

OCORRÊNCIA DE FUNGOS EM SUPERFÍCIES DE LIVROS E AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO OZÔNIO NA DESINFECÇÃO DE UMA BIBLIOTECA DO NORTE DO PAÍS

PRESENCE OF FUNGI ON BOOKS SURFACES AND EVALUATION OF OZONE EFFECTIVENESS IN DISINFECTING A LIBRARY OF THE NORTH OF THE COUNTRY

GABRIELLE MELO CALEGARI¹, VALÉRIA PINHEIRO NOVAIS², MARIA EDUARDA BIANCO³, ROSINEIDE VIEIRA GOIS⁴, FABIANA DE OLIVEIRA SOLLA SOBRAL⁵, RENAN FAVA MARSON^{6*}

1. Acadêmica do curso de Biomedicina do Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná; 2. Acadêmica do curso de Farmácia do Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná; 3. Acadêmica do curso de Biomedicina do Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná; 4. Biomédica, Mestre em Biologia Celular e Molecular, Docente do curso de Biomedicina do Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná; 5. Biomédica, mestre em Biologia Celular e Molecular, Docente do curso de Biomedicina do Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná; 6. Biomédico, Mestre em Bioengenharia, Docente do curso de Biomedicina do Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná.

* Avenida Engenheiro Manoel Barata da Fonseca, 762, Caixa Postal 61, Ji-Paraná, Rondônia, Brasil, CEP: 76907-438. renanfmanson@gmail.com

Recebido em 03/12/2017. Aceito para publicação em 04/01/2018

RESUMO

O objetivo principal do estudo foi analisar a presença de microrganismos em superfícies de livros e utilizar o ozônio para desinfecção. Foram realizadas coletas com swabs umedecidos no meio de cultura APT (*água peptonada tamponada*), friccionados na parte superior dos livros, incluindo capa e folhas, logo, sendo plaqueados em ágar *Saboroud* por sete dias. Para ozonização, foi necessário o uso de uma caixa plástica com entrada e saída do gás em concentração de 100 mg/h por 60 minutos. O maior índice de proliferação fúngica se deu por *Aspergillus sp.*, seguido de *Penicillium sp.*, os quais possuem grande importância médica, podendo causar doenças como aspergilose e peniciliose, acometendo de forma primária os pulmões, e quando não diagnosticado, pode se disseminar para outros órgãos do corpo. O uso do ozônio reduziu a quantidade de alguns gêneros fúngicos, enquanto para outros, não possui nenhuma eficácia. Conclui-se que, os fungos encontrados são patogênicos, ou seja, oferecem risco de saúde para os usuários de livros em bibliotecas, e sugere-se novos estudos com tempo e concentrações de ozônio maiores, para obter melhor eficácia na desinfecção.

PALAVRAS-CHAVE: Microrganismos, livros, bibliotecas, ozônio, fungos.

ABSTRACT

The main goal of this study is to analyze the presence of microorganisms on the surfaces of books and to use ozone for disinfection. Sample collections were carried out using swabs moistened in APT culture (buffered peptone water). The swabs were rubbed against the top edge of the books, being plated on *Saboroud* agar for seven days afterwards. For ozonation, a plastic box was used. The box allowed for the gas with a concentration of 100 mg/h to go in and out, for 60 minutes. The highest fungal proliferation index occurred due to *Aspergillus sp.*, followed by *Penicillium sp.*, both of which have great medical importance, and might cause diseases such as aspergillosis and penicilliosis. Such diseases affect primarily the lungs, and when not diagnosed, can spread through other organs in the human body. The use of ozone reduced the amount of

some fungal genera, while on others, had no effect. It is concluded then, that the fungi found are pathogenic. In other words, they pose a health risk to readers who usually use books from libraries. To obtain better effectiveness in disinfection, new studies applying a higher amount of ozone for a longer time are suggested.

KEYWORDS: Microorganisms, books, libraries, ozone, fungi.

