

Ocorrência de fungos filamentosos de importância médica em água de bebedouros

Filamentous fungi of medical importance in drinking water

RIALA6/1332

André Ferraz Goiana LEAL*, Danielle Patrícia Cerqueira MACÊDO, Cristina Maria de Souza-MOTTA, Maria José dos Santos FERNANDES, Oliane Maria Correia MAGALHÃES, Rejane Pereira NEVES

Endereço para correspondência: *Departamento de Micologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rêgo, 1235, CEP 50670-901, Recife/PE, Brasil. E-mail: andreferrazleal@yahoo.com.br

Recebido: 03.03.2010 – Aceito para publicação: 02.12.2010

RESUMO

No presente trabalho foi investigada a ocorrência de fungos de importância médica na água, torneira e pia dos bebedouros do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil. De cada bebedouro foram coletados 100 mL de água, e das superfícies da torneira e pia as amostras foram obtidas com swab. As amostras foram semeadas em meio ágar *Sabouraud* adicionado de 50mg/L de cloranfenicol, em placas de Petri. Das amostras de água, 10 culturas de fungos filamentosos foram isoladas e estas foram identificadas como *Aspergillus flavus* (5), *A. niger* (3) e *Cladosporium cladosporioides* (2). Das torneiras foram obtidos 21 isolados de fungos filamentosos e 164 das amostras das pias. O número de unidades formadoras de colônias (UFCs) (48h) variou de 12 a 56 em amostras de água, de 115 a 228 em amostras coletadas das torneiras e de 204 a 690 das pias. A presença de fungos com capacidade de produzir micotoxinas foi detectada nas amostras de água, bem como das torneiras. Com a finalidade de preservar a saúde dos consumidores, o monitoramento e a manutenção de equipamentos de purificação da água são práticas essenciais para garantir a qualidade microbiana e química da água.

Palavras-chave. fungos filamentosos, água, bebedouros, qualidade micológica da água, micotoxinas.

ABSTRACT

This study aimed to assess the occurrence of fungi in water sample, tap and sink from drinking fountains at the university center, Recife-PE, Brazil. From each fountain, 100mL of water were collected, and the samples from the tap and sink surfaces were obtained by using swabs. The samples were cultivated on Sabouraud agar medium containing 50mg/L of chloramphenicol in Petri dishes. Of water samples, 10 isolates of filamentous fungi were found and identified as *Aspergillus flavus* (5), *A. niger* (3) and *Cladosporium cladosporioides* (2). Twenty-one strains of filamentous fungi were isolated from tap samples and 164 from sink samples. The number of colony forming units (CFU) (48h) ranged from 12 to 56 in water samples, from 115 to 228 in samples collected from taps, and 204 to 690 in sink samples. Fungi capable of producing mycotoxins were detected in both water and taps samples. Monitoring the microbial and chemical quality of water and the maintenance of water purification equipment are crucial to guarantee the consumers safety.

Key-words. filamentous fungi, water, drinking fountain, microbial water quality, mycotoxins.

INTRODUÇÃO

A ocorrência de fungos filamentosos em água tratada tem sido relatada por vários pesquisadores em todo mundo. A frequência de isolamento desses micro-organismos apresenta-se bastante variável sendo detectados entre 7,5% a 89% das amostras de água analisadas¹.

Existem poucas orientações quanto ao que é considerado como níveis aceitáveis de fungos na água tratada. De acordo com os regulamentos de controle de qualidade da água da Suécia, a água é considerada imprópria para o consumo humano quando há formação, em meio de cultura, de 100 unidades formadoras de colônia (UFC) por 100 mL². No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), não inclui a análise micológica da água como um parâmetro de qualidade³.

