

Artigo Original de Pesquisa

Fungos potencialmente patogênicos isolados de água de equipos odontológicos

Potentially pathogenic fungi isolated from water samples of dental units

Fernanda Villibor Xavier^{1,2*}, Murilo César dos Santos Paiva¹,
Ana Lúcia Roselino Ribeiro¹, Alessandra Gonçalves Krakhecke³

¹FACIT – Faculdade de Ciências do Tocantins, Araguaína, TO, Brasil

²HDT - Hospital de Doenças Tropicais de Araguaína, Araguaína, TO, Brasil

³LACEN - Laboratório Central de Saúde Pública de Araguaína, Araguaína, TO, Brasil

Resumo

A água do equipo odontológico pode servir como meio de disseminação de micro-organismos durante a prática odontológica. O objetivo desse trabalho foi isolar e identificar fungos potencialmente patogênicos de amostras de água coletadas de equipos odontológicos utilizados por uma clínica escola de odontologia de Araguaína, no Tocantins. Amostras de água (n=10) foram coletadas assepticamente com auxílio de swabs da seringa tríplex do reservatório de água individual da turbina de alta rotação e então cultivadas em ágar Sabouraud a 28°C durante sete dias. As placas com crescimento positivo foram submetidas à análise macroscópica e microscópica com auxílio do corante lactofenol azul-de-algodão. Verificou-se crescimento de fungos filamentosos em 100% das amostras de água coletadas. Foi possível identificar quatro gêneros e uma espécie de fungo: *Aspergillus* spp., *Aspergillus niger*, *Penicillium* spp., *Paecilomyces* spp. e *Acremonium* spp. Este estudo demonstrou a presença de diferentes fungos patogênicos na água coletada dos equipos odontológicos denotando a necessidade de maior atenção aos protocolos de biossegurança.

Palavras-chave: Fungos; Contaminação de equipamentos; Exposição a agentes biológicos.

Abstract

During dental practice, the water used in the dental unit can be a source of spread of microorganisms. The aim of this study was to isolate and identify potentially pathogenic fungi from water samples collected from dental equipment used by a clinical school of dentistry in Araguaína, TO. Water samples from the syringe, individual water reservoir and handpieces were collected aseptically with swabs and then cultivated on Sabouraud agar at 28°C for 07 days. The plates with positive growth were subjected to macroscopic and microscopic analysis with lactophenol cotton blue. There was growth of filamentous fungi in 100% water samples collected. It was possible to identify four genera and species of fungi: *Aspergillus* spp., *Aspergillus niger*, *Penicillium* spp., *Paecilomyces* spp., and *Acremonium* spp. This study demonstrated the presence of different pathogenic fungi in water collected from dental equipment denoting the need for greater attention to biosecurity protocols.

Keywords: Fungi; Equipment contamination; Exposure to biological agents.

INTRODUÇÃO

A água do equipo odontológico pode servir como meio de disseminação de micro-organismos durante a prática odontológica. Essencial durante o acionamento da turbina de rotação, ultrassom e seringa tríplice, ao estar contaminada com micro-organismos, a água pode ser uma fonte de infecção cruzada, principalmente pela quantidade de aerossóis formados durante o atendimento odontológico^{1,2}.

Equipos modernos utilizam reservatórios individuais com uma garrafa tipo pet acoplada, entretanto, se a mesma não for higienizada a cada troca de água e/ou se a fonte de água utilizada para preencher o reservatório estiver contaminada, poderá haver multiplicação e contaminação do sistema de tubulação do equipo (mangueiras), tornando-se local propício para a formação de biofilmes na luz ou aderidos às partes internas das tubulações³.

De acordo com Pankhurst, Johnson⁴(1998), a água utilizada nos equipos odontológicos deveria ser isenta de micro-organismos. Entretanto, diferentes pesquisadores isolaram fungos potencialmente patogênicos da água dos equipos odontológicos desde o primeiro relato de Blake em 1963^{1,5,6}.

Em relação ao papel dos fungos como agente etiológico de doenças, é sabido que os mesmos apresentam numerosos efeitos sobre os seres humanos e que pode ser difícil a determinação do seu papel em uma infecção e seu controle na prática odontológica⁷.

Os fungos, organismos uni ou multicelulares, são ubíquos e capazes de sobreviver em ambientes com as mais diversas condições. Entretanto, existem limitações em sua capacidade de sobrevivência quando os mesmos estão em um meio ambiente desfavorável ao seu crescimento⁸.