1. INTRODUÇÃO

Há várias visões em relação as bibliotecas, ora é lugar sagrado, ora instituição burocratizada para pesquisas e consultas, assim como armazenar bolor, cupins e traças. Sendo para poucos, um local para o prazer de ler, informar-se e conhecer. Há duas principais funções para as bibliotecas, uma educativa a qual o aluno desenvolve habilidades para o estudo independente e formação do hábito de ler. Outra é a cultural, onde torna-se complemento da educação formal possibilitando uma ampliação do conhecimento acerca do mundo¹.

Em forma de livros, revistas entre outros recursos esses acervos encontram-se na maioria das vezes, em locais sem ventilação, úmidos e com temperatura irregular. Devido à esses fatores, o ambiente se torna propício para a propagação de microrganismos especialmente os fungos, que utilizam a umidade para o metabolismo de nutrientes e proliferação de seus esporos². Os que se propagam através do ar atmosférico são chamados de fungos anemófilos, sendo importantes patógenos de importância médica, capazes de causar alergias respiratórias entre outros sintomas³. Além disso, são deteriorantes, se alimentam do papel, resíduos de sujeira e gordura que podem estar presentes nas superfícies dos livros devido ao uso corriqueiro e má conservação por parte de quem os utilizam⁴.

Existem manuais de limpeza e higienização de

livros que muitas bibliotecas utilizam para conservação preventiva, onde recomendam medidas de higiene simples como o uso de pincéis, flanelas (secas) ou até mesmo aspirador de pó para limpar as sujidades contidas nessas superfícies, uma vez que em condições favoráveis elas também podem ter ação deteriorante⁵. Porém essas ações preventivas muitas vezes não são eficazes, pois em um acidente ocorrido na biblioteca de Manguinhos, apesar de todos os cuidados do dia-a-dia com o manuseio e conservação dos livros ainda foram surpreendidos com focos de proliferação fúngicas⁶.

Uma boa opção para desinfecção de ambientes e objetos é o ozônio (O₃), ele vem sendo testado há anos para diversas atividades incluindo a esterilização, agindo a fim de destruir todas as formas de vida microbiana existentes em uma superfície⁷. E, mesmo não sendo reconhecido legalmente pelo Conselho Federal de Medicina no Brasil, em vários outros países ele vem sendo utilizado desde o século XX como forma terapêutica bem como em outros diferentes usos, como tratamento antimicrobiano, purificação de água, esterilização de recipientes em ambientes como hotéis e hospitais⁸.

O ozônio é um composto alotrópico do oxigênio formado por 3 átomos covalentemente ligados. Está presente na estratosfera o qual tem função de barrar a radiação ultravioleta (UV)⁹. Forte oxidante que reage com a molécula de oxigênio por meio de ruptura¹⁰, capaz de reagir com metais e destruir vários tipos de matérias orgânicas, e em seu estado gasoso, é facilmente solúvel em água, e quando combinado com sua solubilidade, faz-se um ótimo candidato para uso como esterilizante¹¹.

É considerado um microbicida eficaz tanto para fungos, bactérias, vírus e protozoários, pois age penetrando a parede celular e depois de conseguir adentrar a célula, promove oxidação dos aminoácidos e ácidos nucléicos podendo ocorrer posteriormente até mesmo a lise celular, dependendo da extensão das reações¹².

O presente estudo tem como objetivo analisar a presença de fungos e leveduras em superfícies de livros e se necessário utilizar o ozônio para a desinfecção de alto nível dos mesmos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada através de estudo experimental a análise de 20 livros escolhidos de forma randomizada em uma biblioteca privada no município de Ji-Paraná/RO.

As coletas foram realizadas com o uso de *Swabs* umedecidos com o meio de cultura *APT (água peptonada tamponada)*; foram friccionados na parte superior do livro, incluindo capa e folhas, logo, sendo inoculados em tubos contendo o mesmo meio e transportados ao laboratório de microbiologia do Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná.

As amostras foram plaqueadas pelo método de superfície em ágar *Sabouraud* para crescimento de

fungos e leveduras, sendo incubados em estufa por 35°C¹³.