Este trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência de fungos na água, torneira e pia dos bebedouros do Centro de Ciências Biológicas (CCB) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

O isolamento de fungos foi baseado no método de Göttlich et al⁴ modificado. De cada bebedouro foram coletados 100 mL de água em frascos de vidro com tampa esmerilhada, previamente esterilizada. Na superfície da torneira e pia foram utilizados *swabs* esterilizados umedecidos com 2 mL de água destilada esterilizada adicionada de cloranfenicol (50mg/L) e contido em tubos de ensaio. Após a coleta, as amostras, foram transportadas em caixas isotérmicas (isopor) contendo cubos de gelo para o Departamento de Micologia da UFPE.

Dos 100 mL de água, alíquotas de 2 mL foram semeadas em meio ágar Sabouraud adicionado de 50mg/L de cloranfenicol, contido em placas de Petri, totalizando 50 preparações para cada bebedouro. Para o isolamento dos fungos da torneira e pia, os *swabs* foram semeados em quadruplicata na superfície do meio ágar Sabouraud (Difco), adicionado de 50mg/L de cloranfenicol, contido em placas de Petri. As preparações, incubadas a 25°C, foram acompanhadas diariamente por até quatro semanas. Após o surgimento das colônias fúngicas (48h), estas foram quantificadas (UFC), purificadas e identificadas através das características macroscópicas e microscópicas, utilizando-se os meios ágar Sabouraud (Difco), ágar Czapeck (Difco) e Batata Dextrose Ágar (Difco)⁵. O experimento foi realizado em três repetições com a coleta de um novo material para a análise.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidas 195 culturas de fungos filamentosos pertencentes às espécies *Aspergillus aculeatus* (1), *Aspergillus flavus* (23), *Aspergillus japonicus* (12), *Aspergillus niger* (36), *Aspergillus tamaraii* (8), *Cladosporium cladosporioides* (6), *Cladosporium sphaerospermum* (12), *Cunninghamella elegans* (3), *Curvularia pallescens* (13), *Mucor racemosus* (5), *Paecilomyces variotii* (4), *Penicillium aurantiogriseum* (32), *Penicillium brevicompactum* (9), *Penicillium corylophilum* (19), *Penicillium solitum* (5), *Pithomyces graminicola* (2) e *Trichoderma pseudokoningii* (5). A Tabela 1 apresenta o número de amostras fúngicas isoladas dos diferentes substratos.

Das amostras de água foram isolados 10 fungos identificados como *Aspergillus flavus* (5), *Aspergillus niger* (3) e *Cladosporium sphaerospermum* (2). Das torneiras, 21 amostras identificadas como *Aspergillus flavus* (2), *Aspergillus japonicus* (1), *Aspergillus niger* (5), *Cladosporium sphaerospermum* (3), *Curvularia pallescens* (1), *Penicillium aurantiogriseum* (3), *Penicillium brevicompactum* (1), *Penicillium corylophilum* (2), *Penicillium solitum* (2) e *Pithomyces graminicola* (1) foram isoladas. Das pias foram isoladas 164 amostras de fungos incluindo *Aspergillus aculeatus* (1), *Aspergillus flavus* (16), *Aspergillus japonicus* (11), *Aspergillus niger* (28), *Aspergillus tamaraii* (8), *Cladosporium cladosporioides* (4), *Cladosporium sphaerospermum* (9), *Cunninghamella elegans* (3), *Curvularia pallescens* (12), *Mucor racemosus* (5), *Paecilomyces variotii* (4), *Penicillium aurantiogriseum* (29), *Penicillium brevicompactum* (8), *Penicillium corylophilum* (17), *Penicillium solitum* (3), *Pithomyces graminicola* (1) e *Trichoderma pseudokoningii* (5). O número de unidades formadoras de colônias (UFCs) variou de 12 a 56 das amostras de água, de 115 a 228 das amostras coletadas das torneiras e de 204 a 690 das pias.