Morfologicamente, os fungos apresentam paredes celulares compostas principalmente de quitina, um polímero de N-acetilglicosamina derivado da

glicose. Essas paredes são compostas de 80 a 90% de polissacarídeos com proteínas, lipídeos, polifosfatos e íons orgânicos formando uma matriz⁹. São conhecidos por sua baixa exigência nutricional, o que facilita sua sobrevivência em ambientes diversos e a contaminação de produtos de consumo humano¹⁰.

Praticamente todos os organismos fúngicos relacionados com processos patológicos em humanos são de vida livre e geralmente os indivíduos apresentam um alto nível de imunidade inata aos fungos¹⁰.

Algumas circunstâncias predispõem às infecções fúngicas oportunistas, tais como modificações na microbiota intestinal, em consequência do uso de drogas antibacterianas de largo espectro, debilitação do hospedeiro proveniente do uso de medidas terapêuticas e drogas imunossupressoras, e alterações do sistema imunológico do hospedeiro provocada por distúrbios endócrinos subjacentes⁷.

Em situações de debilidade do hospedeiro, alguns fungos de baixo potencial patogênico, oportunistas, podem se tornar agentes etiológicos de doenças classificadas como micoses oportunistas, que podem ser fatais⁷. Tais situações envolvem o uso prolongado de antibióticos, consumo de álcool, carência nutricional e uso contínuo de terapia imunossupressora. Szymanska et al.¹¹(2008) alertam para o risco de infecção cruzada durante a prática odontológica, especialmente sob o ponto de vista do aumento do número de indivíduos imunodeprimidos que buscam e precisam de tratamento odontológico.

Sob esse aspecto, Carvalho et al.¹²(2009) salientam que, nas infecções cruzadas, os micro-organismos têm um papel passivo, cabendo ao homem o papel ativo de transmiti-los ou de controlá-los.

É importante que os profissionais da área sejam alertados quanto à necessidade de substituição e limpeza da água dos reservatórios individuais e estimulados a aplicarem os princípios de biossegurança para reduzir ou eliminar os micro-organismos

possíveis de causarem infecções.

Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi isolar e identificar fungos potencialmente patogênicos de amostras de água coletadas de equipos odontológicos utilizados por uma clínica escola de Odontologia de Araguaína, no Tocantins.

MATERIAL E MÉTODO

Meios de Cultura

Nesta pesquisa foram utilizadas placas de petri (90x15mm) de Agar Sabouraud Dextrose, Biomérieux Brasil S/A, Rio de Janeiro (RJ). O controle de segurança da esterilidade dos meios de cultura foi obtido pela incubação de placas controle contendo apenas Agar Sabouraud a 28°C, durante sete dias.

Coleta das amostras

Foram coletadas amostras de água de diferentes equipos odontológicos de uma clínica escola, em Araguaína, Tocantins, em setembro de 2014. Os equipos foram escolhidos aleatoriamente tendo como critério de escolha a presença de água no reservatório individual no momento da visita.

As amostras foram coletadas assepticamente

com auxílio de swabs estéreis. Amostras de água de quatro diferentes seringas tríplex foram coletadas após desinfecção das suas partes externas por fricção com gaze e álcool 70%. Duas amostras de água foram coletadas de uma turbina de alta rotação que estava montada para uso na clínica. As coletas foram realizadas por acionamento da água da seringa tríplex e acionamento do spray da turbina de alta rotação, próximos aos swabs.

Amostras do reservatório de água individual de quatro equipos diferentes foram obtidas após imersão do swab na água contida no interior do reservatório.

Após coleta com o swab, todas as amostras foram inoculadas (n=10) e cultivadas em ágar Sabouraud dextrose, meio não seletivo para fungos, a 28°C durante sete dias.

As placas com crescimento positivo foram submetidas à análise macroscópica e microscópica com auxílio do corante lactofenol azul-de-algodão, segundo metodologia descrita por Murray et al.¹⁰(2011) e Oplustil et al.¹³(2010), como pode ser visualizado na Figura 1.

