controle das doenças aspergilóticas em contextos clínicos e ambientais.

1.3.7.2. *Penicillium* spp.

Penicillium spp. inseridos na classe Eurotiomycetes e família Trichocomaceae, constituem um grupo proeminente de fungos filamentosos amplamente distribuídos em diversos ambientes, com notável relevância tanto em termos ecológicos quanto médicos. A diversidade morfológica, a produção metabólica de compostos bioativos e sua presença em substratos variados refletem a adaptação versátil desses microrganismos (Otero *et al.*, 2020).

A morfologia filamentosa dos membros do gênero *Penicillium* é caracterizada por hifas septadas e conidióforos especializados, denominados metúlas, que sustentam a produção de conídios uniloculares em cadeias (Hassan *et al.*, 2019). A contribuição de *Penicillium* spp. na decomposição de matéria orgânica é de significativa importância ecológica, pois fungos desempenham um papel crucial na reciclagem de nutrientes em ecossistemas terrestres e aquáticos, auxiliando na degradação de compostos orgânicos complexos (Yuvarani *et al.*, 2021).

Além disso, *Penicillium* spp. podem ser isolados de habitats extremos, como solos contaminados com metais pesados, demonstrando sua adaptação a condições desafiadoras. No entanto, a notoriedade desse gênero também se estende ao contexto médico e industrial. A produção de metabólitos secundários bioativos, incluindo antibióticos, toxinas e enzimas, tem aplicações significativas (Ul Hassan *et al.*, 2019). A penicilina, o primeiro antibiótico descoberto, é um exemplo icônico de contribuição de *Penicillium* spp. para a medicina. A produção industrial de enzimas, como amilases e celulases, destaca a relevância biotecnológica desses microrganismos (Otero *et al.*, 2020).

Apesar das contribuições positivas, *Penicillium* spp. podem representar um risco à saúde humana e animal, pois algumas espécies podem produzir micotoxinas em alimentos e rações, o que pode comprometer a segurança alimentar e causar danos à saúde (Conceição *et al.*, 2022). Além disso, a exposição a *Penicillium* spp. pode desencadear alergias respiratórias em indivíduos suscetíveis (Oliveira, Borges-Paluch, 2015).

1.3.7.3. *Cladosporium* spp.

Cladosporium spp., pertencem à classe Dothideomycetes e família Cladosporiaceae, representam um grupo diversificado de fungos filamentosos que desempenham papéis ecológicos cruciais, além de apresentarem relevância médica e biotecnológica. A notável ubiquidade e a

capacidade de adaptação a uma variedade de habitats refletem a versatilidade desses microrganismos em diferentes contextos. A morfologia de *Cladosporium* spp. é caracterizada por hifas septadas e conidióforos ramificados, os quais sustentam a produção de conídios unicelulares em cadeias. A forma dos conídios, assim como sua ornamentação superficial, desempenha um papel taxonômico e funcional, influenciando a dispersão e o sucesso ecológico desses fungos (Oghaz *et al.*, 2023).

A ecologia de *Cladosporium* spp. abrange uma variedade de habitats, incluindo solos, plantas, ambientes aquáticos e aerossóis atmosféricos. Esses fungos são notáveis decompositores de matéria orgânica, contribuindo para a ciclagem de nutrientes em ecossistemas terrestres e aquáticos. Além disso, *Cladosporium* spp. podem formar associações simbióticas com plantas, como endófitos ou patógenos, afetando a saúde e a produtividade das culturas (Wang; Wang; Li, 2020).

A relevância médica de *Cladosporium* está relacionada principalmente a sua capacidade de desencadear alergias em seres humanos e animais (Mercier *et al.*, 2013). A exposição a conídios de *Cladosporium* spp., presentes em grande quantidade no ar, pode causar rinite alérgica, asma e outras manifestações alérgicas respiratórias em indivíduos sensíveis. A diversidade de espécies de *Cladosporium* spp. contribui para a complexidade dessas reações alérgicas. Além disso, os *Cladosporium* têm sido investigados por seu potencial biotecnológico. Algumas espécies produzem enzimas de interesse industrial, como lipases e proteases, que podem ser exploradas em processos biotecnológicos. Além disso, a sua capacidade de degradar compostos orgânicos complexos, como poluentes ambientais, ressalta seu potencial em biorremediação (Oghaz *et al.*, 2023).

A identificação precisa das espécies é fundamental para compreender sua diversidade, ecologia e interações em diferentes habitats (Oghaz *et al.*, 2023). *Cladosporium* spp. representa uma parte da biodiversidade fúngica, com sua morfologia distinta e adaptação versátil a diferentes ambientes. A compreensão abrangente desses microrganismos abarca desde a ecologia dos ecossistemas até as implicações para a saúde humana e as aplicações biotecnológicas. O estudo contínuo em taxonomia, genômica e ecologia é fundamental para desvendar o papel multifacetado de *Cladosporium* spp. na natureza e na interação com os seres humanos, animais e o ambiente (Denis *et al.*, 2016).

1.3.7.4. *Curvularia* spp.

Os fungos do gênero *Curvularia*, pertencentes à classe Dothideomycetes e família Pleosporaceae, compreendem um grupo diverso de fungos filamentosos que desempenham papéis ecológicos diversos, mas também podem ser de importância clínica e agrícola. A sua capacidade de adaptação a diferentes ambientes, juntamente com sua morfologia característica e potencial metabólico, destaca sua relevância em várias esferas (Mehta; Meena; Nagda, 2022).

A morfologia da *Curvularia* spp. é caracterizada por hifas septadas e conidióforos que produzem conídios multicelulares em forma de fuso (Cupul *et al.*, 2022). A variação na morfologia dos conídios, incluindo tamanho e ornamentações, confere uma dimensão taxonômica e funcional a esses fungos, influenciando sua dispersão e sucesso ecológico (Dhar *et al.*, 2024). Além disso, *Curvularia* têm uma distribuição ampla em diferentes ambientes, incluindo solos, plantas, matéria orgânica em decomposição e ambientes aquáticos. A sua contribuição para a decomposição da matéria orgânica e a ciclagem de nutrientes é notável, contribuindo para a reciclagem de compostos complexos e a sustentabilidade dos ecossistemas (Yuvarani *et al.*, 2021).

Ademais, algumas espécies de *Curvularia* spp. são conhecidas por serem patógenos de plantas devido a diversidade de hospedeiros e a capacidade de infecção de diferentes partes das plantas. Eles podem causar doenças em uma variedade de culturas agrícolas, resultando em danos econômicos significativos (Lal *et al.*, 2013). Em termos médicos, *Curvularia* spp. podem desempenhar um papel na etiologia de micoses superficiais e sistêmicas, particularmente em indivíduos imunocomprometidos. Algumas espécies de *Curvularia* foram associadas a infecções oculares e infecções do sistema nervoso central. A capacidade de *Curvularia* spp. de causar infecções em humanos e animais – como ceratomicoses – destacam a importância de sua investigação clínica e diagnóstico preciso (Ben-Shlomo *et al.*, 2010; Yuvarani *et al.*, 2021).

De acordo com Mehta, Meena e Nagda (2022), a filogenia molecular e a genômica comparativa têm contribuído para a compreensão das relações evolutivas e das diferenças funcionais entre as espécies de *Curvularia* spp.. A sua adaptabilidade a diferentes ambientes e interações com plantas, bem como seu potencial como agentes patogênicos humanos, destacam sua importância em ecologia, saúde e agronomia. Todavia, os impactos desses fungos na saúde animal ainda apresentam poucos estudos disponíveis na literatura.

1.3.7.5. *Fusarium* spp.

Fusarium spp., pertencentes à classe Sordariomycetes e família Nectriaceae, constituem um grupo diversificado de fungos filamentosos com ampla distribuição ecológica e significância tanto em termos patogênicos quanto em suas implicações industriais. A sua morfologia distinta, diversidade de espécies e capacidade metabólica conferem a esses microrganismos uma notável complexidade biológica (Zhang, Jeyakumar, 2018) A morfologia de *Fusarium* spp. é caracterizada por hifas septadas e conidióforos que produzem macroconídios e microconídios em abundância. A presença de conídios com formatos variados, ornamentações superficiais e dimensões distintas contribui para a taxonomia ecológica e funcional do gênero (Rosa *et al.*, 2021).

A ecologia de *Fusarium* spp. abrange uma variedade de habitats, incluindo solos, plantas, substratos vegetais em decomposição e alimentos. Esses fungos desempenham um papel relevante na degradação da matéria orgânica, contribuindo para a ciclagem de nutrientes em ecossistemas terrestres e aquáticos. Além disso, algumas espécies de *Fusarium* podem formar relações simbióticas com plantas, influenciando seu crescimento e nutrição (Karlsson, Persson, Friberg, 2021).

Conforme Summerell (2019), *Fusarium* spp. também têm implicações na agricultura, sendo agentes causais de doenças em plantas cultivadas. As doenças de plantas, como a murcha vascular, podem levar a perdas significativas na produção agrícola, afetando a segurança alimentar e a economia global. Além disso, alguns membros de *Fusarium* spp. têm relevância médica, uma vez que podem causar infecções em seres humanos e animais. A variedade de manifestações clínicas, incluindo micoses superficiais e sistêmicas, destaca a importância de um diagnóstico preciso e tratamento adequado dessas infecções fúngicas.

A capacidade metabólica de *Fusarium* spp. é destacada por sua produção de metabólitos secundários, como micotoxinas, que têm implicações tanto na segurança alimentar quanto na biotecnologia. Algumas espécies são conhecidas por produzirem micotoxinas em culturas agrícolas, representando um risco à saúde humana e animal quando presentes em alimentos contaminados (Ji *et al.*, 2019). De acordo com Karlsson, Persson e Friberg, (2021), a taxonomia tem sido aprimorada com avanços em técnicas moleculares e genômicas. Esses estudos são importantes uma vez que o *Fusarium* abrange uma gama diversificada de fungos com papéis ecológicos, agrícolas e médicos de destaque. A sua morfologia característica, distribuição e diversidade metabólica reflete sua adaptação versátil a diferentes ambientes e interações.

1.3.7.6. *Trichophyton* spp.

Os fungos do gênero *Trichophyton* spp. são pertencentes à classe Eurotiomycetes e à família Arthrodermataceae, também são conhecidos por serem dermatófitos, uma classe fúngica que se adaptaram para colonizar tecidos queratinizados, como as camadas externas da pele, unhas e cabelos (Schmidt, 2017). *Trichophyton* é um gênero de fungo que inclui várias espécies conhecidas por causar infecções comumente referida por tinea ou tineia (Maraki; Mavromanolaki, 2016).

Infecções por esse gênero fúngico, vem obtendo notoriedade na área veterinária e na saúde pública, isso se deve principalmente aos custos associados à sua natureza crônica, que requer terapias prolongadas e à morbidade que ela provoca (Ahmadi *et al.*, 2016; Cafarchia *et al.*, 2013). *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes* estão entre as espécies mais comuns responsáveis por infecções humanas. Enquanto o *T. rubrum* é uma das principais causas de infecções

nas unhas dos pés e das mãos, o *T. mentagrophytes* está associado a infecções em humanos e animais, causando doenças como pé de atleta e outras micoses (Zhan, Liu, 2017)

A transmissão de infecções por *Trichophyton* spp. normalmente ocorre por meio do contato direto com indivíduos infectados ou superfícies contaminadas, como pisos, toalhas e itens pessoais. Os fungos prosperam em ambientes quentes e úmidos, tornando locais como vestiários, piscinas e chuveiros comunitários propícios à sua propagação (Cruz *et al.*, 2019). As infecções por *Trichophyton* spp. podem apresentar uma série de sintomas, incluindo pele vermelha, escamosa e prurido, além de perda de cabelo e anormalidades nas unhas (Garg *et al.*, 2009). O tratamento geralmente envolve medicamentos antifúngicos, tópicos ou sistêmicos, dependendo da gravidade e localização da infecção (Anzawa *et al.*, 2011). Compreender a biologia e epidemiologia do *Trichophyton* spp. é crucial para a prevenção e tratamento eficazes destas dermatofitoses.

1.3.7.7. *Microsporum* spp.

Microsporum spp. é um gênero de fungos pertencente à família Arthrodermataceae e inclui diversas espécies conhecidas por causar dermatofitoses em humanos e animais. Assim como *Trichophyton*, o gênero *Microsporum* spp. também possui a capacidade de invadir e prosperar em tecidos queratinizados, como pele, cabelos e unhas, por ser da classe dos dermatófitos (Ameen, 2010; Guillot *et al.*, 2016). As tineas na pele se manifestam como lesões circulares, vermelhas, pruriginosas e descamativas, enquanto tineas das unhas levam a engrossamento, descoloração e deformação das unhas. Já as tineas do couro cabeludo podem resultar em áreas de alopecia e inflamação (Andrade Júnior *et al.*, 2020).

Entre as espécies desse gênero, *Microsporum canis* é uma das mais clinicamente significativa, e comumente associada à dermatofitose em cães e gatos e infecta humanos (Subelj *et al.*, 2014). A transmissão normalmente ocorre através do contato direto com animais infectados ou objetos contaminados, como escovas, pentes ou roupas de cama (Guillot *et al.*, 2016). As manifestações clínicas incluem lesões circulares, vermelhas e escamosas na pele. O diagnóstico geralmente envolve exame microscópico de raspagens de pele ou amostras de cabelo para identificar as estruturas fúngicas características (Cafarchia *et al.*, 2006).

O controle e a prevenção de infecções por *Microsporum* spp. envolvem práticas de higiene adequadas, incluindo limpeza regular dos espaços de convivência dos animais de estimação, tratamento imediato de animais infectados e evitar contato direto com indivíduos ou itens infectados. Medicamentos antifúngicos, tanto tópicos quanto sistêmicos, são comumente usados para o tratamento de infecções por *Microsporum* spp., (Chermette, Ferreiro, Guillot, 2008; Copetti *et al.*, 2006) apesar de haver estudos recentes que demonstram baixa susceptibilidade *in vitro* por

antifúngicos como o fluconazol, itraconal, cetoconazol, terbinafina, naftifina e griseofulvina (Irimie *et al.*, 2014; Hsiao *et al.*, 2018)

1.3.8. Limpeza e desinfecção de superfícies

O manual de limpeza e desinfecção de superfícies da Agência Nacional de vigilância sanitária preconiza que, seja realizado limpeza corrente no mínimo três vezes por dia em ambientes críticos, 2 vezes por dia em ambientes semicríticos e 1 vez por dia em ambiente não-crítico com datas e horários preestabelecidos. Na limpeza concorrente de piso de corredoresn deve-se dar preferência limpezas mais completas, incluindo todas as superfícies horizontais e verticais, internas e externas recomenda-se que sejam realizadas com intervalo máximo de 15 dias para áreas críticas e 30 dias para áreas não críticas ou semicríticas. (YAMAUSHI *et al.*, 2000). O uso de desinfetantes devem ser restritos a superfícies que possuam matéria orgânica. Também pode ser usado na desinfecção de áreas de isolamento. Caso haja surtos, é recomendado uso de desinfetantes em toda a extensão da superfície onde está ocorrendo o surto no leito do paciente (HINRICHSEN, 2004).