O monitoramento e a manutenção de equipamentos de purificação da água são de extrema importância para a qualidade microbiana e química da água⁶. Os bebedouros avaliados neste trabalho utilizam basicamente três processos de filtração da água. Na primeira etapa, uma tela com microporos impede a passagem de várias substâncias físicas como limbo, lodo e barro. Na segunda etapa, o carvão ativado impregnado com prata impede a proliferação de micro-organismos e elimina da água o sabor e odor do cloro. Na terceira etapa a água, já limpa, passa por mais uma tela de microesferas que retém, além do próprio carvão, eventuais partículas que tenham passado pela primeira etapa, de acordo com informações fornecidas pela empresa fabricante dos equipamentos.

Tabela 1. Espécies fúngicas isoladas dos bebedouros do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

Espécies isoladas	Número de isolados	Substratos		
		água	torneira	pia
<i>Aspergillus aculeatus</i>	1	-	-	1
<i>Aspergillus flavus</i>	23	5	2	16
<i>Aspergillus japonicus</i>	12	-	1	11
<i>Aspergillus niger</i>	36	3	5	28
<i>Aspergillus tamaritii</i>	8	-	-	8
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	6	2	-	4
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	12	-	3	9
<i>Cunninghamella elegans</i>	3	-	-	3
<i>Curvularia pallescens</i>	13	-	1	12
<i>Mucor racemosus</i>	5	-	-	5
<i>Paecilomyces variotii</i>	4	-	-	4
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	32	-	3	29
<i>Penicillium brevicompactum</i>	9	-	1	8
<i>Penicillium corylophilum</i>	19	-	2	17
<i>Penicillium solitum</i>	5	-	2	3
<i>Pithomyces graminicola</i>	2	-	1	1
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	5	-	-	5
Total	195	10	21	164

Não houve isolamento (-)

Existem poucos estudos epidemiológicos relacionados à ocorrência de fungos potencialmente patogênicos em água tratada⁷. Anaissie et al⁸ demonstraram que o reservatório de água de um hospital, localizado em Houston nos Estados Unidos, era uma fonte de infecção por espécies de *Fusarium*. Através de técnicas moleculares, constataram que os isolados fúngicos obtidos de pacientes com fusariose tinham as mesmas características genotípicas que os isolados dos reservatórios de água.

Pesquisadores de várias partes do mundo têm demonstrado interesse acerca da qualidade micológica da água de ambientes hospitalares, especialmente em decorrência de infecções fúngicas oportunistas em pacientes imunocomprometidos. Esses estudiosos sugerem que

suprimentos de água de hospitais devem ser monitorados também quanto ao aspecto micológico, adotando-se medidas profiláticas eficazes, minimizando assim a exposição de pacientes imunodeficientes a fontes de água contaminada^{8,9,10}.

No Brasil, dois trabalhos avaliaram a qualidade micológica do sistema hídrico das unidades de Hemodiálise do Estado de São Paulo. Varo et al¹⁰ conseguiram isolar vários fungos filamentosos, dentre estes *Trichoderma* spp, *Cladosporium* spp, *Aspergillus* spp e *Fusarium* spp. Pires-Gonçalves et al⁹ isolaram fungos filamentosos, destacando-se as espécies de *Fusarium*, e as leveduras *Candida parapsilosis* e *Rhodotorula rubra*. Estes estudos demonstraram que várias espécies de fungos podem estar presentes na água utilizada nos centros de hemodiálise.

Outro problema que a água contaminada por fungos pode apresentar é a presença de micotoxinas. Algumas espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* são conhecidas por produzirem toxinas fúngicas em substratos como alimentos e bebidas¹¹. Paterson et al¹² detectaram aflatoxina produzida por *Aspergillus flavus* em amostras de água coletadas de uma cisterna. A exposição a altas concentrações desta toxina produz graves danos ao fígado, tais como necrose, cirrose hepática, carcinoma ou edema. Em nosso estudo, foram detectadas, na água, duas espécies conhecidas por produzirem micotoxinas como *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger*.

