

ESTUDO PRELIMINAR SÔBRE A OCORRÊNCIA DE BACTÉRIAS EM RECINTOS FECHADOS

JOÃO LÚCIO DE AZEVEDO e ROLAND VENCovsky

Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"
Universidade de S. Paulo — Piracicaba

INTRODUÇÃO

O ar, não constitui um ambiente natural para o desenvolvimento e reprodução de microrganismos; não contém nem substâncias nutritivas, nem umidade suficiente para poderem ser utilizadas pelas bactérias. Não obstante isso, nele se encontram bactérias e outros microrganismos e, a presença dos mesmos, é de máxima importância para economia e saúde públicas.

Estudos sôbre a flora bacteriana do ar, tem sido realizados desde os primórdios da bacteriologia; KOCH (1881) já apresentou pesquisas efetuadas nesse sentido. O assunto é bastante complexo como podemos verificar pelas revisões de SALLE (1957), PELCZAR (1958) e WILLIAMS (1960).

Em nosso país, trabalhos sôbre a microbiologia do ar, são escassos e, tem sido realizados principalmente visando o estudo de fungos anemófilos, salientando-se as pesquisas de LACAZ e colaboradores (1958). Com bactérias do ar, encontramos os estudos de PINHEIRO, NEDER & AZEVEDO (1966) que, fizeram um levantamento acêrca das bactérias encontradas no ar, na cidade de Piracicaba, Estado de São Paulo.

A finalidade do presente trabalho, foi então, a de apresentar mais uma contribuição nesse sentido, pesquisando a flora bacteriana do ar, em recintos fechados. Nossas pesquisas foram apenas preliminares visando fornecer uma idéia geral dessa flora bacteriana, e, ao mesmo tempo, verificar a influência de alguns fatores na quantidade de bactérias encontradas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os meios sólidos utilizados por nós, foram:

a) Nutriente ágar (DIFCO): Peptona 5g, Extrato de Carne 3g, Ágar 15g e H₂O destilada 1.000 ml.

b) Meio seletivo para estafilococos: Extrato de levedura 2,5 g, Triptonæ- 10 g, Gelatina 30 g, Lactose 2 g, d-Manitol 10 g, NaCl 75 g, Fosfato dipotássico 5 g, Ágar 15 g, H₂O destilada 1.000 ml.

O meio líquido usado foi o líquido nutriente (DIFCO): Peptona 5 g, Extrato de carne 3 g, H₂O destilada 1.000 ml.

O método de coleta do material foi o seguinte: Placas de Petri contendo meio seletivo para Estafilococos foram abertas por um período de sete minutos em recintos fechados (cinemas). Foram expostas duas placas com nutriente ágar e duas placas com meio seletivo para Estafilococos em cada um dos três recintos visitados, todos os dias, durante uma semana. A época de coleta de material foi de dez e dezesseis de outubro de 1960. A coleta foi feita no sentido de se possibilitar uma análise estatística dos dados.

Após a coleta, as placas com nutriente ágar eram incubadas a 28°C e as placas com meio seletivo para Estafilococos, a 37°C. Decorridas 48 horas de incubação, procedeu-se a contagem das colônias.

De cada placa com nutriente ágar, foram retiradas colônias que se diferenciavam macroscopicamente uma das outras e, tais colônias foram transferidas para líquido nutriente, incubando-se a 28°C por 24 horas e, após esse período de tempo, foram feitos isolamentos a fim de serem obtidas culturas puras.

Uma vez obtida em cultura pura, aplicaram-se os métodos para identificação das bactérias, pormenorizadamente descritos no Manual of Methods for Pure Culture Study of Bacteria (1952). Os testes aplicados para cada cultura pura isolada foram os seguintes: coloração de gram, presença de esporos, pesquisa da motilidade, produção de indol, produção de gás sulfídrico, produção de catalase, hidrólise do amido, redução de nitratos, produção de urease, produção de amônia, ácido resistência, provas do vermelho de metila e Voges-Proskauer, ação da bactéria sobre o leite, crescimento no ágar inclinado, pesquisa da forma por coloração com azul de metileno, hidrólise da gelatina, pesquisa da forma da colônia em nutriente ágar e, fermentação de carboidratos. Uma vez obtidos os resultados desses ensaios, a bactéria foi classificada, utilizando-se para tal o Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1957).

Dados meteorológicos foram fornecidos pelo Posto Meteorológico da ESALQ. O número de pessoas encontradas nos recintos fechados na hora das coletas foi também fornecido.