Uma das técnicas a ser usada para avaliar a eficácia da limpeza, pode ser a avaliação de diversidade fúngica nesses ambientes. É possível avaliar os índices de diversidade alfa que permitem observações e comparações entre diferentes locais em quesitos de riqueza e diversidade biológica. O índice de diversidade de simpson é considerado uma medida de dominância ou repartição das espécies, ou seja, as espécies comuns têm maior peso. Já o índice de Shannon – Wiener (H') é uma medida de equitabilidade das espécies, assim, as espécies raras possuem maior peso; este índice é menos sensível a variação de abundância. O índice de Margalef (DMg) avalia a maior diversidade em termos de riqueza de espécies, no qual quanto maior o número de espécies, maior o valor do índice de riqueza. Isso ocorre porque os índices de riqueza de Margalef assume uma relação direta entre o número de espécies e o número amostral. (SIMPSON, 1949; SHANNON, 1948; HAMMER *et al.*, 2001)

REFERÊNCIAS

ABREU, D. B.; SILVA, D.; PLÁCIDO, J. L. Aspergilose broncopulmonar alérgica. **Rev Port Imunoalergologia**, v. 30, n. 2, p. 85-100, 2022.

AHMADI, B.; MIRHENDI, H.; SHIDFAR, M.; NOURIPOURSIKHT, S.; JALALIZAND, N.; GERAMISHOAR, M.; SHOKOOHI, G.. A comparative study on morphological versus molecular identification of dermatophyte isolates. **Journal of Medical Mycology, Tehran**, v.0, p. 1-18, oct. 2014.

- ALMAGUER, M., FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M., DÍAZ, L., SÁNCHEZ, K. C., RODRÍGUEZ-RAJO, F. J., AIRA, M. J. *Aspergillus* and *Penicillium* spores as urban pathogens of the Havana atmosphere, Cuba. **Aerobiologia**, 37, 767-783. 2021.
- ALVARENGA, Sara Núñez. Recordando el mundo de los hongos, el reino Fungi. **Revista de Biología Tropical**, v. 2, n. 1, 2021.
- ALVES, V. C., FILHO, F. D. C. C., PEREIRA, M. M. G., COSTA, A. P. R., & MURATORI, M. C. S. Identificação de espécies de *Aspergillus* e potencial toxígeno de *Aspergillus flavus* isolados de rações comerciais. **Rev. Científica Produção Anim**, 16(2), 131-136. 2014
- AMEEN M. Epidemiology of superficial fungal infections. **Clin. Dermatol.** 28(2):197-201; 2010
- ANZAWA, K.; MOCHIZUKI, T.; NISHIBU, A.; ISHIZAKI, H.; KAMEI, K.; TAKAHASHI, Y.; FUJIHIRO, M.; SHINODA, H. Molecular epidemiology of *Trichophyton tonsurans* strains isolated in Japan between 2006 and 2010 and their susceptibility to oral antimycotics. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, v.64, n.6, p. 458-462, jan. 2011.
- ANUPMA, A., & TAMANG, J.P. Diversity of filamentous fungi isolated from some amylase and alcohol-producing starters of India. **Frontiers in Microbiology**, 11, 905, 2020.
- ASCARI, D.; TELMA, A. D. L. Avaliação dos óleos essenciais sobre a inibição do crescimento dos fungos *Botrytis cinerea* e *Fusarium* sp. 2022.
- ANDERSEN, B. M. *et al.* Floor cleaning: effect on bacteria and organic materials in hospital rooms. *Journal of Hospital Infection* v. 71, p. 57-65, 2009.
- ANDRADE JÚNIOR, F. P., Souza, H. D., Cordeiro, L. V., Silva, D. F., Lima, E. O. *Microsporum* spp como causador de dermatofitoses: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 5, p. e133953194-e133953194, 2020.
- AZEVEDO, E.; BARATA, M. Diversidade no reino Fungi e aplicações à Indústria. **Revista de Ciência Elementar**, v. 6, n. 4, 2018.
- BALTUSSEN, T. J., ZOLL, J., VERWEIJ, P. E., MELCHERS, W. J. Molecular mechanisms of conidial germination in *Aspergillus* spp. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 84(1), 10-1128. 2020.
- BAMBACE, A. M. J. *et al.* Eficácia das soluções aquosas de clorexidina para desinfecção de superfícies. **Revista Biociências**, v. 9, n. 2, p.73-81, 2003.
- BEM-SHLOMO, G., Plummer, C., Barrie, K., Brooks, D. *Curvularia* keratomycosis in a dog. **Veterinary ophthalmology**, 13(2), 126-130. 2010.
- BENNY, G. L., SMITH, M. E., KIRK, P. M., TRETTER, E. D., WHITE, M. M. Challenges and Future Perspectives in the Systematics of Kickxellomycotina, Mortierellomycotina, Mucoromycotina, and Zoopagomycotina. In: Li, D.W. (ed.) **Biology of Microfungi, Fungal Biology**. Switzerland: Springer International Publishing, p. 65–126, 2016
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. **Módulo 6: Detecção e identificação de fungos e de**

bactérias de importância médica /Agência Nacional de Vigilância sanitária. Brasília: Anvisa, 2013.

CAFARCHIA, C., ROMITO, D., CAPELLI, G., GUILLOT, J., OTRANTO, D. Isolation of *Microsporum canis* from the hair coat of pet dogs and cats belonging to owners diagnosed with *M. canis tinea corporis*. **Veterinary dermatology**, 17(5), 327-331. 2006

CAFARCHIA, C.; LATTA, R.; LATROFA, M.; GRASER, Y.; OTRANTO, D. Molecular epidemiology, phylogeny and evolution of dermatophytes. **Infection, Genetics and Evolution**, v.20, p.336-351, 2013.

CALAMARES-NETO, J.; COLOMBO, T. E. Isolamento e identificação de fungos filamentosos em peças anatômicas conservadas em formol. *Journal of the Health Sciences Institute*.v. 33, n. 3, p. 218-22. 2015.

CALUMBY, R. J. N., SILVA, J. A., DA SILVA, D. P., DE FARIAS MOREIRA, R. T., DOS SANTOS ARAUJO, M. A., DE ALMEIDA, L. M., ALVINO, V. Isolamento e identificação da microbiota fúngica anemófila em Unidade de Terapia Intensiva. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 10, p. 19708-19722, 2019.

CHENG, S. C. H., LIN, Y. Y., KUO, C. N., LAI, L. J. *Cladosporium keratitis*—a case report and literature review. **BMC ophthalmology**, 15, 1-5. 2015.

CHERMETTE R, FERREIRO L, GUILLOT J. Dermatophytoses in animals. **Mycopathologia**. 166(5–6):385-405. 2008.

CHOW, J., DIONNE, H. M., PRABHAKAR, A., MEHROTHA, A., SOMBOOMTHUM, J., GONZALEZ, B., CULLEN, P. J. Aggregate filamentous growth responses in yeast. **Msphere**, 4(2), 10-1128. 2019.

CORTEZ, D. V.; CASTRO, H. F.; ANDRADE, G. S. S. Potencial catalítico de lipases ligadas ao micélio de fungos filamentosos em processos de biotransformação. **Química Nova**, v. 40, p. 85-96, 2017.

COPETTI M. V, SANTURIO J. M., CAVALHEIRO, A. S., BOECK, A. A., ARGENTA, J. S., AGUIAR, L. C., ALVES, S. H. Dermatophytes isolated from dogs and cats suspected of dermatophytosis in Southern Brazil. **Acta Sci Vet**.34(2):119-124. 2006

COSTA, T. M., SPERB, J. G. C., RONCHETTI, A. L., BOTELHO, T. K. R., SELL, T. M., BERTOLI, S. L., TAVARES, L. B. B. Avaliação da velocidade específica de crescimento radial de fungos em óleo vegetal residual. **Revista de estudos ambientais**, Blumenau, v. 17 n.2, p. 29-40. 2015.

CUPUL, W. C., IGLESIAS-VELASCO, S. J., OSUNA-CASTRO, J. A., HERNÁNDEZ-ORTEGA, H. A., CENTENO-LEIJA, S. Antagonismo in vitro, actividad ligninolítica y de hidrolasas de pared celular en la interacción de especies de *Trichoderma* con *Curvularia eragrostidis* aislado de pña. **Scientia Fungorum**, 53, e1430-e1430. 2022.

BORBA, C. F., DA SILVA, M. B., DE ANDRADE, M. C. L., NEVES, R. P., DOS SANTOS, F. D. A. G., DA SILVA, M. N., MACÊDO, D. P. C. Prospecção de fungos anemófilos e contaminantes de incubadoras de unidade de terapia neonatal de hospital escola em Pernambuco, Brasil. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 5, p. 45210-45222, 2021.

CONCEIÇÃO, A. B. S., CONCEIÇÃO, L. G. S., OLIVEIRA, J. L. G., AMARAL, I. S. M., BONCI, M. M., OLIVEIRA, Á. A. Presença de fungos em rações de gatos comercializadas em Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. **Pubvet**, 16, 197. 2022.

CRUZ, A. B., FRANCO, M. S., AQUINO, S. Fungos isolados em um ginásio de esportes na cidade de São Paulo: pontos críticos de controle ambiental para prevenção de micoses em centros recreativos. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, 14(1), 11-20. 2019.

CORDEIRO, P. A., SIQUEIRA, G. K. R., DA SILVA, W. M. T., VIEIRA, P. D. S. Fungos anemófilos associados ao ambiente das enfermarias em unidade hospitalar do Cabo de Santo Agostinho-PE, Brasil. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 16, p. 1-8, 2021.

DENIS, M. S., GENÉ, J., SUTTON, D. A., WIEDERHOLD, N. P., CANO-LIRA, J. F., GUARRO, J. New species of *Cladosporium* associated with human and animal infections. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 36(1), 281-298. 2016.

DHAR, J., HAZRA, A., PATRA, R., KUMAR, V., SUBRAMANIYAN, V., KUMARASAMY, V., MITRA, A. K., SAYED, A. A., ALEYA, L., EL-DEMERDASH, F. M., ALMUTAIRI, M. H., AKASH, S., ABDEL-DAIM, M. M., KANT, A., DHARA, B. Unveiling *Curvularia tuberculata*-induced leaf anomalies in *Rhododendron ferrugineum*: implications in cultural-ecological conservation and harnessing microbial intervention in socio-economic advancement. **Frontiers in Microbiology**. V. 14. 2024.

FERRIOL MOLINA, M. Aspectos ecológicos de los hongos verdaderos (reino Fungi). 2023.

GARCIA, L. M., CÉSAR, I. D. C. O., BRAGA, C. A., SOUZA, G. A. A. D., MOTA, É. C. Perfil epidemiológico das infecções hospitalares por bactérias multidrogarresistentes em um hospital do norte de Minas Gerais. **Rev Epidemiol Control Infect**. V. 3, n. 2, p. 45-49. 2013.

GARCIA-RUBIO, R., DE OLIVEIRA, H. C., RIVERA, J., TREVIJANO-CONTADOR, N. The fungal cell wall: *Candida*, *Cryptococcus*, and *Aspergillus* species. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 2993, 2020.

GARG, J., TILAK, R., GARG, A., PRAKASH, P., GULATI, A. K., NATH, G. Rapid detection of dermatophytes from skin and hair. **BMC Res Notes** 2:60. 2009

GEISER, D. M., AOKI, T., BACON, C. W., BAKER, S. E., BHATTACHARYYA, M. K., BRANDT, M. E., ZHANG, N. One fungus, one name: defining the genus *Fusarium* in a scientifically robust way that preserves longstanding use. **Phytopathology**, v. 103, n. 5, p. 400-408. 2013.

GINA, A.G.S. Infecções por zigomicetos da ordem mucorales: patogênese, epidemiologia e terapêutica. Dissertação de Mestrado. 2021.

GAFFOROV, Y., RASETA, M., RAPJOR, S., YARASHEVA, M., WANG, X., ZHOU, L., ... & Chen, J. Macrofungi as Medicinal Resources in Uzbekistan: Biodiversity, **Ethnomycology, and Ethnomedicinal Practices**. **Journal of Fungi**, v. 9, p. 922. 2023.

GOMES, D. P., REIS, V. C. M., FRANÇA, É. G., DOS SANTOS, L. F., CUNHA, N. G. R., & SILVA, N. D. J. C. Condições para o Teste de Sanidade de Sementes de Capixingui Visando a Detecção de Fungos. **Cadernos de Agroecologia**, v. 15, n. 4. 2020.

- GUILLOT, J., JOHANNSEN, C., GUECHI, R., POLACK, B., CHERMETTE, R. Dermatophyte species isolated from companion animals in France: P 58. **Vet Dermatol.** V. 27, p. 88. 2016.
- HAMMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Pacote de software de estatística paleontológica para educação e análise de dados. **Paleontol Electron**, v. 4, p. 1-9, 2001.
- HINRICHSEN, S.L. *et al.* Limpeza Hospitalar: Importância no Controle de Infecções. *In:* HINRICHSEN, S.L. Biossegurança e Controle de Infecções. **Risco Sanitário Hospitalar.** Rio de Janeiro: Medsi, 2004, p. 175-203.
- HOOG, G.S., DUKIK, K., MONOD, M., PACKEU, A., STUBBE, D., HENDRICKX, M., & GRASER, Y. Toward a novel multilocus phylogenetic taxonomy for the dermatophytes. *Mycopathologia*, v. 182, p. 5 - 31. 2017.
- HSIAO, Y. H., CHEN, C., HAN, H.S., KANO, R. The first report of terbinafine resistance *Microsporum canis* from a cat. **J Vet Med Sci.** v. 80, ed. 6, p. 898-900. 2018.
- HUNTER, B. B.; BARNETT, H. L. Deuteromycetes (fungi imperfecti). *In:* Handbook of microbiology. **CRC Press**, p. 448-476. 2019.
- IRIMIE, M., TATARU, A., OANTA, A., MOGA, M. In vitro susceptibility of dermatophytes isolated from patients with end-stage renal disease: a case-control study. **Mycoses.** V. 57, n. 3, p. 129-134. 2014.
- JESUS, M. J. S., SOUSA, Z. L. Pesquisa de fungos dermatófitos em amostras de solo de parques recreacionais da cidade de Ilhéus, Bahia. **Revista Cereus**, v. 12, n. 1, p. 77-90. 2020.
- JI, F., HE, D., OLANIRAN, A. O., MOKOENA, M. P., XU, J., SHI, J. Occurrence, toxicity, production and detection of *Fusarium* mycotoxin: A review. **Food Production, Processing and Nutrition**, v. 1, n. 1, p. 1-14. 2019.
- JOSEPH, M. R. P., AL-HAKAMI, A. M., ASSIRY, M. M., JAMIL, A. S., ASSIRY, A. M., SHAKER, M. A., HAMID, M. E. In vitro anti-yeast activity of chloramphenicol: A preliminary report. *Journal de mycologie medicale*, v. 25, n. 1, p. 17-22. 2015.
- KARLSSON, I.; PERSSON, P.; FRIBERG, H. *Fusarium* head blight from a microbiome perspective. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 628373, 2021.
- KOSMIDIS, C., DENNING, D. W. The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. **Thorax.** V. 70 n. 3, p. 270-277. 2015.
- LADEIA, D. N., GODOY, J. T., QUINTELA, A. L. B., GONÇALVES, A. P. L., PEREIRA, A. P. O., MELO, C. P., LOPES, A. G. Fisiopatologia da pneumocistose em pacientes HIV positivo: revisão narrativa. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 12, n. 10, p. e3924-e3924, 2020.
- LAL, M., KUMAR, S., ALI, M., KHAN, A., SINGH, V., MURTI, S. Host range, susceptibility period of *Curvularia lunata* causing leaf spot of black gram and germplasm screening. **Agriways**, v. 1, n.2, p. 142-146. 2013.