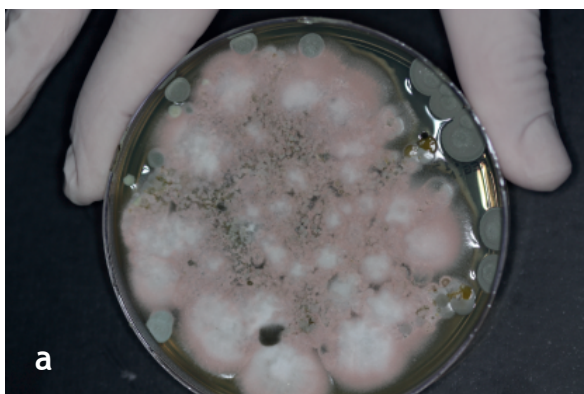


Figura 1. Processamento das placas com crescimento positivo para fungos: (a) exame macroscópico das colônias; (b) exame microscópico das colônias utilizando corantelactofenol azul-de-algodão.

A análise microscópica foi realizada utilizando o método de preparação por desagregação proposto por Murray et al.¹⁰ (2011). Com o auxílio de duas

agulhas de dissecação, extraiu-se pequena porção da colônia a ser estudada, incluindo a parte do ágar que se encontrava abaixo da superfície. O fragmento foi

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo qualitativo foram isolados quatro gêneros e uma espécie de fungos considerados potencialmente patogênicos e não foi observado crescimento fúngico nas placas utilizadas como controle negativo dos meios de cultura, denotando a confiabilidade da esterilidade dos meios de cultura utilizados.

Observou-se crescimento fúngico nas 10 amostras avaliadas nesse estudo, conforme apresentado na Tabela 1 e nas Figuras 2 e 3. Foi possível identificar quatro gêneros e uma espécie de fungos, sendo eles: *Aspergillus* spp., *Aspergillus niger*, *Penicillium* spp., *Paecilomyces* spp. e *Acremonium* spp.

colocado em uma lâmina e sobre ele uma gota de azul-de-lactofenol, desagregando-o com as agulhas de dissecação e cobrindo-o com uma lamínula. A preparação foi examinada com microscópio óptico (Olympus CX41) em aumentos crescentes, primeiro com o menor aumento (10x) e em seguida com maior aumento (40x), e com imersão de óleo (100x) (não demonstrado).

A identificação e classificação dos fungos foram baseadas nas diferenças morfológicas entre as estruturas reprodutivas e na forma na qual são produzidos os esporos ou conídios¹⁴.

Nenhuma amostra foi coletada de seres humanos, assim, não sendo necessário o envio do projeto de pesquisa ao comitê de ética em pesquisa para seres humanos.

Tabela 1. Fungos encontrados nas amostras de água coletada de diferentes locais

Locais de coleta	Fungo
Seringa tríplice (n=4)	<i>Penicillium</i> spp. (n=2)
	<i>Aspergillus</i> spp. (n=2)
	<i>Fusarium</i> spp. (n=2)
Reservatório de água individual (n=4)	<i>Penicillium</i> spp. (n=2)
	<i>Aspergillus niger</i> (n=1)
	<i>Mucorales</i> (n=1)
	<i>Fusarium</i> spp. (n=2)
Turbina de alta rotação (n=2)	<i>Acremonium</i> spp. (n=2)
	<i>Penicillium</i> spp. (n=2)
	<i>Paecilomyces</i> spp. (n=2)



Figura 2. Crescimento de *Arpergillus* spp. em amostra coletada de reservatório individual de água.



Figura 3. Crescimento de *Aspergillus niger*, apresentando a superfície densamente ponteadada em marrom-escuro a negro, em amostra coletada de reservatório individual de água.

De acordo com Hooget al.¹⁵(2000), o *Aspergillus niger* é frequentemente isolado na orelha humana e agente causal de vários casos de otomicose. Além disso, casos de peritonite e endocardite foram relatados em pacientes imunodeprimidos. Infecções por esse fungo estão claramente associadas à higiene ambiental. Szymanska⁵(2005) avaliou a contaminação por fungos da água de 25 equipos odontológicos de consultórios públicos da Polônia e os resultados demonstraram a presença de fungos em 11 equipos pesquisados. Nas amostras de água foram identificados: *Aspergillus* spp. do grupo *Aspergillus glaucus*, *Sclerotium clerotiorum*, *Candida albicans*, *C. curvata*, e outras leveduras. Nas amostras obtidas com swab, a distribuição dos fungos foi semelhante a das águas dos reservatórios, entretanto, algumas espécies isoladas foram diferentes (*Aspergillus amstelodami*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus* spp. do grupo *Aspergillus glaucus*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium pusillum*, *P. turolense*, *Sclerotium clerotiorum*, *Candida albicans*, *C. curvata*, e outras leveduras). Nas amostras de águas expelidas pelas turbinas de alta rotação, foram isolados fungos, em 17 dos 25 equipos, das espécies *Citromyces* spp., *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus* spp. do grupo *Aspergillus glaucus*, *Geotrichum candidum*, v *Penicillium*