RESULTADOS

Os diversos gêneros de bactérias por nós encontrados e as porcentagens desses gêneros no total de placas e nos três recintos fechados onde foram feitas as coletas, estão no Quadro I.

Quadro I — Porcentagens de placas com os diversos gêneros de bactérias encontrados nos três recintos em relação ao total de placas abertas por recinto

GÊNERO	Recinto A	Recinto B	Recinto C	% no total de placas
Bacillus	21,41	19,03	16,65	57,1
Corynebacterium	23,80	2,38	9,52	37,5
Micrococcus	7,03	14,07	9,38	30,5
Staphylococcus	4,75	7,13	9,51	21,4
Sarcina	4,76	4,76	4,76	14,3
Não identificados	11,25	3,77	9,03	27,1

O quadro II apresenta as porcentagens de dias em que os diversos gêneros foram encontrados.

Quadro II Porcentagem de dias em que os gêneros de bactérias foram encontrados

Gênero	% de dias
Bacillus	85,7
Corynebacterium	85,7
Micrococcus	71,4
Staphylococcus	57,1
Sarcina	42,8
Não identificados	85,7

O quadro III mostra o número de bactérias coletadas nas placas contendo nutriente ágar e meio seletivo para Estafilococos nos diversos dias de coleta e apresenta também o número de pessoas em cada recinto de coleta. O quadro IV apresenta a temperatura média, umidade relativa do ar e milímetros de chuva nos dias de coleta.

Quadro III — Número de colônias encontradas nas placas abertas em 3 diferentes recintos fechados e número de pessoas encontradas nos mesmos

Dias	Recinto A			Recinto B			Recinto C		
	N. de colônias		N. de pessoas	N. de colônias		N. de pessoas	N. de colônias		N. de pessoas
	Nutri- ente ágar *	Meio para Estafilo- cocos *		Nutri- ente ágar *	Meio para Estafilo- cocos *		Nutri- ente ágar *	Meio para Estafilo- cocos *	
10/10	222	21	108	303	29	672	50	5	195
11/10	171	12	136	172	14	674	139	7	278
12/10	246	27	105	109	7	600	110	15	348
13/10	70	12	150	68	4	610	55	8	173
14/10	367	42	134	212	16	610	308	25	1015
15/10	131	9	920	130	5	600	236	32	1407
16/10	87	31	920	13	2	612	60	18	1213

* Soma das duas placas.

Quadro IV — Temperatura, umidade e mm de chuva nos dias de coleta

Dias	Tempera- tura média	Umidade relativa	mm de chuva
10/10	22,9	64,0	0,0
11/10	26,9	57,8	0,0
12/10	25,1	67,2	0,0
13/10	24,7	71,2	1,7
14/10	24,4	64,6	0,0
15/10	25,0	60,2	0,0
16/10	19,3	94,5	3,5

DICUSSÃO

Nossos resultados concordaram em parte com os de PINHEIRO, NEDER & AZEVEDO (1966) no que se refere à porcentagem encontrada para os diferentes gêneros, embora tais autores tenham realizado seus estudos em ambientes abertos:

Gênero	Azevedo & Vencovsky	Pinheiro, Neder & Azevedo
Bacillus	57,1	43,7
Corynebacterium	37,5	43,7
Micrococcus	30,5	12,4
Sarcina	14,3	6,2
Staphylococcus	21,4	6,2
Outros	—	18,6
Não identificados	27,1	18,7

Verifica-se portanto uma certa identidade de resultados excetuando-se os gêneros de cocos, principalmente os gêneros **Staphylococcus** e **Micrococcus**, cujas frequências foram maiores no nosso trabalho. Tal fato era de se esperar pois nossos estudos foram realizados em recintos fechados, aonde, o número de bactérias, principalmente do gênero **Staphylococcus** é incrementado, de acôrdo com o número de pessoas, e atividade das mesmas no recinto (WILLIAMS & col., 1956). Este mesmo autor, agrupou os gêneros encontrados em divisões maiores. Podemos então distribuir as bactérias que isolamos, de acôrdo com os agrupamentos que WILLIAMS estabeleceu em seu trabalho :

Gêneros	Porcentagens
Micrococos (Sarcinas, Staphylococcus e Micrococcus)	66,2
Bacilos differóides	37,5
Bacilos aeróbicos esporulados	57,1
Não identificados	27,1

Esses resultados concordam com os de WILLIAMS, que dá o grupo Micrococos como o mais frequente. Comparando-se as porcentagens obtidas por nós por agrupamentos, com as obtidas por PINHEIRO, NEDER & AZEVEDO, verifica-se que a grande diferença entre a flora bacteriana dos recintos fechados e espaço aberto está no grupo **Micrococos**, muito mais frequente em nossos resultados (66,2% contra 24,8%). No mais, parece não haver diferença entre as duas floras estudadas.