- LIMA, A. K. S. et al. Fungos isolados da água de consumo de uma comunidade ribeirinha do médio Rio Solimões, Amazonas-Brasil: potencial patogênico. **Revista Ambiente & Água, Taubaté**. V. 12, n. 6, p. 1017-1024. 2017.
- LIMA, M. L. F.; LIMA, J. S.; SILVA, M. T. Fungos anemófilos: avaliação da microbiota do ar em ambientes interno e externo. **Essentia (Sobral)**; v. 20, n.1, p. 88-95. 2019.
- LUDLEY, K. E., ROBINSON, C. H. 'Decomposer' basidiomycota in Arctic and Antarctic ecosystems. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n.1, p. 11-29. 2008.
- MACEDO, E. S., DOS SANTOS QUEIROZ, F., NETO, A. A. S., SVEDESE, V. M., DINIZ, M. C. Fungos patogênicos e sua presença em ambientes de coleta seletiva: uma revisão cienciométrica. **Conexões-Ciência e Tecnologia**, v. 17, p. 022010. 2023.
- MANSO, A. *et al.* Eventos adversos na prestação de cuidados hospitalares em Portugal no ano de 2008. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**. V. 29, n. 2, p. 116-122. 2011.
- MARAKI, S.; MAVROMANOLAKI, V. Epidemiology of onychomycosis in Crete, Greece: a 12-year study. **Mycoses**, v. 59, n. 12, p. 798-802. 2016.
- MARTINS, L. M. L. Allergy to Fungi in Veterinary Medicine: *Alternaria*, Dermatophytes and *Malassezia* Pay the Bill! **Journal of Fungi**, v. 8, n. 3, p. 235. 2022.
- MEHTA, T.; MEENA, M.; NAGDA, A. Bioactive compounds of *Curvularia* species as a source of various biological activities and biotechnological applications. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 1069095, 2022.
- MERCIER, E., PETERS, I. R., BILLEN, F., BATAILLE, G., CLERCX, C., DAY, M. J., & PEETERS, D. Potential role of *Alternaria* and *Cladosporium* species in canine lymphoplasmacytic rhinitis. **Journal of Small Animal Practice**, v. 54, n. 4, p. 179-183. 2013.
- MESQUITA-ROCHA, S. *Aspergillus fumigatus*: aspectos gerais e importância na medicina contemporânea. **Journal of the Health Sciences Institute**, v. 37, n. 2, p. 169-173. 2019.
- MOREIRA, F. M., LAGE, R. V. D. S., COSTA, L. V. D., BRANDÃO, M. L. L. Identificação de fungos filamentosos em indústrias farmacêuticas: uma revisão integrativa da literatura. 2022.
- MORENO, L. F., FENG, P., WEISS, V. A., VICENTE, V. A., STIELOW, J. B., HOOG, S. Phylogenomic analyses reveal the diversity of laccase-coding genes in *Fonsecaea* genomes. **PLoS One**, 12(2), e0171291. 2017.
- NARANJO-ORTIZ, M. A., GABALDÓN, T. Fungal evolution: diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi. **Biological Reviews**, v. 94, n. 6, p. 2101-2137. 2019.
- NEGREIROS, M. A. Avaliação de meios e condições de cultivo de fungos filamentosos Amazônicos em um programa de triagem de antimicrobianos. 2020.
- NICOLÁS, F. E., MURCIA, L., NAVARRO, E., NAVARRO-MENDOZA, M. I., PÉREZ-ARQUES, C., GARRE, V. Mucorales species and macrophages. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 2, p. 94, 2020.

- OGHAZ, N. Akbari et al. Adjustment and quantification of UV–visible spectrophotometry analysis: An accurate and rapid method for estimating *Cladosporium* spp. Spore concentration in a water suspension. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 10, p. 183, 2022.
- OLIVEIRA, L. D. C., & BORGES-PALUCH, L. R. Alergias respiratórias: uma revisão dos principais fungos anemófilos e fatores desencadeantes. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 39, n. 2, p. 426. 2015.
- OLIVEIRA, R. L., PATROCINIO, V. H., NASCIMENTO, P. P., PELISSARO, G. S., GAETTI-JARDIM, E. C., MENDONÇA, J. C. Mucormicose: Relato de caso. Perspectivas Experimentais e Clínicas, **Inovações Biomédicas e Educação em Saúde (PECIBES)**, v. 5, n. 1, 2019.
- OTERO, C., ARREDONDO, C., ECHEVERRÍA-VEGA, A., GORDILLO-FUENZALIDA, F. *Penicillium* spp. Mycotoxins found in food and feed and their health effects. **World Mycotoxin Journal**, v. 13, n. 3, p. 323-343, 2020.
- OWENS, C.D.; STOESSEL, K. Surgical site infections: epidemiology, microbiology and prevention. **Journal of Hospital Infection**. V. 70, p. 3–10, 2008.
- PANAGOPOULOU, P. et al. Environmental surveillance of filamentous fungi in three tertiary care hospitals in Greece. **Journal of Hospital Infection**, v.52, p.185-191, 2002.
- PARYUNI, A. D., INDARJULIANTO, S., WIDYARINI, S. Dermatophytosis in companion animals: A review. **Veterinary world**, v. 13, n. 6, p. 1174. 2020.
- PÉRICAS, B. R., AVILA, A. L., CORREIA, C. E., BAGIO, P., HASKEL, K. C., GERMANO, A. C., BATISTA, K. Z. S. Fungos causadores de micotoxicoses em suínos. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 19 n.1. 2021.
- PIRES, W. A. M. Perfil populacional de fungos anemófilos em hospitais brasileiros: uma revisão integrativa. 2021.
- PITT, J. I.; HOCKING, A. D. Zygomycetes. In: Fungi and food spoilage. Cham: **Springer International Publishing**, p. 201-230. 2022
- PRADO, G. Contaminação de alimentos por micotoxinas no Brasil e no mundo. **Gerais: Revista de Saúde Pública do SUS/MG**, v. 2, n. 2, p. 13-26, 2017.
- QUEIROZ, C., DE SOUSA, A. C. B. Produção de enzimas hidrolíticas por fungos filamentosos em diferentes substratos sólidos. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 51849-51860, 2020.
- REIS-MENEZES, A., GAMBALE, W., CINTRA-FIUDICE, M. A survey of fungal contamination on books in public libraries with mechanical and natural ventilation. **Indoor and Built Environment**, v. 20, n.4, p.393-399. 2011.
- RUTALA, W. A.; WERBER, D. J. The benefits of surface disinfection. **American Journal of Infection Control**, v. 32, n. 4, p. 226-231. 2004.
- RATHORE, S. S., SATHIYAMOORTHY, J., LALITHA, C., RAMAKRISHNAN, J. A holistic review on *Cryptococcus neoformans*. **Microbial pathogenesis**, v. 166, p. 105521, 2022.

- REIS, A., DE SOUZA, R. L., KÓR, D. G., CANEDO, E., LIMA, F. D. S. Principais doenças das brássicas causadas por fungos, oomicetos e protozoário: identificação e manejo. Brasília: **Embrapa Hortaliças**, 2021.
- RIDDELL, R. W. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. **Mycologia**, v. 42, n. 2, p. 265-270, 1950.
- ROSA, P. D., AQUINO, V., FUENTEFRIA, A. M., GOLDANI, L. Z. Diversity of *Fusarium* species causing invasive and disseminated infections. **Journal of Medical Mycology**, v. 31 n. 3, p. 101137. 2021.
- SANTOS, D. C. Ascomicetos assexuais saprotróficos no cerrado do Mato Grosso do Sul. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 2020.
- SCHMIDT, M. Boric Acid Inhibition of *Trichophyton rubrum* Growth and Conidia Formation. **Biol Trace Elem Res**. V. 180, n. 2, p. 349-354. 2017
- SEYEDMOUSAVI, S., BOSCO, S. D. M., HOOG, S., EBEL, F., ELAD, D., GOMES, R. R., GUILLOT, J. Fungal infections in animals: a patchwork of different situations. **Medical mycology**, v. 56 (suppl_1), p.165-187. 2018.
- CHADEGANIPOUR, M., MOHAMMADI, R., SHADZI, S. A 10-year study of dermatophytoses in Isfahan, Iran. **Journal of clinical laboratory analysis**, v. 30 n. 2, p. 103-107. 2016.
- SHANNON, C. A mathematical theory of communication. **The Bell System Technical Journal**, v. 27, p. 379–423, 623–656. 1948
- SHERLOCK, O. et al. Is it really clean? An evaluation of the efficacy of four methods for determining hospital cleanliness. **Journal of Hospital Infection**. Jun-Jul, p. 1-7. 2009.
- SILVA, Ingrid dos Santos da et al. Mapeamento e procedimentos dos processos de identificação e autenticação da coleção culturas de fungos filamentosos da Fiocruz. 2022. Tese de Doutorado.
- SIMPSON, E. Measurement of diversity. **Nature**, v. 163, p. 688. 1949
- SIVANANDHAN, S., KHUSRO, A., PAULRAJ, M. G., IGNACIMUTHU, S., AL-DHABI, N. A. Biocontrol properties of basidiomycetes: An overview. **Journal of fungi**, v. 3, n. 1, p. 2, 2017.
- SOBRAL, L. V. D. Fungos anemófilos de ambiente hospitalar: perfil de suscetibilidade antifúngica e alergenicidade. 2023.
- SOPHIA, A., YOGICA, R. Comparison of effectiveness of red beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and candlenut (*Aleurites moluccana* (L.) Willd) as a replacement for media sabouraud dextrose agar for *Candida albicans* growth. In: **Journal of Physics: Conference Series**. IOP Publishing, p. 012068. 2021
- SOUSA, D.B., LIMA, M.A.S. Micotoxinas: os metabólitos tóxicos dos fungos. **Tópicos em química microbiana**, p. 72. 2018.
- SPRICIGO, M. C. Uma breve história dos fungos na evolução da Terra. 2022.

- STULL, J. W; WEESE, J. S. Hospital-Associated Infections in Small Animal Practice. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 45, n. 2, p. 217- 233. 2015.
- SUBELJ, M., MARINKO, J. S., UCAKAR, V. An outbreak of *Microsporum canis* in two elementary schools in a rural area around the capital city of Slovenia, 2012. **Epidemiol Infect.** V. 142, n. 12, p.2662-2666. 2014.
- SUMMERELL, B. A. Resolving *Fusarium*: Current status of the genus. **Annual review of phytopathology**, v. 57, p. 323-339. 2019.
- THINES, M., AOKI, T., CROUS, P.W. *et al.* Setting scientific names at all taxonomic ranks in italics facilitates their quick recognition in scientific papers. **IMA Fungus** v. 11, p. 25, 2020.
- TANG, C., AHMED, S. A., DENG, S., ZHANG, L., ZOLL, J., AL-HATMI, A. M., HOOG, G. S. Detection of emerging genotypes in *Trichophyton mentagrophytes* species complex: A proposal for handling biodiversity in dermatophytes. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 960190. 2022.
- TSANTES, A. G., PAPADOPOULOS, D. V., MARKOU, E., ZAROKOSTAS, K., SOKOU, R., TRIKOUPIS, I., VRIONI, G. *Aspergillus* spp. Osteoarticular infections: an updated systematic review on the diagnosis, treatment and outcomes of 186 confirmed cases. **Medical Mycology**, v. 60, n. 8, p. 052. 2022.
- UL HASSAN, Z., AL THANI, R., ALNAIMI, H., MIGHELI, Q., JAOUA, S. Investigation and application of *Bacillus licheniformis* volatile compounds for the biological control of toxigenic *Aspergillus* and *Penicillium* spp. **ACS omega**, v. 4, n. 17, p. 17186-17193, 2019.
- WANG, S., WANG, Y., LI, Y. *Cladosporium* spp. (Cladosporiaceae) isolated from *Eucommia ulmoides* in China. **MycoKeys**, v. 91, p. 151. 2022.
- WIDYANA, E. D., TARSIKAH, N., NAIMAH, N. The effectiveness of rose flower (*Rosa chinensis* jacq) on *Candida albicans* colonies in jelly (sabouraud dextrose agar) media. **Public Health of Indonesia**, v. 5, n. 1, p. 8-13. 2019.
- WILSON, A. M., WILKEN, P. M., VAN DER NEST, M. A., WINGFIELD, M. J., WINGFIELD, B. D. It's all in the genes: the regulatory pathways of sexual reproduction in filamentous ascomycetes. **Genes**, v. 10, n.5, p.330. 2019.
- MADRID, I. M., MEINERZ, A. R. M., CLEFF, M. B., SCHUCH, L. F. D., M., NOBRE, O., MEIRELES, M. C. A. Atividade "in vitro" de três agentes químicos frente a diferentes espécies de *Aspergillus*. **Arquivos do Instituto Biológico**. V. 74, p. 49-53, 2007.
- XIANG, S., MA, X., LIAO, S., SHI, H., LIU, C., SHEN, Y., SUN, X. Cellulose nanocrystal surface cationization: A new fungicide with high activity against *Phycomycetes capsici*. **Molecules**, v. 24, n. 13, p. 2467. 2019.
- YAMAUSHI, N.I; LACERDA, R.A; GABRIELLONI, M.C. Limpeza Hospitalar. In: FERNANDES, A.T. editor. Infecção Hospitalar e suas interfaces na área da saúde. São Paulo: Atheneu, 2000. p.1141-1155.
- YASMEEN, S. WAQAS, O., MUNIR, J., SULTAN, F., HAMEED, A. Hepatosplenic mucormycosis post autologous stem cell transplant. **Pakistan Journal of Medical Sciences**, v. 33, n. 3, p. 776. 2017.

YOUNGCHIM, S., PORNSUWAN, S., NOSANCHUCK, J.D., DANKAI, W., VANITTANAKOM, N. Melanogenesis in dermatophyte species in vitro and during infection. **Microbiology (Reading)**. 2011

YUVARANI, R., BRINDHADEVI, S., THIRUVUDAINAMBI, S., THERADIMANI, M., VANNIARAJAN, C., RENUKA, R Morphological and molecular characterization of *Curvularia* species associated with grain discoloration of rice in Tamil Nadu. **The Pharma Innovation Journal**, v. 10, n. 10, p. 1791-1796. 2021.

ZHAN, P., LIU, W. The changing face of dermatophytic infections worldwide. **Mycopathologia**. V. 182 n.1-2 p.77–86. 2017.

ZHANG, M., JEYAKUMAR, J. M. J. *Fusarium* species complex causing pokkah boeng in China. **Fusarium-Plant Diseases, Pathogen Diversity, Genetic Diversity, Resistance and Molecular Markers**, p. 139-154. 2018.