aspergilliforme, *Penicillium pusillum*, *P. turolense*, *Sclerotium clerotiorum*, *Candida albicans*, *C. curvata*, e outras leveduras, denotando a possibilidade de transmissão de tais micro-organismos na água dos equipos odontológicos.

Koneman et al.⁷(2008) reforçam que os *Aspergillus* spp. constituem um grupo de fungos filamentosos hialinos de crescimento rápido que podem causar infecções oportunistas em humanos. Pode haver casos de sinusite por *Aspergillus* resultante de fístulas orossinusais produzidas por complicações provenientes de tratamento dentários ou por perfuração do seio maxilar.

As colônias de *Aspergillus niger*, após sete dias de incubação em Agar Sabouraud dextrose, apresentavam a superfície densamente ponteadada em marrom-escuro a negro¹⁰, conforme verificado na Figura 3 de uma das amostras de água coletada do reservatório.

Fusarium spp., agente etiológico de fungemia em pacientes imunocomprometidos, foi isolado em 50% das amostras da seringa tríplice e reservatório individual. As colônias de *Fusarium* spp. apresentavam característica granulosa ou penugenta, com nítida pigmentação rosa-avermelhada, que podem ser observadas na Figura 4.

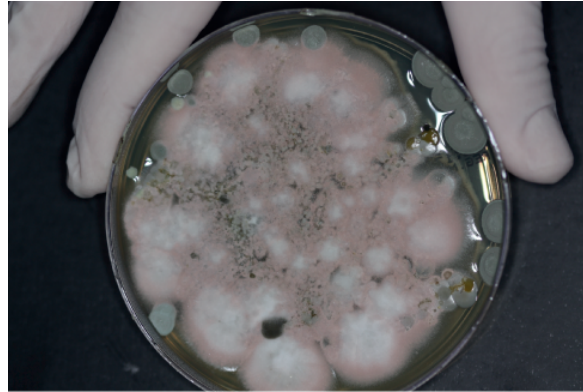


Figura 4. Crescimento de *Fusarium* spp. com característica granulosa, com pigmentação rosa-avermelhada, em amostra coletada de reservatório individual de água.

Observou-se o crescimento de outros fungos comuns do ambiente, *Penicillium* spp., *Paecilomyces* spp e *Acremonium* spp. As colônias de *Acremonium* apresentavam aspecto liso, quase similar ao de leveduras devido à sua natureza extremamente delicada das hifas e elementos de frutificação.

As colônias de fungos hialinos apresentam aspecto variado e a maioria apresenta uma ligeira coloração pastel ou mais escura, com combinações de tons de verde, amarelo, laranja e marrom. A sua textura pode ser lisa ou glabra, granular, algodonosa ou lanosa, dependendo da maturidade e do grau de esporulação⁷.

As colônias de *Penicillium* spp., após sete dias de incubação em agar Sabouraud dextrose das amostras de água isoladas nesse estudo, apresentavam uma característica verde, aspecto granuloso, pregas radiais e faixa branca na periferia.

No que diz respeito à contaminação das águas dos equipos odontológicos por fungos, foram relatadas na literatura contaminações por *Rhodotorula rubra*¹⁶; *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Scopulariopsis*¹⁷; *Candida* spp.^{3,18}; *Exophiala mesophila*⁶, *Aspergillus* spp. do grupo *Aspergillus glaucus*, *Sclerotium sclerotiorum*, *Candida albicans*, *C. curvata*, e outras leveduras, *Citromyces* spp., *Aspergillus fumigatus*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium asper-*

gilliforme, *Penicillium pusillum*, *P. turolense*, *Sclerotium sclerotiorum*⁵.

Para Szymanska⁵(2005), a microflora contaminante das águas dos equipos pode ser proveniente de dois diferentes locais: 1) da água de abastecimento público de modo indireto, quando utilizada para preencher o reservatório individual; 2) através do refluxo de saliva dos pacientes para o interior das linhas d'água.