Após 7 dias as placas foram retiradas da estufa e analisadas quanto a sua morfologia. Para identificação dos gêneros fúngicos foi preciso realizar o método de cultura em lâmina, onde em uma placa de petri estéril, foram colocadas duas hastes de vidro e acima delas uma lâmina do mesmo material. Na lâmina adicionou-se um pedaço de meio de cultura previamente cortado e realizou-se estrias com a ajuda de uma alça de Drigalski, e por fim uma lamínula. Após esse processo, as placas permaneceram por mais 7 dias em 35°C para obter crescimento e analisar a morfologia fúngica com a ajuda de um microscópio óptico¹⁴.

Para avaliação da eficácia do ozônio, os livros foram ozonizados com a ajuda de uma caixa plástica com entrada e saída desse gás, em concentração de 100 mg/h pelo tempo de 60 minutos. Após seu uso, amostras foram novamente coletadas, plaqueadas, incubadas em estufa e analisadas conforme a metodologia descrita anteriormente.

3. RESULTADOS

Para este trabalho, foram analisados 20 livros, sendo coletadas amostras dos mesmos, antes e depois da exposição ao ozônio. O Estudo revelou contaminação em grande parte das amostras, com destaque ao gênero *Aspergillus sp.*, presente em 45% delas, e menor incidência dos gêneros *Trichosporum sp.*, *Trichophyton sp.* e *Cladosporium sp.*, como pode-se observar na figura abaixo:

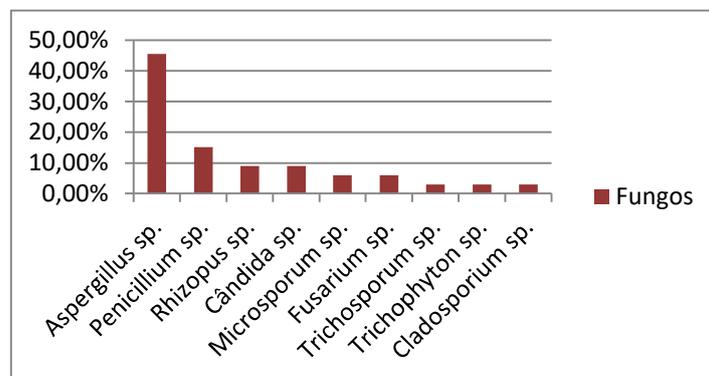


Figura 1. Porcentagem dos gêneros fúngicos encontrados em superfícies de livros

Foram contadas as quantidades de placas com crescimento fúngico, antes e após a exposição ao ozônio, conforme relata a Tabela 1.

Tabela 1. Quantidade de placas com crescimento fúngico antes e após do uso do ozônio

Gênero	Antes	Após ozonização
<i>Aspergillus sp.</i>	9	8
<i>Penicillium sp.</i>	8	7
<i>Rhizopus sp.</i>	3	0

<i>Cândida sp.</i>	5	5
<i>Microsporium sp.</i>	1	1
<i>Trichosporum sp.</i>	3	3
<i>Fusarium sp.</i>	1	1
<i>Trichophyton sp.</i>	1	0
<i>Cladosporium sp.</i>	1	1

4. DISCUSSÃO

De acordo com a Figura 1, o gênero mais encontrado foi *Aspergillus sp.*, o qual é um dos principais causadores de doenças respiratórias em humanos. Ao inalar conídios propagados pelo ar atmosférico, os indivíduos podem apresentar desde reações alérgicas leves, como asma, sinusite fúngica ou até mesmo uma doença mais grave como a aspergilose broncopulmonar alérgica (ABPA)¹⁵.

A ABPA é uma doença não invasiva, mas possui alto poder destrutivo pulmonar. Suas manifestações clínicas variam entre asma até mesmo uma doença fibrótica fatal. Em pacientes imunodeprimidos, é capaz de acometer o cérebro, coração, meninges, fígado e ossos¹⁶.

Outra micose oportunista, é a penicilose, causada por espécies de *Penicillium*, fungo presente em 15% das amostras desse estudo. O perigo em inalar conídios dessas espécies está na capacidade delas em desenvolver penicilose em indivíduos debilitados, começando nos pulmões e podendo vir a se espalhar pelos vasos sanguíneos vizinhos e acometer o líquido cefalorraquidiano (LCR), endocárdio e rins, sendo este, na maioria das vezes fatal¹⁷.