2 CAPÍTULO II – ARTIGO 1

Isolamento fúngico em ambiente hospitalar veterinário e avaliação da desinfecção ambiental

RESUMO

A presença de fungos em ambientes hospitalares veterinários é uma preocupação constante, devido à sua capacidade de causar infecções e doenças em animais que frequentam e nos seres humanos que laboram no local. O estudo investigou a presença e a diversidade de fungos em ambiente veterinário hospitalar, especialmente em objetos oriundos da sala de medicação pré-anestésica (MPA) e do centro cirúrgico (CC) de uma clínica veterinária universitária. As amostras foram coletadas de objetos pertencentes a esses ambientes, por meio de swab estéril e repicadas em placas de Petri contendo ágar sabouraud dextrose (SDA) suplementado com cloranfenicol antes e logo após o procedimento de higiene e desinfecção do ambiente. Após o isolamento e purificação dos fungos, foi realizado o microcultivo para avaliar o gênero. Os dados foram analisados pelos percentuais, teste de Wilcoxon e análise de diversidade a partir do índice de diversidade Simpson (1-D), Shannon (H') e Margalef (DMg). Foram isoladas 115 colônias sendo 88 (76,5%) na MPA e 27 (23,5%) no CC. Destas, 74 (64,3%) foram isoladas antes da limpeza (53 – 71,6% na MPA e 21 – 28,4% no CC) e 41 (35,7%) após a limpeza (35 – 85,4% na MPA e 6 – 14,6% no CC). Foram identificados 11 gêneros sendo os mais prevalentes *Trichophyton* spp. (53,9%), *Microsporum* spp. (18,3%) e *Cladosporium* spp. (11,3%). Conforme os cálculos de diversidade alfa, a diversidade, a uniformidade e a riqueza de espécies fúngicas foi maior na MPA após a limpeza (1-D = 0,69; H' = 1,433; DMg = 1,406) e no CC antes da limpeza (1-D = 0,7892; H' = 1,76; DMg = 1,642). O teste de Wilcoxon não demonstrou diferença estatística significativa antes e após a limpeza, demonstrando assim que a limpeza não está sendo eficiente nos ambientes. A limpeza mostrou-se ineficiente em ambos os ambientes. É essencial estabelecer padrões para a diluição de antissépticos, realizar controles de qualidade internos por meio de ensaios microbiológicos frequentes e conduzir capacitações periódicas, garantindo assim maior segurança aos pacientes.

Palavras-chave: Anemófilos, Centro cirúrgico, Clínica veterinária, Dermatófitos.

ABSTRACT

The presence of fungi in veterinary hospital environments is a constant concern, due to their ability to cause infections and diseases in animals that frequent them and in humans that work there. The study investigated the presence and diversity of fungi in a veterinary hospital environment, especially on objects from the pre-anesthetic medication room (MPA) and the surgical center (CC) of a university veterinary clinic. Samples were collected from objects belonging to these environments, using a sterile swab and placed in Petri dishes containing sabouraud dextrose agar (SDA) supplemented with chloramphenicol before and immediately after the hygiene and environmental disinfection procedure. After isolation and purification of the fungi, microculture was performed to evaluate the genus. The data were analyzed using percentages, the Wilcoxon test and diversity

analysis using the Simpson (1-D), Shannon (H') and Margalef (DMg) diversity index. 115 colonies were isolated, 88 (76.5%) in the MPA and 27 (23.5%) in the CC. Of these, 74 (64.3%) were isolated before cleaning (53 – 71.6% in MPA and 21 – 28.4% in CC) and 41 (35.7%) after cleaning (35 – 85.4%) in MPA and 6 – 14.6% without CC). 11 genera were identified, the most prevalent being *Trichophyton* spp. (53.9%), *Microsporum* spp. (18.3%) and *Cladosporium* spp. (11.3%). According to alpha diversity calculations, the diversity, uniformity and richness of fungal species was greater in the MPA after cleaning (1-D = 0.69; H' = 1.433; DMg = 1.406) and in the CC before cleaning (1-D = 0.7892; H' = 1.76; DMg = 1.642). The Wilcoxon test did not demonstrate a statistically significant difference before and after cleaning, thus demonstrating that cleaning is not being efficient in these environments. Cleaning proved to be inefficient in both environments. It is essential to establish standards for the dilution of antiseptics, carry out internal quality controls through frequent microbiological tests and conduct periodic training, thus ensuring greater safety for patients.

Keywords: Anemophiles, Dermatophytes, Operating room, Veterinary clinic.

INTRODUÇÃO

Fungos são seres eucariontes, ubíquos, heterotróficos, unicelulares e/ou pluricelulares que podem permanecer viáveis por longos períodos em ar ambiente ou em superfícies (Lima *et al.*, 2017). São amplamente encontrados na natureza, e seus conídios e fragmentos de micélio vegetativo tornam-se porções viáveis desses organismos durante o processo de disseminação aérea, podendo ser localizados no ar, água, solo, animais domésticos e silvestres, superfícies, excretas e em vários alimentos como produtos lácteos, bebidas e queijos (Carmo, *et al.* 2007; Mezzari *et al.*, 2003). Por isso a proliferação de fungos a sistemas biológicos é um assunto importante para a saúde pública, uma vez que grande parte dessas infecções se refere a microrganismos resistentes (Garcia *et al.*, 2013).

A presença de fungos em ambientes hospitalares veterinários é uma preocupação constante, devido à sua capacidade de causar infecções e doenças em animais (Silva *et al.*, 2023). Em ambientes hospitalares, a concentração de fungos é maior devido à presença de doenças, materiais orgânicos e condições favoráveis ao seu crescimento (Hofling, Gonçalves, 2020). Dentre os diferentes tipos de fungos, os filamentosos são particularmente relevantes em ambientes hospitalares veterinários, e podem ser encontrados em diferentes superfícies, como paredes, pisos e equipamentos médicos (Santos, Cordeiro *et al.*, 2021). Essa situação se torna mais complexa, uma vez que não há protocolos de desinfecção em ambientes veterinários elaborados pelo Ministério da Pecuária, Agropecuária e Pecuária, como ocorre em serviços de saúde para humanos (Brasil, 2012)

A transmissão desses fungos ocorrem por meio do contato direto com o animal infectado, objetos contaminados ou mesmo pelo ar. Em um ambiente hospitalar veterinário, onde há grande circulação de pessoas e animais, a presença de fungos patogênicos aumenta o risco de infecções e complicações para os pacientes. Além disso, esses fungos podem ser resistentes a tratamentos antifúngicos convencionais, tornando o controle e a prevenção dessas infecções ainda mais desafiadoras (Silva *et al.*, 2023).

Os gêneros com maior prevalência em unidades de saúde são *Aspergillus* e *Penicillium*, estes considerados anemófilos (Cordeiro *et al.*, 2021), ou seja, são dispersos pelo ar. Eles são levados pelo vento e entram no ambiente hospitalar por meio de janelas, portas e sistemas de ventilação. Uma vez dentro do hospital, se instalam em superfícies e se multiplicam, representando um risco para a saúde dos animais (Silva *et al.*, 2023). É importante ressaltar que esses fungos anemófilos são potencialmente perigosos, podendo ocasionar alergias, doenças respiratórias, meningite, micoses e infecções invasivas e contagiosas (Oliveira *et al.*, 2016)

No geral, os animais são hospedeiros de variadas espécies fúngicas, entre eles, por exemplo, os dermatófitos, os quais colonizam a pele, unhas, pelos ou até mesmo órgãos internos causando infecções zoonóticas (Bonaccorsi, 2019). A presença fúngica pode ser um indicativo de problemas de saúde, necessitando de tratamento, pois sem a terapia adequada esses animais contribuem para a disseminação em ambientes hospitalares veterinários (Silva *et al.*, 2023). Vale ressaltar que até mesmo fungos não patogênicos, que estão presente nos ambientes, podem causar malefícios a saúde a um organismo imunocomprometido, como é o caso da aspergilose, causado pelo gênero *Aspergillus* (SILVA *et al.*, 2017). Portanto, este trabalho visa identificar fungos isolados de objetos pertencentes a ambiente hospitalar veterinário e verificar se o procedimento de desinfecção está sendo eficaz.

MATERIAIS E MÉTODOS

Caracterização e local de coleta – Trata-se de um estudo experimental, descritivo de natureza transversal realizado em uma clínica veterinária universitária localizada no município de Araguaína, norte do Tocantins. Esta clínica atende a população do município oferecendo serviço de atendimento clínico, cirúrgico e realiza exames de diagnóstico por imagem e de patologia clínica.

Desinfecção do ambiente – No que se refere aos saneantes utilizados, o álcool a 70% é o padronizado para materiais médicos que contém inox e bancadas; amônia quaternária 1:50 utilizado nos pisos, paredes e tetos; o saneante químico a base de cloreto de benzalcônio também é usado na limpeza dos pisos e nas janelas.

Colheita e processamento das amostras – As amostras foram colhidas de objetos oriundos de dois ambientes da clínica veterinária universitária: Sala de Medicação Pré-anestésica (MPA) e Centro Cirúrgico (CC), no período chuvoso compreendendo os meses de março e maio de 2022 – cuja umidade relativa do ar média, apontou 84,7% e 73,2%, respectivamente (Instituto Nacional de Meteorologia, 2024). Os objetos foram selecionados estrategicamente pelo contato com profissionais, pacientes e acompanhantes. Foram amostrados os objetos da MPA: armário, maçaneta, máquina de tosa, mesa de apoio para o CC, mesa do paciente e almotolia; e do CC: armário, balão respiratório de silicone, traqueia, mesa do paciente, almotolia e porta. A justificativa da coleta na porta do CC se pauta na ausência de maçanetas, como na MPA. As amostras foram coletadas em um único dia, por setor, sendo coletada uma amostra de cada objeto antes e outra logo após a limpeza do local.

As amostras foram obtidas com swabs estéreis embebidos em solução salina 0,85% que foram friccionados na superfície do objeto e depositados em tubos de ensaio devidamente identificados, contendo o Caldo de Infusão de Cérebro e Coração (BHI) (Koneman *et al.*, 2008; Brasil, 2013^a). A área coletada do objeto foi 10% do tamanho da superfície, não extrapolando os 100 cm²; nos casos em que a superfície era reduzida foi coletada amostra da totalidade da área. Em seguida as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Higiene e Saúde Pública da Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT) em Araguaína – TO, para serem processadas.

Processamento das amostras. As amostras foram repicadas por esgotamento em estria em placas de Petri contendo ágar sabouraud dextrose (SDA) suplementada com cloranfenicol e foram incubadas durante 10 dias a uma temperatura de 25±2°C com observação diária para verificar o crescimento de fungos filamentosos. Ao final do período de incubação foi realizada uma contagem das unidades formadoras de colônia (UFC).

Isolamento e identificação. Os fungos foram isolados por meio de repiques sucessivos até obtenção de cultura pura em ágar incubando as placas em temperatura de 25 ±2°C por um período de cinco a dez dias. Em seguida foi realizada a caracterização macroscópica (Brasil, 2013b) com agrupamento das colônias em morfotipos. De cada objeto dos ambientes analisados, um representante a cada cinco morfotipos iguais foram submetidos a técnica de microcultivo segundo Riddell (1950) para análise microscópica, para visualização e identificação do menor nível taxonômico do fungo por meio de comparação das estruturas visualizadas com as disponíveis na literatura (Kleiner, 1998; Faia, 2011, Alcântara, Cunha, Almeida, 2001; Brasil, 2013).

Análises estatísticas – Foi avaliado o percentual de UFC encontrada por ambiente, por objeto e por gênero. Além disso foi realizado o Teste de Wilcoxon Matched-Pairs para avaliar se os postos médios populacionais antes e após a limpeza diferem. Também foi utilizado o programa OpenEpi para avaliação da distribuição da frequência fúngica. Para quantificar a diversidade e a riqueza das amostras foi calculado os índices de diversidade alfa – Diversidade de simpson (1-D), Shannon (H)

e Margalef (DMg) (Simpson, 1949; Shannon, 1948; Hammer *et al.*, 2001), calculados no programa PAST versão 4.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram isoladas 115 UFC, sendo 88 (76,5%) da MPA e 27 (23,5%) do CC, 16 morfotipos diferentes e 10 gêneros distintos, sendo os mais prevalentes *Trichophyton* 62 UFC (54%), *Microsporum* 21 UFC (18,3%) e *Cladosporium* 13 UFC (11,3%), (Tabela 1).

Na MPA, antes da limpeza foram isoladas 53 UFC com seis morfotipos e quatro gêneros, sendo os mais prevalentes *Trichophyton* spp. com 35 UFC (66%), *Microsporum* spp. 14 (26,4%) e *Cladosporium* spp. 3 UFC (5,7%). Após a limpeza foram isolados 35 UFC com seis morfotipos e seis gêneros, dos quais os mais prevalentes foram *Trichophyton* 17 UFC (48,6%), *Cladosporium* e *Microsporum* com 7 UFC (20%) cada. Foi possível observar diminuição das UFC, o número de morfotipos permaneceu o mesmo, porém houve maior quantidade de gêneros identificados após a limpeza. Apesar da higiene e desinfecção diminuir a quantidade de fungos isolados, foram encontrados dois gêneros somente após a limpeza, *Acremonium* e *Epidermophyton*. Uma possível explicação para a situação é que durante o procedimento de higienização esses fungos podem ter sido carreados de outros objetos que não foram realizadas coletas, onde a limpeza foi realizada de forma incorreta, ou mesmo após a limpeza do chão levando a suspensão de esporos fúngicos.

Tabela 1. Gêneros de fungos isolados de objetos oriundos da sala de medicação pré-anestésica e centro cirúrgico de uma clínica veterinária universitária do norte do Tocantins, colocados por quantidade de UFC de cada morfotipos identificado, antes e após a limpeza do ambiente, no ano de 2022

Gêneros	Medicação pré-anestésica						Total	Centro Cirúrgico						Total
	Antes limpeza			Após Limpeza				Antes Limpeza			Após limpeza			
	M*1	M2	M3	M1	M2	M3		M1	M2	M3	M1	M2	M3	
<i>Acremonium</i>	-**	-	-	2	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus</i>	-	-	-	-	-	-	-	2	4	-	-	-	-	6
<i>Cladosporium</i>	3	-	-	7	-	-	10	-	3	-	-	-	-	3
<i>Curvularia</i>	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	2
<i>Epidermophyton</i>	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Fusarium</i>	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
<i>Microsporum</i>	14	-	-	7	-	-	21	-	-	-	-	-	-	-
<i>Mucor</i>	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium</i>	-	-	-	1	-	-	1	-	3	-	1	1	-	5
<i>Trichophyton</i>	30	1	4	17	-	-	52	3	3	-	4	-	-	10
	Total 53			Total 35			88	Total 21			Total 6			27

*M, indica morfotipo; **- indica ausência de crescimento desse morfotipo.

No CC antes da limpeza foram isoladas 21 UFC com oito morfotipos e 6 gêneros, sendo os mais prevalentes *Trichophyton* e *Aspergillus*, ambos com 30% (6UFC) cada. Após a limpeza foram isoladas 6 UFC, com três morfotipos e dois gêneros: *Trichophyton* com 4 UFC (66,7%) e *Penicillium* com 2 UFC (33,2%). Alguns fungos só cresceram em um ambiente, como por exemplo, *Curvularia* spp. e *Aspergillus* spp. que foram isolados apenas no CC. Por outro lado, somente na MPA houve

crescimento de *Acremonium* spp. e *Epidermophyton* spp.. É notório que no CC houve maior redução da quantidade de UFC e dos gêneros comparado ao MPA.