A ocorrência de fungos filamentosos e leveduras em água mineral engarrafada já é descrita. Ribeiro et al⁶, após avaliarem uma fábrica de engarrafamento de água mineral, concluíram que medidas de controle para evitar contaminação fúngica deveriam ser tomadas, como por exemplo: a mudança regular dos filtros, principalmente nos períodos mais quentes do ano, durante os quais os fungos se desenvolvem e esporulam mais rapidamente.

Ainda não existe um consenso quanto aos níveis aceitáveis de propágulos fúngicos na água potável. Outro ponto é a importância do isolamento de fungos com capacidade de produzir micotoxinas. Sabe-se que esses microorganismos são capazes de produzir biofilmes (agregados microbianos) em diferentes tipos de substratos, além de variados tipos de compostos tóxicos para o homem¹¹.

Nesse estudo foram detectadas, tanto nas amostras de água como nas das torneiras, a presença de fungos com capacidade de produzir micotoxinas. Desta maneira, a higienização das torneiras é de grande importância e deve ser feita regularmente para evitar a formação de biofilmes nos bebedouros. Estas medidas devem ser adotadas de maneira ampla, visto que este problema provavelmente ocorre em locais com condições similares.

Estes dados representam um alerta para que as autoridades competentes conheçam a qualidade microbiológica, mais especificamente micológica, da água consumida pelos alunos e profissionais que frequentam este centro, e avaliando esse problema em outros locais, ampliando as pesquisas acerca da relevância de fungos e micotoxinas em água potável.

REFERÊNCIAS

1. Hageskal G, Lima N, Skaar I. The study of fungi in drinking water. *Mycol Res*. 2008; 30:1-8.
2. Hageskal G, Gaustad P, Heier BT, Skaar I. Occurrence of molds in drinking water. *J Appl Microbiol*. 2006; 774-8.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 275, de 22 Set. 2005. Regulamento técnico de características microbiológicas para água mineral natural e água natural. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília. 23 set 2005.
4. Göttlich E, Van der Lubbe W, Lange B, Fiedler S, Melchert I, Reifenrath M et al. Fungal flora in groundwater-derived public drinking water. *Int J Hyg Environm Health*. 2002; 205: 269-79.
5. Hoog GS, Guarro J, Gene J, Figueiras MJ. Atlas of clinical fungi. Centraalbureau Voor Schimmelcultures/Universitat Rovira i Vigili, 2000.
6. Ribeiro A, Machado AP, Kozakiewicz Z, Ryan M, Luke B, Buddie AG et al. Fungi in bottled water: a case study of production plant. *Rev Iberoam Micol*. 2006; 23: 139-44.
7. Gonçalves AB, Russell RM, Paterson NL. Survey and significance of filamentous fungi from tap water. *Int J Hyg Environm Health*. 2006; 209: 257-64.
8. Anaissie EJ, Kuchar RT, Rex JH, Francescone A, Kasai M, Müller FMC et al. Fusariosis associated with pathogenic *Fusarium* species colonization of a hospital water system: A new paradigm for the epidemiology of opportunistic mold infections. *Clin Infect Dis*. 2001; 33:1871-8.
9. Pires-Gonçalves RH, Sartori FG, Montanari LB, Zaia JE, Melhem MSC, Mendes-Giannini MJS et al. Occurrence of fungi in water used at a haemodialysis center. *Lett Appl Microbiol*. 2008; 46:542-7.
10. Varo SD, Martins CHG, Cardoso MJO, Sartori FG, Montanari LB, Gonçalves RHP. Isolamento de fungos filamentosos em água utilizada em uma unidade de hemodiálise. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007; 40 (3):326-31.
11. Carvalho S, Stuart RM, Pimentel IC, Dalzoto PR, Gabardo J, Zawadneak MAC. Contaminação fúngica em chás de camomila, erva-doce e erva-mate. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2009; 68(1): 91-5.
12. Paterson RRM, Kelly J, Gallagher M. Natural occurrence of aflatoxins and *Aspergillus flavus* (Link) in water. *Lett Appl Microbiol*. 1997; 25: 435-6.