Na presente pesquisa observou-se o uso da água de abastecimento público de modo indireto no reservatório individual dos equipos.

CONCLUSÃO

Dentro das limitações, este estudo demonstrou a presença de diferentes fungos patogênicos na água coletada dos equipos odontológicos. A água que fica estagnada no reservatório individual dos equipos pode servir de reservatórios de fungos, potencialmente patogênicos, representando um risco de aquisição de infecção cruzada para os pacientes, principalmente aqueles com imunossupressão. Espera-se que este estudo contribua para a ampliação dos conhecimentos acerca da contaminação por fungos da água dos equipos e aumente a percepção de risco dos profissionais envolvidos na prática odontológica.

REFERÊNCIAS

1. Xavier FV, Bertolin AO, Naval LP. Avaliação microbiológica associada ao risco de infecção cruzada através das linhas d'água dos equipos odontológicos na rede pública de saúde. *Rev Ciências Odontológicas*. 2007;9:13-9.
2. Barreto ACB, Vasconcelos CPP, Girão CMS, Rocha MMNP, Mota OML, Pereira SLS. Contaminação do ambiente odontológico por aerossóis durante atendimento clínico com uso de ultrassom. *Braz J Periodontol*. 2011;21(2):79-84.
3. Walker JT, Bradshaw DJ, Bennett AM, Fulford MR, Martin MV, Marsh PD. Microbial biofilm formation and contamination of dental unit water systems in general dental practice. *Appl Environ Microbiol*. 2000;66(8):3363-7.
4. Pankhurst CL, Johnson NW. Microbial contamination of dental unit waterlines: the scientific argument. *Int Dent J*. 1998;48(4):359-68.
5. Szymanska J. Evaluation of mycological contamination of dental unit waterlines. *Ann Agric Environ Med*. 2005;12:153-5.
6. Porteous NB, Redding SW, Thompson EH, Grooters AM, De Hoog S, Sutton DA. Isolation of an usual fungus in treated dental unit waterlines. *J Am Dent Assoc*. 2003;134(7):853-8.
7. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Koneman diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.
8. Pinelli C, Garcia PPNS, Campos JADB, Dotta EAV, Rabello AP. Biossegurança e odontologia: crenças e atitudes de graduandos sobre o controle da infecção cruzada. *Saúde Soc São Paulo*. 2011;20(2):448-61.
9. Spolidorio DMP, Duque C. *Microbiologia e imunologia geral e odontológica*. Vol 1. São Paulo: Artes Médicas; 2013.
10. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Microbiologia médica*. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2011.
11. Szymanska J, Sitkowska J, Dutkiewicz J. Microbial contamination of dental unit waterlines. *Ann Agric Environ Med*. 2008;15(2):173-9.
12. Carvalho CMRS, Madeira MZA, Tapety FI, Alves ELM, Martins MCC, Brito JNPO. Aspectos de biossegurança relacionados ao uso do jaleco pelos profissionais de saúde: uma revisão da literatura. *Texto Contexto Enferm*. 2009;18(2):355-60.
13. Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobouti NR, Sinto SI. *Procedimentos básicos em microbiologia clínica*. 3. ed. São Paulo: Sarvier; 2010.
14. Lacaz C, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Melo NT. *Tratado de micologia médica*. 9ª ed. São Paulo: Sarvier; 2002.
15. Hoog GS, Guarro J, Gené J, Figueras MJ. *Atlas de clinical fungi*. 2nd ed. Washington: ASM Press; 2000.
16. Mills SE, Lauderdale PW, Mayhew RB. Reduction of microbial contamination in dental units with povidone-iodine 10%. *J Am Dent Assoc*. 1986;113(2):280-4.
17. Williams HN, Baer ML, Kelley JI. Contribution of biofilm bacteria to the contamination of the dental unit water supply. *J Am Dent Assoc*. 1995;126(9):1255-60.
18. Walker JT, Bradshaw DJ, Finney M, Fulford MR, Frandsen E, ØStergaard E, et al. Microbiological evaluation of dental unit water systems in general dental practice in Europe. *Eur J Oral Sci*. 2004;112(5):412-8.

*Autor de Correspondência:
Fernanda Villibor Xavier
Rua D, 25, setor George Yunes
CEP: 77.818-650 Araguaína - TO, Brasil
e-mail: fvillibor@hotmail.com

Enviado em 11/12/14
Aceito em 20/02/15

Os autores declaram não haver conflito de interesse.