O CC é um local onde há maior restrição na circulação de pessoas e por realizar procedimentos mais invasivos, pode despertar maior preocupação tanto do pessoal da limpeza quanto dos profissionais veterinários e técnicos que realizam os procedimentos de desinfecção de superfícies nos objetos de forma mais cautelosa e diligente. Apesar disto, é importante se atentar a presença dos fungos que foram encontrados exclusivamente no CC, como *Aspergillus* spp., *Curvularia* spp. e *Microsporum* spp., pois no local é realizado diversos procedimentos invasivos e que pode contaminar e agravar o estado de saúde do animal. A ausência desses fungos na MPA não determina a ausência deles no ambiente, somente refere que não houve isolamento desses gêneros nos objetos observados (Saleem, Alnakshabandie, Saadullah, 2018).

Há materiais desinfetantes que podem contribuir para a ineficiência do processo de limpeza, principalmente se houver o reuso de panos de limpeza em superfícies que estão contaminadas. Em uma análise sistemática realizada no estado de Tocantins por Lourenzo *et al.* (2020), somente 14,28% das limpezas de superfícies hospitalares humanas ocorre com panos descartáveis, o qual seria mais recomendável para aplicação dos produtos de limpeza e desinfecção. A contaminação cruzada também ocorre pela falta de higienização das mãos em profissionais de saúde, que podem carrear microrganismos de um ambiente para outro. No caso do CC o uso de luvas cirúrgicas estéreis, também reduz esse tipo de contaminação, que ocorre numa frequência de 13,0% a 34,6% (Gonçalves, Luz, Azevedo, 2016).

Considerando a quantidade de *Trichophyton* spp. identificados na sala de MPA e no CC, essa ocorrência pode ser explicada pela capacidade dos cães em carregarem fungos dermatófitos mesmo quando estão aparentemente saudáveis, afinal essas patologias possuem elevado caráter contagioso e elevada importância para a saúde pública, uma vez que são zoonoses (Paryuni *et al.*, 2020). No geral 59,1% dos fungos isolados na MPA correspondem ao gênero *Trichophyton*, já no CC o percentual de *Trichophyton* decai para 37%. Caso seja considerado todos os fungos dermatófitos em ambos ambientes os valores chegam a 84 UFC (73%), pois esses gêneros estão amplamente presente em animais domésticos (Subelj *et al.*, 2014), como é o caso do *Microsporum canis*, que além de cachorros, também é endêmico em felinos. A maioria dos animais jovens podem estar clinicamente afetada, mas os adultos, podem ser assintomáticos (Costa *et al.*, 2013; Mendoza *et al.*, 2010).

Da mesma forma, epidemiologicamente, há espécies de *Trichophyton* como o *Trichophyton mentagrophytes* que está frequentemente presente em roedores, cães, cavalos, e outros animais (Lagowski *et al.*, 2019). Outra classe observada predominante nesse estudo, são os fungos anemófilos: *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium* e *Penicillium*, com 27 UFC (23,5%).

Esses fungos possuem alta dispersão atmosférica facilitada pelos seus esporos e fácil cultivo (Sobral, 2023), característica que justifica tais resultados. Juntos, os dermatófitos e anemófilos correspondem a 96,5% dos fungos encontrados.

Em hospital humano os fungos filamentosos mais encontrados são principalmente dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium* (Morais *et al*, 2016). Em ambiente veterinário encontraram por exemplo, a presença de diversas espécies de *Aspergillus* spp. (Mattei, 2010). É possível observar em outros estudos como o de Lobato *et al.* (2009) que a presença do gênero *Cladosporium* é comum em ambiente hospitalar humano. Nesse estudo foi realizada análises do ar ambiente de um hospital do Rio Grande do Sul e 75% dos achados correspondiam a *Cladosporium* e o presente estudo também observou UFCs do gênero *Cladosporium* que possivelmente estavam dispersos no ar ambiente da MPA. Vale ressaltar que uma das hipóteses para essa contaminação pode estar relacionada com a falta de rotina na limpeza do ar-condicionado. Também foi encontrado o gênero *Cladosporium* em amostras coletadas da superfície da porta e almotolia do CC.

A partir de estudos como esses, fica evidente a importância que a equipe de limpeza e profissionais da saúde prestam na adequada higienização do ambiente de CC. Todavia, há pouco descrito na literatura acerca da limpeza de ambientes pré-cirúrgicos e poucas análises microbiológicas nesses ambientes, principalmente com fungos em ambiente veterinário (Paula, Magalhães, Pereira, 2017).

Tabela 2 – Valores dos índices de diversidade relacionados a presença de fungos no ambiente hospitalar de uma clínica veterinária no município de Araguaína, TO, no período de março e maio de 2022 no CC e MPA

Índices	MPA*		CC**	
	AL***	PL****	AL	PL
Margalef (DMg)	0,7556	1,406	1,642	0,5581
Simpson (1-D)	0,5	0,69	0,7892	0,5333
Shannon (H)	0,8914	1,433	1,76	0,7198

Legendas: *MPA: Sala de medicação pré anestésica, **CC: Centro Cirúrgico, ***AL: Antes da Limpeza, **** PL: Após a limpeza

Fonte: Dados da pesquisa, 2024

Em relação aos valores encontrados nos índices avaliados, é possível observar maior diversidade em termos de riqueza de espécies no MPA após a limpeza, segundo índice de Magalef (DMg =1,406) comparado ao resultado antes da limpeza (DMg = 0,7556). No Centro Cirúrgico, ocorreu o oposto, antes da limpeza apresentou maior diversidade em termos de riqueza (DMg = 1,642), do que após a limpeza (DMg = 0,5581). A riqueza é vista como a presença de fungos mais raros, logo, é possível justificar os resultados suplementando com a análise da Tabela 1. Observa-se

que no MPA após a limpeza foram encontrados fungos mais raros no ambiente, gêneros que apresentam menos que 3% da amostragem total coletada na MPA, como por exemplo *Acremonium* (2 UFC), *Epidermophyton* spp. (1 UFC) e *Penicillium* spp. (1 UFC), em contrapartida observa-se que os fungos mais comuns, como *Trichophyton* spp. e *Microsporium* spp. possuem redução de UFCs em aproximadamente 50%. No CC os resultados são opostos, uma vez que fungos mais raros no ambiente, como *Curvulária* spp. (2 UFC) e *Fusarium* spp. (1 UFC), somente foi observado antes da limpeza. Após a limpeza do CC somente são encontrados dois gêneros, *Penicillium* e *Trichophyton*, que representam no geral, 55% das UFC isoladas no CC.

Outra análise realizada, foi a aplicação do índice de diversidade de Simpson nos dados. O índice apresentou maior diversidade na MPA após a limpeza (1-D = 0,69), do que quando comparado antes da limpeza (1-D = 0,5). Em relação ao índice de Shannon que também foi maior após a limpeza do MPA ($H' = 1,433$) do que antes da limpeza ($H' = 0,8914$), indicando assim que há maior probabilidade de encontrar espécies raras ao coletar duas amostras aleatoriamente após a limpeza, do que quando comparado a antes da limpeza (Tabela 2). Já no CC o índice de diversidade de Simpson foi maior antes da limpeza (1-D = 0,7892), do que após a limpeza (1-D = 0,5333), assim como o índice de Shannon também foi maior antes da limpeza ($H' = 1,76$), do que antes da limpeza ($H' = 0,7198$).

Assim ocorreu em pesquisas de Fonseca e colaboradores (2016), com a desinfecção é possível observar redução da carga microbiana resultando em indicadores de diversidade menores após a limpeza, pois dessa forma é reduzido a quantidade de fungos comuns e zerado a quantidade de fungos raros, levando a uma menor diversidade. O MPA apresentar novos gêneros fúngicos após a limpeza, é o que acarretou resultado divergente e isso pode ser visto com preocupação uma vez que esses fungos podem estar sendo carregados de outros ambientes e outros objetos. Ao aplicar o teste de Wilcoxon nos dados (tabela 3), é possível observar que não há diferença estatística antes e após o procedimento operacional padrão de limpeza no CC ($p > 0,05$), na MPA ($p > 0,05$) ou de forma geral nos ambientes ($p > 0,05$). Logo, com o aumento de diversidade na MPA e falta de diferença estatística antes e após a limpeza é possível afirmar que a limpeza nos ambientes, não está sendo eficaz. Por serem ambientes onde diversas técnicas cirúrgicas invasivas são realizadas e onde se encontram animais com sistema imunológico comprometido pelas doenças prévias, é essencial que seja revisto técnicas de diluição dos desinfetantes, métodos de limpeza e capacitação para toda a equipe da clínica veterinária universitária.

Número de colônias	AL*	PL**	p ^a
	Mediana (min-máx)	Mediana (min-máx)	
Total	4,5 (0 – 30)	1,0 (0 – 20)	0,09
CC***	2,5 (0 – 15)	0 (0 – 4)	0,06
MPA****	9,0 (0 – 30)	7 (1 – 20)	0,46

^a: Valor de p para o teste de Wilcoxon. *: Antes da limpeza. **: Após a limpeza. ***: Centro Cirúrgico. ****: Sala de medicação pré anestésica

Quando observado o crescimento por objetos, em relação aos coletados na MPA, tanto a almotolia quanto a maçaneta não apresentaram crescimento fúngico em ambas as coletas e o armário foi o local com maior crescimento (50 UFC), conforme apresentado na tabela 4. A justificativa disto, pode estar na movimentação exacerbada realizada no local por todos da equipe cirúrgica, onde são guardados variados produtos médico hospitalares veterinários reutilizáveis que podem ser fatores para contaminação cruzada (Costa *et al.*, 2013; Lagowski *et al.*, 2019).

No armário de apoio da MPA, antes da limpeza foram isoladas 30 UFC com quatro morfotipos e três gêneros diferentes, dos quais os mais prevalentes foram *Trichophyton* 15 UFC (50%) e *Microsporum* 14 UFC (46,6%). Após a limpeza foram isolados 20 UFC com três morfotipos e três gêneros, os mais prevalentes foram *Trichophyton* 12 UFC (60%) e *Aspergillus* 7 UFC (35%).

O armário corresponde a 57% dos isolados na MPA, seguidos pela mesa de apoio do CC com 19 UFC (21,6%), máquina de tosa 13 UFC (14,7%) e mesa do paciente 6 UFC (6,8%). A mesa de apoio para o CC serve de suporte para transferir materiais para o CC, onde também há bastante manipulação da equipe cirúrgica. Objetos como a máquina de tosa e a mesa do paciente, apresentaram identificação de um único gênero: *Trichophyton*, amplamente conhecido como dermatófito presente em caninos e felinos (Paryuni *et al.*, 2020).

Tabela 4 – UFC de fungos filamentosos isolados de objetos da Sala de Medicação pré-anestésica, coletadas antes e após o procedimento operacional padrão de limpeza e desinfecção de uma clínica veterinária na cidade de Araguaína – Tocantins, no período de março e maio de 2022

Gêneros	MPA*											
	Mesa Paciente		Mesa Apoio CC**		Armário		Maçaneta		Almotolia		Máquina Tosa	
	A***	P****	A	P	A	P	A	P	A	P	A	P
<i>Acremonium</i>	-#	-	0	2	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cladosporium</i>	-	-	3	7	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Epidermophyton</i>	-	-	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Microsporum</i>	-	-	-	-	14	7	-	-	-	-	-	-
<i>Mucor</i>	-	-	-	-	1	0	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium</i>	-	-	-	-	0	1	-	-	-	-	-	-
<i>Trichophyton</i>	5	1	3	3	15	12	-	-	-	-	12	1
TOTAL	5	1	6	13	30	20	0	0	0	0	12	1

*MPA indica a sala de medicação pré anestésica, **CC indica centro cirúrgico, ***A indica antes do procedimento de limpeza, ****P indica após o procedimento de limpeza; #- indica ausência de crescimento.

Na tabela 5 estão apresentados os resultados dos gêneros isolados por objeto no CC. Somente o foco cirúrgico não apresentou crescimento (Tabela 5), possivelmente por ser manipulado com luva estéril antes mesmo do início do procedimento cirúrgico e também devido as elevadas temperaturas que partem da iluminação de LEDs e incide sob o alumínio fazendo alcançar temperaturas acima das ideais inclusive no suporte, onde foi coletado, essas temperaturas dificultam o crescimento microbiano mesofílico (Carvalho, Spinola, Benassi, 2019).

Tabela 5 – UFC de fungos filamentosos isolados de objetos do Centro Cirúrgico, coletados antes e após o procedimento operacional padrão de limpeza e desinfecção de uma clínica veterinária na cidade de Araguaína – TO, no período de março e maio de 2022

Gêneros	CC*													
	Mesa Paciente		Baraka (Traqueia)		Armário		Porta		Almotolia		Foco cirúrgico		Balão	
	A**	P***	A	P	A	P	A	P	A	P	A	P	A	P
<i>Aspergillus</i>	2	0	-#	-	2	0	-	-	2	0	-	-	-	-
<i>Cladosporium</i>	-	-	-	-	-	-	2	0	1	0	-	-	-	-
<i>Curvularia</i>	1	0	-	-	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Fusarium</i>	-	-	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium</i>	2	0	-	-	-	-	0	2	-	-	-	-	0	1
<i>Trichophyton</i>	-	-	-	-	6	4	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL	5	0	1	0	9	4	2	2	3	0	0	0	0	1

*CC indica centro cirúrgico, **A indica antes do procedimento de limpeza; ***P indica após o procedimento de limpeza; - Indica ausência de crescimento do gênero no objeto analisado.

Antes da limpeza na maçaneta foram isoladas 2 UFC com um morfotipo de um gênero, *Cladosporium*. Após a limpeza foi isolada 1 UFC, identificada como *Penicillium* sp.. Assim como na MPA, no CC foi coletado o maior número de UFCs no armário com 9 UFC pertencentes a três gêneros diferentes, sendo os mais prevalentes *Trichophyton* 6 UFC (66,7%) e *Aspergillus* 2 UFC (22,2%). Após a limpeza foram isolados 4 UFC, todos com um único morfotipo do gênero *Trichophyton*. Também apresentaram um elevado número de isolados, a mesa do paciente com 5 UFC (18,5%), porta 4 UFC (15%) e a almotolia 3 UFC (11%), todos locais onde há bastante manipulação da equipe cirúrgica, o que pode carrear fungos de um ambiente para o outro, levando a contaminação cruzada.

No CC também foram realizadas coletas na traqueia de silicone, que apresentou somente apresentou 1 UFC na coleta realizada antes do procedimento de limpeza, a qual foi identificada como *Fusarium* sp. Da mesma forma, foi realizada coleta na superfície externa do balão respiratório de silicone que apresentou 1 UFC na coleta realizada após o procedimento de limpeza, a qual foi identificada como *Penicillium* spp.. Uma possível explicação para crescimento fúngico após a limpeza é primeiramente pautada no fato que *Penicillium* spp. ser um fungo fácil de se propagar no ambiente por possuir esporos leves e aerodinâmicos que facilitam sua suspensão e seu deslocamento por correntes de ar (Pires *et al.*, 2021).