Pelos nossos resultados, podemos também dizer, que, provavelmente, não existe uma flora específica para cada recinto estudado mas, êle é praticamente igual para os 3 recintos estudados. Apenas um dos gêneros encontrados (**Corynebacterium**) foi muito mais frequente no recinto A que nos outros dois locais pesquisados. No que se refere à distribuição dos gêneros por dias de coleta, verifica-se que os gêneros mais frequentes (**Bacillus** e **Corynebacterium**) encontrados com porcentagens relativamente altas o que significa que, não houve uma flora específica para cada dia de coleta, mas ela se manteve mais ou menos constante todos os dias.

Pela observação dos quadros III e IV verifica-se que o fator principal responsável pelo maior ou menor número de bactérias no ar é a umidade do mesmo. Quanto maior se apresenta êsse valor, menor é a quantidade de colônias encontradas nas placas contendo nutriente ágar. Essa conclusão pôde ser obtida por se ter notado que o logarítmo do número de bacté-

rias encontradas é negativamente correlacionado com a umidade relativa do ar ($r = -0,767^*$). Quanto ao número de Estafilococos encontrados, pôde-se observar que êle é influenciado em parte, pelo número de pessoas encontradas no recinto. Verificou-se que o logaritmo do número de Estafilococos, está correlacionado com o logaritmo do número de pessoas ($r = 0,492^*$).

RESUMO

Foram estudadas 28 bactérias do ar, em três cinemas da cidade de Piracicaba. No total de placas abertas nesses 3 recintos fechados, o gênero **Bacillus** foi o predominante. Os gêneros **Bacillus** e **Corynebacterium** foram encontrados em maior porcentagem nos dias em que a coleta foi efetuada. Não houve uma flora específica para cada dia de coleta nem para cada recinto estudado. O fator principal que regula o número de bactérias no ar parece ser a umidade. O número de pessoas que se encontrava nos recintos pesquisados é de importância no número de Estafilococos encontrados.

SUMMARY

The bacterial flora of the air have been studied in three occupied rooms in the city of Piracicaba, State of São Paulo, Brazil. The genera **Bacillus** and **Corynebacterium** were the most frequent during the days in which the air samples have been collected. The main factor involved controlling the number of bacteria in the air was humidity. The number of occupants of the rooms was important in relation to the frequency of **Staphylococcus** encountered.

AGRADECIMENTO

Queremos agradecer ao Dr. JESUS MARDEN DOS SANTOS, da Cadeira de Física e Meteorologia da ESALQ por nos fornecer os dados meteorológicos aqui apresentados.

BIBLIOGRAFIA

BREED, R. S., E. G. D. MURRAY & N. R. SMITH, 1957 — **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 7a. Ed.

- KOCH, R., 1881 — Zur Untersuchung von pathogenem Organismen. *Mitt. Kaiser Gesundh.* 1: 32.
- LACAZ, C. S., E. MENDES et al, 1958 — Fungos e nemófilos nas cidades de São Paulo e Santos. *Rev. Hosp. Clín. S. P.* 13: 187-193.
- PELCZAR, M. J. Jr. & R. D. REID, 1958 — *Microbiology*, McGraw — Hill Book Company Inc., New York.
- PINHEIRO, L., R. N. NEDER & J. L. DE AZEVEDO, 1966 — Flora micológica e bacteriana do ar na cidade de Piracicaba. *O Hospital* 69: 627-633.
- SALLE, A. J., 1957 — *Bacteriologia*, Editorial Gustavo Gili S. A., Barcelona, versão da 4a. edição.
- Soc. Am. Bac., 1952 — *Manual of methods for pure culture study of bacteria*, Biotech. Publications, Geneva, New York, 10a. Ed.
- WILLIAMS, R. E. O., 1960 — Intramural spread of bacteria and iruse in human populations. *Am. Rev. Microbial.* 14: 43-64.
- WILLIAMS, R. E. O., LIDWELL, O. M. & HIRCH, A., 1956 — The bacterial flora of the air of occupud rooms. *J. Hyg. London* 54: 52-523.