Um fator que pode contribuir para a propagação desses fungos anemófilos como *Penicillium* spp. e *Aspergillus* spp., é o fato do balão de silicone, almotolia e traqueia serem higienizados pelos profissionais veterinários, estagiários e assistentes. Por ausência de capacitação adequada para esses profissionais, uma limpeza realizada de forma sem cautela, pode proporcionar contaminação cruzada entre os ambientes, entre objetos, pacientes e até mesmo entre os profissionais.

Outra análise essencial para observar, é a forma como é realizada a limpeza dos objetos na clínica veterinária, com álcool 70%, cloreto de Benzalcônio e amônia quaternária. O álcool 70% possui atividades microbicidas amplamente conhecidas e diversos estudos demonstram que embora o álcool não elimine por completo os microrganismos, mas realiza uma redução satisfatória (Bernardi, Costa, 2017). A amônia quaternária, apresenta ação efetiva quando em permanência por no mínimo 10 minutos com os microrganismos a temperatura ambiente, em superfícies inanimadas, duras e não porosas. Tem um alto poder bacteriostático e fungicida, intensificado pelo seu poder residual longo (Sobestiansky, 2002), é amplamente usado em clínicas e hospitais veterinários, apresentando bons resultados na limpeza e desinfecção de superfícies (Santos *et al.*, 2007).

Segundo Souza *et al.* (2021), podem contribuir para a falta de qualidade da desinfecção e limpeza de superfícies hospitalares fatores como desmotivação, falta de equipamentos ou equipamentos danificados ou inapropriados, falta de saneantes, falta de Equipamento de Proteção Individual (EPI) e medo de exposição a materiais biológicos. Atualmente o único manual sobre a temática de âmbito nacional, elaborado pela Agência Nacional de vigilância sanitária é o “Manual de Limpeza e Desinfecção de Superfícies”, todavia, esse mesmo é voltado para serviços de saúde em humanos (Brasil, 2012). Dessa forma, é de suma importância que o Ministério da Pecuária, Agricultura e abastecimento desenvolva políticas públicas e protocolos para desinfecção de ambientes veterinário.

Como é possível observar na tabela 1, os fungos com maior número de morfotipos encontrados foram *Trichophyton*, *Aspergillus* e *Penicillium*. Ao observar a redução da carga fúngica na MPA de 53 UFCs antes da limpeza para 35 UFCs após a limpeza e observando também a redução no CC, de 21 UFCs antes da limpeza para 6 UFCs após a limpeza é possível aferir que há redução no número de UFC nos ambientes, todavia, estatisticamente a limpeza do local não está sendo eficiente ($p > 0,05$).

CONCLUSÃO

Através de isolados dos objetos da clínica veterinária universitária observa-se que o procedimento de desinfecção não está sendo eficiente ($p > 0,05$) para eliminação de fungos filamentosos, apesar de ser observável uma redução no número absoluto de UFC. A quantidade de

UFC e gêneros isolados na MPA e CC deve ser vista com certa preocupação, uma vez que esses ambientes são críticos para saúde animal e também para os funcionários presentes no local em estudo.

Compete a equipe de limpeza e aos gestores locais desenvolverem plano de ação para inibir o crescimento fúngico, com padronização de diluição dos desinfetantes, capacitações periódicas acerca da limpeza de superfícies e monitoramentos microbiológicos constantes. Também é importante ocorrer a conscientização sobre práticas assépticas e uso adequados de equipamentos para proteção individual (EPI), tanto para equipe de limpeza, quanto para médicos veterinários, estagiários e assistentes que são responsáveis pela higienização dos materiais médico-hospitalares. Utilizar panos descartáveis, escolher cuidadosamente desinfetantes eficazes e supervisionar regularmente essas práticas são aspectos fundamentais para garantir a segurança e saúde tanto dos animais quanto dos profissionais envolvidos em procedimentos cirúrgicos. Além disso, o monitoramento frequente de microrganismos no ambiente é essencial como abordagem preventiva para reduzir os riscos relacionados à contaminação em ambientes clínicos, proporcionando um ambiente cirúrgico seguro e livre de possíveis ameaças à saúde.

Agradecimentos – Esse estudo teve apoio da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Norte do Tocantins (EMVZ-UFNT), da gestão da Clínica Veterinária (HVET) constante nesse Universidade, além de financiamento pelo programa PROCAD Amazônia e Projeto Alvorecer-UFNT.

Declaração de conflito de interesses – Os autores declaram que não existem conflitos de interesses.

REFERÊNCIAS

- BERNARDI, G. A., COSTA, T. C. M., CENTRO UNIVERSITÁRIO, A. D., BRASIL, C. Avaliação da atividade antimicrobiana do álcool 70% em superfícies contaminadas. **Journal of infection control**. 2017.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Segurança do paciente em serviços de saúde: limpeza e desinfecção de superfícies/**Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. – Brasília: Anvisa, 2012
- BONACCORSI, T.M. Dermatofitoses em felinos e o carreamento assintomático da doença: revisão integrativa. 2019.
- CARMO, E.S., BELÉM, L.F., CATÃO, R.M., LIMA, E.O., SILVEIRA, I.L. & SOARES, L.H.M. Microbiota fúngica presente em diversos setores de um hospital público em Campina Grande – PB. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 39, n. 3, p. 213-216. 2017.
- CARVALHO, J., SPINOLA, G. M. M., BENASSI, V. Análise da temperatura de crescimento de fungos filamentosos coletados em distintas áreas de minas gerais. 2019.
- COSTA, F.V., FARIAS, M.R., BIER, D., DE ANDRADE, C.P., DE CASTRO, L.A., DA SILVA, S.C., FERREIRO, L. Genetic variability in *Microsporum canis* isolated from cats, dogs and humans in Brazil. **Mycoses**, v. 56 n. 5, p. 582-588. 2013.
- CORDEIRO, P. A., SIQUEIRA, G. K. R., DA SILVA, W. M. T., DE SOUZA VIEIRA, P. D. Fungos anemófilos associados ao ambiente das enfermarias em unidade hospitalar do Cabo de Santo Agostinho-PE, Brasil. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 16, p. 1-8. 2021.
- FONSECA, L. C., AZEVEDO, G. H. M., SANTANA, R. M., C., BAPTISTA, A. B. Diversidade bacteriana em superfícies de restaurantes de Palmas-TO. **Revista de Patologia do Tocantins**, v. 6 n. 2, p. 10-14. 2019.
- GONÇALVES, L. R., LUZ, P. C. T., DE OLIVEIRA AZEVEDO, A. L. Avaliação microbiológica de incubadoras: antes e depois a limpeza em uma maternidade de Teresina-PI. **Revista Interdisciplinar**, v. 9 n. 2, p. 57-64. 2016
- INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Banco de Dados Meteorológicos – BDMEP. [Correspondência]. Destinatário: João Paulo Araújo Ferreira. Araguaína, 2023. 1 E-mail
- HAMMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Pacote de software de estatística paleontológica para educação e análise de dados. **Paleontol Electron**, v. 4, p. 1-9, 2001.
- HOFLING, J. F., GONÇALVES, R. B. Isolamento e Caracterização de Fungos Patogênicos de Importância Médica. **Paco Editorial**. 2016.
- ŁAGOWSKI, D., GNAT, S., NOWAKIEWICZ, A., OSIŃSKA, M., ZIĘBA, P. The prevalence of symptomatic dermatophytoses in dogs and cats and the pathomechanism of dermatophyte infections. **Postępy Mikrobiologii-Advancements of Microbiology**, v. 58 n. 2, p. 165-176. 2019.
- LOBATO R. C., VARGAS V. D. S., SILVEIRA É. D. S. Sazonalidade e prevalência de fungos anemófilos em ambiente hospitalar no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. 2009.

- LOURENZO, M. A. R., DE LIMA, K. C., ALMEIDA, N. B., AGUIAR, A. A. Contaminação em superfícies de UTI após limpeza/desinfecção no Brasil: uma revisão integrativa. **Revista de Patologia do Tocantins**, v. 7 n.3, p. 31-36. 2020.
- MENDOZA, M. H., MENDOZA, J. H., ALONSO J. M., REY J. M., SANCHEZ, S. MARTIN, R., GARCIA-SANCHEZ, A. A zoonotic ringworm outbreak caused by a dysgonic strain of *Microsporum canis* from stray cats. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 27 n.2, p. 62-65. 2010.
- MEZZARI, A., PERIN, C., SANTOS JÚNIOR, S. A., BERND, L. A. G. GESU, G. Os fungos anemófilos e sensibilização em indivíduos atópicos em Porto Alegre, RS. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 49, n. 3, p. 270-273. 2003.
- MORAIS, T. G. P., PEREIRA, J. M. P., CUNHA, C. R. M., SILVA, L. S. Morfologia de fungos isolados de ambiente hospitalar e avaliação de conhecimento dos visitantes sobre infecção hospitalar. **Revista da Universidade Estadual de Goiás – UEG**. V. 4, p. 31–36, 2016.
- OLIVEIRA, H. M., SANTOS, C., PATERSON, R. R. M., GUSMÃO, N. B., LIMA, N. Fungi from a groundwater-fed drinking water supply system in Brazil. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 13 n. 3, p. 304. 2016.
- PARYUNI, A. D., INDARJULIANTO, S., WIDYARINI, S. Dermatophytosis in companion animals: A review. **Veterinary world**, v. 13 n.6, p. 1174. 2020.
- PAULA, Y. H., MAGALHÃES, H. I. R., PEREIRA, J. B. Avaliação microbiológica da sala cirúrgica de pequenos animais do Centro Clínico Veterinário (CCV) do Centro Universitário de Patos de Minas-UNIPAM. **Perquirere**, v. 14 n. 02, p. 43-58. 2017.
- PIRES, W. A. M. Perfil populacional de fungos anemófilos em hospitais brasileiros: uma revisão integrativa. 2021.
- RIDDELL, R. W. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. **Mycologia**, v. 42, n. 2, p. 265-270, 1950.
- SALEEM, S. S., ALNAKSHABANDIE, W. M., SAADULLAH, A. A. Fungal contamination of Azadi Teaching Hospital and Hevi Paediatric Hospital Environments, Duhok, Iraq. **Tikrit Journal of Pure Science**, v. 22 n.6, p. 39-45. 2018.
- SANTOS, L. R., NETO, J. F. S., RIZZO, N. N., BASTIANNI, P. V., RODRIGUES, L. B., FERREIRA, D., BRUN, M. V. Avaliação dos procedimentos de limpeza, desinfecção e biossegurança no Hospital Veterinário da Universidade de Passo Fundo (HV-UPF). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35 n. 3, p. 357-362. 2007.
- SHANNON, C. A mathematical theory of communication. **The Bell System Technical Journal**, v. 27, p. 379–423, 623–656. 1948
- SILVA, L. B.; POZZER, B. S.; ECKER, C. C.; XAVIER, M. O. Monitoramento da microbiota fúngica anemófila em unidade de terapia intensiva. **Rev. Saúde e biologia**, v. 11, n. 3, p. 27–34, 2017.
- SILVA, V. M., DE SOUZA, J. L. T., DA CRUZ, G. P. S., DE SOUSA, A. C. M., DE ARAÚJO SILVA, P. G., DE LACERDA, L. B., MAIA, M. F. Ocorrência de fungos anemófilos nas

instalações do Hospital Veterinário do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba. **Scientific Electronic Archives**, v. 16, n. 9. 2023.

SIMPSON, E. Measurement of diversity. **Nature**, v. 163, p. 688. 1949

SOBESTIANSKY, J. Sistema intensivo de produção de suínos: programa de biossegurança (No. 636.4 SOBs). 2002.

SOBRAL, L. V. D. Fungos anemófilos de ambiente hospitalar: perfil de suscetibilidade antifúngica e alergenicidade. 2023.

SUBELJ, M., MARINKO, J. S., UCAKAR, V. An outbreak of *Microsporum canis* in two elementary schools in a rural area around the capital city of Slovenia, 2012. **Epidemiol Infect.** 142(12):2662-2666. 2014.

3 CAPÍTULO III – ARTIGO 2

Estudo comparativo de diferentes meios de cultura para isolamento de fungos de ambiente hospitalar

RESUMO

Fungos são microrganismos que crescem nos mais diferentes ambientes, porém vários fatores interferem no seu desenvolvimento, como temperatura do local, umidade, disponibilidade de oxigênio, atmosfera de armazenamento, agentes competidores e os nutrientes disponíveis. No laboratório, os nutrientes são fornecidos pelos meios de cultura e existem diferentes meios utilizados para o cultivo do fungo, a depender da finalidade do estudo a ser realizado. Dessa forma, este estudo avaliou dois meios de cultura, ágar batata dextrose (BDA) e sabouraud (SDA), para isolamento de fungos em ambientes de uma clínica veterinária universitária na região tropical. As amostras foram coletadas de objetos pertencentes a sala de medicação pré-anestésica (MPA) e centro cirúrgico (CC), por meio de swab estéril e repicadas em placas de Petri contendo SDA e BDA, ambas suplementadas com cloranfenicol, para verificar o crescimento fúngico em ambos os meios de cultura. Após o isolamento e purificação dos fungos, foi realizado o microcultivo para identificar o gênero. Foram isoladas 168 Unidades Formadoras de Colônia (UFC) sendo 115 em SDA e 53 em BDA. Das 115 UFC isoladas em SDA, 88 foram encontradas na MPA e 27 no CC. Das 53 UFC isoladas em BDA, 36 foram isolados da MPA e 17 do CC. Foram identificados 10 gêneros sendo os mais prevalentes *Microsporum* (28,3%), *Aspergillus* (26,4%) e *Penicillium* (18,9%). Foi observado diferença significativa no crescimento de *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. e *Fusarium* spp., que demonstrou possuir maior afinidade pelo BDA, assim como *Trichophyton* spp., apresentou melhor crescimento em SDA. A investigação enfatiza a importância na escolha do meio de cultura no crescimento fúngico em laboratórios de microbiologia, como também contribui para a compreensão do microbioma fúngico em ambientes veterinários.

Palavras-chave: Ágar batata dextrose, Ágar sabouraud dextrose, Hospital veterinário, Micologia.

ABSTRACT

Fungi are microorganisms that grow in the most different environments, but several factors interfere with their development, such as local temperature, humidity, oxygen availability, storage atmosphere, competing agents and available nutrients. In the laboratory, nutrients are provided by culture media and there are different media used to grow the fungus, depending on the purpose of the study to be carried out. Therefore, this study evaluated two culture media, potato dextrose agar (BDA) and sabouraud (SDA), for isolating fungi in the environments of a university veterinary clinic in the tropical region. Samples were collected from objects belonging to the pre-anesthetic medication room (MPA) and surgical center (SC), using a sterile swab and placed in Petri dishes containing SDA and BDA, both supplemented with chloramphenicol, to verify fungal growth. In both culture media. After isolation and purification of the fungi, microculture was performed to identify the genus. 168 Colony Forming Units (CFU) were isolated, 115 in SDA and 53 in BDA.

Of the 115 CFU isolated in SDA, 88 were found in MPA and 27 in CC. Of the 53 CFU isolated in PDA, 36 were isolated from MPA and 17 from CC. Ten genera were identified, the most prevalent being *Microsporum* (28.3%), *Aspergillus* (26.4%) and *Penicillium* (18.9%). A significant difference was observed in the growth of *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. And *Fusarium* spp., which demonstrated greater affinity for BDA, as well as *Trichophyton* spp., showed better growth in SDA. The investigation emphasizes the importance of choosing the culture medium in fungal growth in microbiology laboratories. The work also contributes to the understanding of the fungal microbiome in veterinary environments.

Keywords: Culture mediums. Mycology. Potato agar. Sabouraud agar.

INTRODUÇÃO

A prevalência de fungos em instituições de saúde ainda é um tema pouco debatido tanto na literatura nacional quanto internacional, mas o aumento significativo dos casos de fungemias e infecções hospitalares apresentam sérios desafios para a segurança e o bem-estar de pacientes hospitalizados (Li *et al.*, 2013). A depressão do sistema imunológico associada a infecção fúngica pode proporcionar manifestações clínicas graves, apresentando desafios significativos para o diagnóstico (Ladeia *et al.*, 2019). Portanto, é essencial uma abordagem multidisciplinar cuidadosa desses pacientes.

A escolha do meio de cultura é um importante passo no trabalho dos laboratórios de microbiologia e um bom meio deve conter todos os requisitos, nos quais os fungos podem crescer e esporular bem e rápido. O crescimento fúngico prospera em meios ricos em carboidratos e nitrogênio, particularmente na faixa de pH de 5 a 6 e em temperaturas que variam de 15 a 37°C. Os meios de cultura fúngica podem ser classificados como naturais ou sintéticos (Krupodorova *et al.*, 2021).

Os meios naturais consistem em substratos orgânicos como caules herbáceos ou lenhosos, sementes, folhas, fubá, gérmen de trigo, aveia, entre outros. Embora os meios naturais sejam relativamente fáceis de se obter, sua desvantagem reside na composição desconhecida de todos seus componentes nos ingredientes. Esses meios podem ser alterados para se tornarem semi-sintéticos. Os exemplos incluem ágar de aveia, ágar batata dextrose (BDA), ágar extrato de malte e ágar suco V-8. (Chaithra *et al.*, 2022)

Por outro lado, os meios sintéticos contêm ingredientes com composições conhecidas, permitindo a reprodução precisa com quantidades específicas de fontes de carboidratos, nitrogênio e vitaminas. Comumente usados para culturas de fungos são meios de uso geral, como o ágar sabouraud dextrose (SDA), que é nutricionalmente pobre e tem um pH ácido (5,6), consegue estimular um ótimo crescimento dos microrganismos e uma boa esporulação dos isolados, assim como o BDA (Sharma *et al.*, 2011). Outros exemplos que se enquadram nesta categoria incluem meio Czapek-Dox, meio

mínimo de glicose-asparagina e *Neurospora crassa* (Collins *et al.*, 2005). Meios seletivos, como ágar inibidor de fungos e meios de teste de dermatófitos, desempenham um papel crucial no isolamento de patógenos fúngicos como *Cryptococcus neoformans* e dermatófitos (Ahmad *et al.*, 2020).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo utilizar dois meios de cultura amplamente utilizados em laboratório, para comparar o crescimento de diferentes espécies fúngicas presentes em ambiente hospitalar veterinário.

MATERIAIS E MÉTODOS

Caracterização e local de coleta – Trata-se de um estudo experimental, descritivo de natureza transversal realizado em uma clínica veterinária universitária localizada no município de Araguaína, norte do Tocantins. Esta clínica atende a população do município oferecendo serviço de atendimento clínico, cirúrgico e realiza exames de diagnóstico por imagem e de patologia clínica.

Coleta e processamento das amostras – As amostras foram coletadas de objetos oriundos de dois ambientes da clínica veterinária universitária: Sala de Medicação Pré-anestésica (MPA) e Centro Cirúrgico (CC), no período chuvoso compreendendo os meses de março e maio de 2022 – cuja umidade relativa do ar média, apontou 84,7% e 73,2%, respectivamente (Instituto Nacional de Meteorologia, 2024). Os objetos foram selecionados estrategicamente pelo contato com profissionais, pacientes e acompanhantes. As amostras foram coletadas em um único dia, por setor, sendo coletada duas amostras de cada objeto em dois meios de cultura diferentes, SDA e BDA.

As amostras foram obtidas com swabs estéreis embebidos em solução salina 0,85% que foram friccionados na superfície do objeto e depositados em tubos de ensaio devidamente identificados, contendo o Caldo de Infusão de Cérebro e Coração (BHI) (Koneman *et al.*, 2008; Brasil, 2013a). A área coletada do objeto foi 10% do tamanho da superfície, não extrapolando os 100 cm²; nos casos em que a superfície era reduzida foi coletada amostra da totalidade da área. Foram amostrados os objetos da MPA: armário, maçaneta, máquina de tosa, mesa de apoio para o CC, mesa do paciente e almotolia; e do CC: armário, balão respiratório de silicone, traqueia, mesa do paciente, almotolia e porta. Em seguida as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Higiene e Saúde Pública da Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT) em Araguaína – TO, para serem processadas.

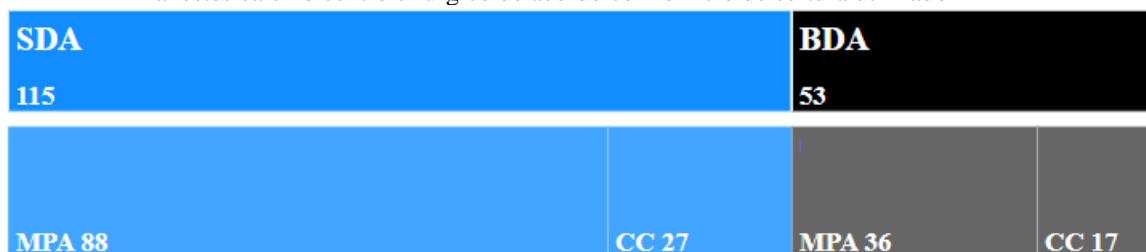
Processamento das amostras. As amostras foram cultivadas em uma placa de Petri contendo dois meios de cultura, SDA ou BDA, ambos acrescidos de 5% de cloranfenicol (0,05g/L) e foram incubadas durante 10 dias a uma temperatura de 25°C com observação diária para o crescimento de fungos filamentosos. Ao final do período de incubação foi realizada contagem das unidades formadoras de colônia (UFC).

Isolamento, identificação e análise estatística. Para o isolamento dos fungos foi realizado repique no SDA ou BDA, de cada colônia para obtenção de colônias puras, conforme meio de origem, sendo incubadas em temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ por um período de cinco a dez dias. Transcorrido esse período, foram realizadas a caracterização macroscópica (BRASIL 2013b) e os fungos foram agrupados em morfotipos. De cada objeto dos ambientes analisados, um representante a cada cinco morfotipos iguais foram submetidos a técnica de microcultivo (Riddell, 1950) para análise microscópica, com a finalidade de identificação do menor nível taxonômico do fungo por meio de comparação das estruturas visualizadas com as disponíveis na literatura (PIZZIRANI KLEINER, 1998; BRASIL, 2004; FAIA, 2011). Para análise dos dados foi empregado comparação percentual e o teste de qui-quadrado de Pearson com o intervalo de confiança de 95%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram isoladas no total 168 UFC sendo 124 UFC na MPA e 44 UFC no CC. Em SDA foram isoladas o total de 115 UFCs (68,4%) e 53 UFC (31,5%) em BDA (Figura 1). Foram identificados 10 gêneros sendo os de maior ocorrência *Trichophyton* spp. (41,1% - 69/168); *Microsporum* spp. (21,4% - 36/168), *Aspergillus* spp. (11,9% - 20/168), *Penicillium* spp.(9,5% - 16/168) e *Cladosporium* spp. (8,5% - 15/168). Dos gêneros de maior ocorrência, os dois primeiros são dermatófitos, o que era esperado pelo fato dos ambientes terem amplo contato com animais que são portadores desses fungos; e os outros três são anemófilos, gêneros que esporulam em grandes quantidades e dispersam seus esporos facilmente pelo ar, o que facilita sua propagação pelo ambiente.

Figura 1 – Derivação de um gráfico *Tree Map* com dados do isolamento de UFCs na sala de medicação pré-anestésica e no centro cirúrgico de acordo com o meio de cultura utilizado



Fonte: dados do autor, 2024.

Na MPA foram isoladas 88 (71%) em SDA pertencentes a sete distintos gêneros com maior ocorrência de *Trichophyton* spp. (59,1%) seguido de *Microsporum* spp. (23,9%); e 36 UFCs (29%) em BDA pertencentes a quatro gêneros, com maior ocorrência para *Microsporum* sp (41,7% seguido de *Aspergillus* sp. (38,4%). No CC foram isoladas 27 UFC (61,4%) em SDA pertencentes a seis

gêneros, sendo os mais prevalentes *Trichophyton* sp.(37%) e *Aspergillus* sp. (22,2%); e no BDA foram isoladas 17 UFC (38,6%) distribuídas em quatro gêneros, sendo os mais prevalentes *Penicillium* (58,8%) e *Fusarium* (23,5%) (Figura 1 e Tabela 1).

Tabela 1 - Comparação de dois meios de cultura utilizados para isolamento de fungos de objetos pertencentes a sala de medicação pré-anestésica e centro cirúrgico de uma clínica veterinária universitária, distribuídos por gênero e ambiente de origem

Gênero	Sala de Medicação Pré-anestésica		Centro Cirúrgico		Total	
	BDA	SDA	BDA	SDA	BDA	SDA
	UFC (%)	UFC (%)	UFC (%)	UFC (%)	UFC (%)	UFC (%)
<i>Acremonium</i>	0 (0)	2 (2,3)	-*	-	0	2 (1,7)
<i>Aspergillus</i>	14 (38,9)	0 (0)	0 (0)	6 (22,2)	14 (26,4)	6 (5,2)
<i>Cladosporium</i>	0 (0)	10 (11,4)	2 (11,8)	3 (11,1)	2 (3,8)	13 (11,3)
<i>Curvularia</i>	-	-	0 (0)	2 (7,4)	0	2 (1,7)
<i>Epidermophyton</i>	0 (0)	1 (1,1)	-	-	0	1 (0,9)
<i>Fusarium</i>	1 (2,8)	0 (0)	4 (23,5)	1 (3,7)	5 (9,4)	1 (0,9)
<i>Microsporium</i>	15 (41,7)	21 (23,9)	-	-	15 (28,3)	21(18,3)
<i>Mucor</i>	0 (0)	1 (1,1)	-	-	0	1 (0,9)
<i>Penicillium</i>	0 (0)	1 (1,1)	10 (58,8)	5 (18,5)	10 (18,9)	6 (5,2)
<i>Trichophyton</i>	6 (16,7)	52 (59,1)	1 (5,9)	10 (37)	7 (13,2)	62 (53,9)
Total	36 (100)	88 (100)	17 (100)	27 (100)	53 (100)	115 (100)

*- indica ausência de crescimento, no ambiente, nos dois ágares utilizados para isolamento
Fonte: dados do autor, 2024.

É importante observar que os gêneros *Acremonium*, *Curvularia*, *Epidermophyton* e *Mucor* apresentaram poucas UFC e cresceram somente em SDA. O fato desses fungos terem apresentado poucas UFC pode ser reflexo da baixa quantidade desses gêneros no ambiente ou pela competição com outros gêneros. Algumas espécies podem liberar metabólitos que inibem o crescimento de outros fungos e, portanto, aparecem em menor quantidade. O fato de crescerem apenas no SDA pode ser explicado, pois apesar dos dois meios serem considerados simples, o SDA possui elevadas concentrações de carboidratos e pH de 5 a 6, o que favorece o crescimento de diversos fungos leveduriformes e filamentosos (Arip, Wulandari et al., 2021), diferentemente do BDA que possui pH mais ácido ($3,5 \pm 0,1$) o que dificulta a recuperação de células injuriadas((Copetti et al., 2009).

Em relação ao isolamento fúngico por objeto amostrado na MPA, não houve crescimento de fungo da amostra da maçaneta, em ambos os meios de cultura utilizados. Ainda pertencente a este

ambiente, no BDA não foi isolado fungo da mesa do paciente e máquina de tosa e no SDA não houve crescimento da amostra da almotolia (tabela 2). O armário, que serve para apoiar os materiais médico hospitalares foi o local com maior contaminação, sendo isoladas 50 UFC (62,5%) com quatro gêneros diferentes e em BDA foram isolados 30 UFC (37,5%) com três gêneros diferentes.

Outro local com elevado número de isolados, foi a mesa de apoio para o centro cirúrgico, mesa esta que serve para repassar materiais médicos, da sala de medicação pré-anestésica diretamente para o CC. Nela foi isolada em SDA 19 UFC (86,4%) com quatro gêneros diferentes e em BDA 3 UFC (13,6%) de um único gênero. Como em ambas as mesas há bastante movimentação realizada pelos profissionais é compreensível possuírem os maiores índices de contaminação. Vale ressaltar, que a mesa de apoio para o centro cirúrgico é um local crítico, uma vez que diversos fungos ali presentes podem ser facilmente carregados para dentro do CC.

Tabela 2 - Crescimento de fungos nos objetos amostrados na sala de medicação pré-anestésica de uma clínica veterinária universitária do norte do Tocantins em ágar sabouraud e batata, no ano de 2022

Gêneros	MPA****											
	Mesa Paciente		Mesa Apoio CC***		Armário		Maçaneta		Almotolia		Máquina Tosa	
	SDA*	BDA**	SDA	BDA	SDA	BDA	SDA	BDA	SDA	BDA	SDA	BDA
<i>Acremonium</i>	-	-	2	0	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus</i>	-	-	-	-	0	14	-	-	-	-	-	-
<i>Cladosporium</i>	-	-	10	0	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Epidermophyton</i>	-	-	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Fusarium</i>	-	-	-	-	0	1	-	-	-	-	-	-
<i>Microsporum</i>	-	-	-	-	21	15	-	-	-	-	-	-
<i>Mucor</i>	-	-	-	-	1	0	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium</i>	-	-	-	-	1	0	-	-	-	-	-	-
<i>Trichophyton</i>	6	0	6	3	27	0	-	-	0	3	13	0
TOTAL	6	0	19	3	50	30	0	0	0	3	13	0

*SDA, corresponde a sabouraud dextrose ágar, **BDA, corresponde a ágar batata dextrose, ***CC, corresponde a Centro Cirúrgico e ****MPA, corresponde a sala de medicação pré anestésica.

Fonte: dados do autor, 2024.

Assim como na MPA, o armário do CC foi o local com maior crescimento fúngico com 13 UFC (52,0%) em SDA e 12 UFC (48%) em BDA. No CC não houve crescimento fúngico no foco cirúrgico em ambos os meios utilizados, fato que pode ser explicado por ser um local manipulado com luva estéril e principalmente pela temperatura elevada por conta das luzes presentes no objeto. Outra observação é que não houve crescimento no BDA das amostras oriundas da mesa do paciente, almotolia e balão respiratório. (tabela 3).

Tabela 3 - Crescimento de fungos nos objetos amostrados no centro cirúrgico de uma clínica veterinária universitária do norte do Tocantins em ágar sabouraud e batata, no ano de 2022

Gêneros	CC***													
	Mesa Paciente		Traqueia		Armário		Porta		Almotolia		Foco		Balão	
	SDA*	BDA**	SDA	BDA	SDA	BDA	SDA	BDA	SDA	BDA	SDA	BDA	SDA	BDA
<i>Aspergillus</i>	2	0	-#	-	2	0	-	-	2	0	-	-	-	-
<i>Cladosporium</i>	-	-	-	-	0	2	2	0	1	0	-	-	-	-
<i>Curvularia</i>	1	0	-	-	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Fusarium</i>	-	-	1	0	-	-	0	4	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium</i>	2	0	-	-	0	10	2	0	-	-	-	-	1	0
<i>Trichophyton</i>	-	-	0	1	10	0	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL	5	0	1	1	13	12	4	4	3	0	0	0	1	0

*SDA, corresponde ao meio sabouraud; **BDA, corresponde ao meio batata dextrose, ***CC, corresponde a centro cirúrgico# - indica ausência de crescimento do gênero no objeto amostrado

Dos gêneros isolados, independente do objeto e do ambiente, *Acremonium*, *Curvulária*, *Epidermophyton* e *Mucor* foram isolados apenas em SDA, uma vez que este é um meio rico em peptona, nitrogênio e carbono o que facilita o crescimento desses fungos (Kumar e Bhadauria, 2017).

Na tabela 4 é apresentada a quantidade geral de UFCs por meio de cultura isolado, independente do objeto amostrado. A pesquisa apontou que os gêneros *Aspergillus* ($p < 0,001$), *Fusarium* e *Penicillium* (ambos com $p < 0,005$) apresentam melhor crescimento em BDA, enquanto *Trichophyton* spp. tem maior afinidade pelo SDA. Isso ocorre porque é esperado que dermatófitos tenham melhor crescimento em SDA (Ahmad *et al.*, 2020; Samuel, 2015), uma vez que esses meios possuem uma ampla disponibilidade de nitrogênio, peptona e carbono (Kumar e Bhadauria, 2017) e esse meio fornece uma fonte nutritiva de aminoácidos e compostos nitrogenados para os fungos dermatófitos (Rajalekshmi *et al.*, 2020). Meios como BDA levam ao desenvolvimento de outros fungos, menos seletivos, que por sua vez podem inibir o desenvolvimento de dermatófitos, os quais geralmente iniciam seu desenvolvimento a partir do 10º dia de cultivo em condições ideais (Savinov *et al.*, 2019).

O SDA e BDA são meios de referência em laboratórios de microbiologia, quando se fala sobre cultura fúngica. Apesar disso, foi observado no presente estudo em números absolutos um maior crescimento fúngico em SDA quando comparado com BDA. Apesar de ambos propiciarem o crescimento microbiano, o BDA pode ter um desempenho desfavorável com determinadas espécies fúngicas. Estudos como o de Sharma *et al.* (2011) evidenciaram que entre diversos meios de cultura, como SDA, BDA, ágar fubá, ágar chocolate e ágar manitol salgado, os que apresentaram melhor desempenho para crescimento de dermatófitos foram, em respectiva ordem, o SDA e o BDA. Ao

analisar os resultados desse trabalho, também é possível inferir que há uma preferência de espécies como *Trichophyton* pelo SDA ($p < 0,05$). Tal correlação não é possível afirmar de forma estatística para outro dermatófito, como o *Microsporum* spp., todavia, em ambos os ambientes houve maior crescimento de *Microsporum* spp. em ágar SDA, quando comparado com BDA.

Tabela 4 – Análise estatística comparativa qualitativa do crescimento fúngico em ágar sabouraud e ágar batata dextrose, amostras coletadas em objetos da sala de medicação pré-anestésica de uma clínica veterinária universitária no município de Araguaína - Tocantins, no ano de 2022

Gêneros		Meios de cultura		Total	P Valor [#]
		SDA*	BDA**		
<i>Acremonium</i> spp.	Sim	2	0	168	0,334
	Não	113	53		
<i>Aspergillus</i> spp.	Sim	6	14	168	<0,001
	Não	109	39		
<i>Cladosporium</i> spp.	Sim	13	2	168	0,112
	Não	102	51		
<i>Curvulária</i> spp.	Sim	2	0	168	0,334
	Não	113	53		
<i>Epidermophyton</i> spp.	Sim	1	0	168	0,496
	Não	114	53		
<i>Fusarium</i> spp.	Sim	1	5	168	0,005
	Não	114	48		
<i>Microsporum</i> spp.	Sim	21	15	168	0,140
	Não	94	38		
<i>Mucor</i> spp.	Sim	1	0	168	0,496
	Não	114	53		
<i>Penicillium</i> spp.	Sim	6	10	168	0,005
	Não	109	43		
<i>Trichophyton</i> spp.	Sim	62	7	168	<0,001
	Não	53	46		

*SDA, corresponde a Sabourad dextrose ágar, **BDA, corresponde a ágar batata dextrose, #P valor, corresponde ao P valor estatístico realizando o teste qui-quadrado de Pearson

Fonte: dados do autor, 2024.

A partir da tabela 4, também é possível observar que o gênero *Fusarium* possui maior facilidade de desenvolver suas colônias em BDA do que em SDA. Rivamannan *et al.* ao observarem

variados gêneros fúngicos em diversos meios de cultura, constataram que a média de crescimento do gênero *Fusarium* é cerca de três vezes maior do que outros fungos, portanto, esse gênero pode ter sido inibido seu crescimento por outros fungos presentes de crescimento mais rápido. Acredita-se que o pH ácido do BDA (3,5) possa ser um fator que dificulte o crescimento de diversas espécies mais sensíveis a acidez do meio, causando assim uma menor competição pelos nutrientes com outros fungos mais resistentes a variações de pH, como é o caso dos anemófilos (Kocić-Tanackov *et al.*, 2017).

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos nas análises microbiológicas realizadas na MPA e CC, observou-se padrões distintos de crescimento fúngico em diferentes meios de cultura, em que o BDA favoreceu o maior desenvolvimento de fungos anemófilos (*Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. e *Fusarium* spp. ($p < 0,05$), enquanto o SDA promoveu o crescimento expressivo de *Trichophyton*, um representante dos dermatófitos.

Esses resultados ressaltam a importância da escolha criteriosa de meios de cultura adequados para a detecção específica de diferentes gêneros fúngicos em laboratórios de microbiologia. Todavia, são essenciais maiores estudos para aprofundar em quais meios de cultura podem facilitar o isolamento, crescimento e esporulação de fungos, em especiais, dermatófitos e anemófilos, assim como também a adição de suplementos nos meios.

REFERÊNCIAS

AHMAD, M. R., JAVED, I., MUSHTAQ, S., HAFEEZ, R., CHEEMA, K. H. Evaluation of Dermatophyte Test Medium and Sabouraud Dextrose Agar for Isolation of Dermatophyte Species. **Biomedica**, v. 36, p. 4. 2020.

ARIP, A. G., WULANDARI, A. The use of coconut water (*cocos nucifera* L.) as alternative media to substitute Sabouraud Dextrose Agar (SDA) for the growth of *aspergillus flavus*. In IOP Conference Series: **Earth and Environmental Science**. V. 819, n. 1, p. 012061. 2021.

AQUINO, V. R., VERÇOSA, E. B., FALHAUBER, G., LUNARDI, L. W., SILLA, L., PASQUALOTTO, A. C. Distribution of filamentous fungi causing invasive fungal disease at the Haematological Unit, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 14 n. 3, p.277-280. 2010.

CHAITHRA, M., PANKAJA, N. S. Comparative Studies of Cultural Characteristics of Rhizospheric and Non-rhizospheric *Trichoderma* spp. On Different Cultural Media. **Research Square**. 2022.

- COLLINS, M. M., NAIR, S. B., DER-HAROUTIAN, V., CLOSE, D., REES, G. L., GROVE, D. I., & WORMALD, P. J. Effect of using multiple culture media for the diagnosis of noninvasive fungal sinusitis. **American journal of rhinology**, 19(1), 41-45. 2005.
- COPETTI, M.V.; SANTURIO, J.M.; CAVALHEIRO, A.S.; ALVES, S.H.; FERREIRO, L. Comparison of different culture media for mycological evaluation of commercial pet food. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n.4, p. 329-335. 2009.
- FAIRS, A. AGBETILE, J., HARGADON, B., BOURNE, M., MONTEIRO, W. R., BRIGHTLING, C. E., PASHLEY, C. H. IgE sensitization to *Aspergillus fumigatus* associated with reduced lung function in asthma. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 182 n.11 p.1362-1368. 2010.
- GRAVA, S., LOPES, F. A. D., CAVALLAZZI, R. S., GRASSI, M. F. N. N., SVIDZINSKI, T. I. E. A rare case of hemorrhagic pneumonia due to *Cladosporium cladosporioides*. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, [S.L.], v. 42, n. 5, p. 392-394. 2016.
- KOČIĆ-TANACKOV, S., DIMIĆ, G., MOJOVIĆ, L., GVOZDANOVIĆ-VARGA, J., DJUKIĆ-VUKOVIĆ, A., TOMOVIĆ, V., PEJIN, J. Antifungal activity of the onion (*Allium cepa* L.) essential oil against *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species isolated from food. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41 n. 4, p. 13050. 2017.
- KONTOYIANNIS D. P.; BODEY G. P. Invasive aspergillosis in 2002: an update. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**. v. 21 p. 11-72. 2002.
- KRUPODOROVA, T. A., BARSHTEYN, V., SEKAN, A. S. Review of the basic cultivation conditions influence on the growth of basidiomycetes. **Curr. Res. Environ. Appl. Mycol.(J. Fungal Biol.)**, v. 11, p. 494-531. 2021.
- KUMAR, S., BHADAURIA, S. Effect of various culture media on mycelium growth and sporulation of dermatophytes isolated from the patients of SMS Hospital, Jaipur, Rajasthan. **Ind. J. Pharm. Bio. Sci**, v. 8 n. 1, p. 106-109. 2017.
- LADEIA, D. N. et al. Fisiopatologia da pneumocistose em pacientes HIV positivo: revisão narrativa. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 12, n. 10, p. e3924-e3924, 2020.
- RAJALEKSHMI, S., BENI, P. B., & GOPIKRISHNA, S. Antifungal activity of *Ventilago maderspatana* on *Trichophyton rubrum*-An in vitro study. **Journal of Ayurveda and Integrated Medical Sciences**, v. 5 n. 05, p. 179-185. 2020.
- RIVAMANNAN, N., ARULANANTHAM, R., PATHMANATHAN, S., NIRANJAN, K. Alternative culture media for fungal growth using different formulation of protein sources. **Annals of Biological Research**, v. 5 n. 1, p. 36-39. 2014.
- SAMUEL, T. Growth studies of some dermatophytes on six growth media. **Journal of Medicine, Science and Technology**, v. 3 n. 2, p. 44-51. 2015.
- SAVINOV, V. A., OVCHINNIKOV, R. S., KAPUSTIN, A. V., LAISHEVTCEV, A. I., GULYKIN, A. M. Development of a differential diagnostic nutrient medium for the express diagnosis of animal dermatophytosis. **In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 315, n. 2, p. 022071. 2019.
- SHARMA, M., SHARMA, M., SHRI, R., NAGAR, N. A. V. Influence of culture media on mycelial growth and sporulation of some soil dermatophytes compared to their clinical isolates. **Journal of Microbiology and Antimicrobials**, v. 3 n.8, p. 196-200. 2011.

VERWEIJ, P. E., ZHANG, J., DEBETS, A. J., MEIS, J. F., VAN DE VEERDONK, F. L., SCHOUSTRAS, S. E., MELCHERS, W. J. In-host adaptation and acquired triazole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a dilemma for clinical management. **The Lancet Infectious Diseases**, [S.L.], v. 16, n. 11, p. 251-260. 2016.

4 CAPÍTULO IV – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pacientes submetidos a tratamentos cirúrgicos podem ter sérias consequências para a saúde se houver contaminação fúngica no ambiente. Estes fungos têm o potencial de aumentar o risco de infecções pós-operatórias, o que pode prejudicar o sucesso das cirurgias realizadas. Além disso, esses fungos, mesmo que não sejam patogênicos, podem em organismos imunossuprimidos causar infecção, colocando em risco a saúde dos trabalhadores que laboram no local, dos tutores dos animais e dos próprios animais que são atendidos na instituição.

A higienização inadequada das ferramentas, o ambiente não controlado e as superfícies que estimulam o crescimento de fungos são algumas das causas da contaminação por fungos nas salas cirúrgicas. A contaminação de superfícies em ambientes hospitalares representa uma preocupação constante devido ao potencial de disseminação de patógenos. Superfícies como mesas, maçanetas e equipamentos médicos podem abrigar além de fungos, outros microrganismos nocivos, contribuindo para infecções hospitalares. A implementação de protocolos eficazes de limpeza e desinfecção é fundamental para reduzir o risco de contaminação. A utilização de agentes antimicrobianos apropriados e a adoção de práticas de higiene rigorosas são essenciais para manter um ambiente hospitalar seguro e minimizar os riscos associados à contaminação de superfícies.

A higienização adequada de ambientes hospitalares com produtos e diluições apropriadas é uma prática essencial para garantir a segurança dos pacientes e a eficácia dos cuidados médicos. A escolha de produtos de limpeza com propriedades antimicrobianas adequadas e a correta diluição desses agentes são passos cruciais para eliminar patógenos e prevenir a propagação de infecções hospitalares. Além disso, a capacitação adequada de equipes de limpeza e a implementação de protocolos de limpeza regulares são fundamentais para manter um ambiente hospitalar livre de contaminação. A higienização adequada não apenas protege os pacientes, mas também contribui para a eficiência operacional e a reputação positiva da instituição de saúde. É importante também que a equipe de profissionais veterinários esteja sempre vigilante a limpeza de equipamentos e objetos de uso profissional, uma vez que compete a eles a execução dessa higienização.

Em especial, a proliferação de fungos dermatófitos em ambientes veterinários apresenta dificuldades adicionais, uma vez que estes fungos podem afetar tanto os profissionais de saúde animal como os animais. Os fungos dermatófitos, responsáveis por infecções cutâneas, podem se espalhar facilmente em clínicas veterinárias, especialmente em instalações com múltiplos animais. A prevenção e controle dessas infecções requerem medidas como desinfecção regular de instalações, isolamento de animais afetados e a implementação de protocolos de higiene rigorosos para minimizar o risco de propagação.

Por meio desse estudo também foi possível observar que a escolha do meio de cultura para o crescimento fúngico desempenha um papel crucial em estudos microbiológicos. O meio de cultura BDA e o meio SDA são amplamente utilizados para esse fim, mas diferem em composição e finalidade. O meio BDA é um meio mais ácido, já o meio SDA é um meio mais rico em carboidratos. Essas diferenças afetam o tipo de fungos que podem se desenvolver em cada meio. O BDA favorece o crescimento de fungos mais resistentes, enquanto o SDA é eficaz para fungos mais exigentes. A escolha do meio de cultura é essencial para estudos específicos, pois influencia diretamente nos resultados obtidos em laboratório.