Estudo semelhante foi realizado por Rosa et al (2008)¹⁸, na Universidade Federal de Goiás, analisando além de livros, as prateleiras, pastas de arquivos, revista e o ar da sala do acervo bibliotecário, encontrando vários gêneros fúngicos compatíveis com os desse estudo, estando entre eles *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, e *Rhizopus sp.* Guerra et al (2015)⁴, também analisando superfícies de livros, teve como resultado de sua pesquisa a presença de gêneros fúngicos de importância médica, estando novamente em destaque *Aspergillus sp.* e *Penicillium sp.*

Desta forma, é possível observar que estes fungos são comuns em superfícies de livros, uma vez que foram encontrados em diversos estudos^{4,18} semelhantes a este. É importante conhecer sobre a contaminação destes patógenos em ambientes como bibliotecas ou mesmo acervos pessoais, devido ao alto risco de contaminação e dispersão de esporos e conídios de diferentes gêneros fúngicos, podendo causar infecções fatais.

A presença de fungos em ambientes bibliotecários também se relaciona com a deterioração dos livros, visto que neles há grande concentração de matéria orgânica, como papel, cola de amido, pano, couro. Associando esses fatores com a falta de luminosidade,

umidade e temperatura ótima para o crescimento e propagação dos fungos (20 a 26°C), os livros tornam-se alimento para eles e com o tempo podem aparecer manchas amarronzadas, fissuras, ranhuras, pó espalhado sobre sua superfície causando danos irreversíveis para o acervo bibliotecário¹⁹.

Além de danos a longo prazo, acidentes em bibliotecas são comuns, em resultado da alta proliferação fúngica. Fato acontecido em uma biblioteca pública no município do Rio de Janeiro relatada por Strausz (2007)²⁰, que durante as festas de fim de ano a biblioteca ficou fechada por longo período, com o sistema de ar condicionado desligado em pleno verão e com alto grau de umidade relativa do ar decorrente de intensa chuva no período, ocasionando proliferação, contaminando todo o ambiente e comprometendo todo o acervo.

Para tentar inibir o crescimento fúngico ou até mesmo eliminá-lo de materiais como livros, utilizam-se de várias técnicas de assepsia⁵, uma delas é o ozônio o qual é capaz de destruir microrganismos¹² conforme sua concentração e tempo de exposição. Assim, quando aplicado em livros torna-se um aliado contra acidentes com proliferação fúngica como ocorreu no relato de Strausz (2007)²⁰.

No presente estudo, o tempo de exposição ao ozônio foi de 60 minutos. Na tabela 1 podemos observar a quantidade de placas com crescimento fúngico mesmo após o seu uso e na tabela 2, observamos a eliminação de *Rhizopus sp.* e *Trichophyton sp.*, e a redução de *Aspergillus sp.* e *Penicillium sp.*, subtendendo então, que o tempo e a concentração utilizada não foram suficientes para eliminar todos os fungos desse tipo de superfície.

Não existem ainda estudos com o uso do ozônio em livros, mas comparando com outras superfícies como citada por Pinto et al (2007)²¹ que analisou uma sala de maturação de queijos, podemos observar a dificuldade em eliminar totalmente os fungos desses ambientes. Em seu estudo, observou-se diminuição da proliferação fúngica, devido ao uso do ozônio combinado a limpeza das prateleiras com escovação e raspagem. Mas, como os livros não podem ser submetidos a esse processo, torna-se ainda mais difícil a eliminação desses patógenos.

Ao testar o gás ozônio no controle de fungos em grãos, Beber-Rodrigues (2013)²² observou que houve uma redução da carga total de fungos, contudo os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Aureobasidium* apresentaram-se resistentes às concentrações de O₃ aplicadas. Bem como pode-se observar em pesquisa realizada por Brandani (2014)²³, expondo sementes de soja a determinadas concentrações de ozônio, obtendo seu melhor resultado para *Aspergillus sp.* com concentração de 10mg/L por 2 horas e 20 mg/L por 1,5 horas, contudo, sem eliminação total do mesmo.

Apesar de ser estudado na eliminação de diversos microrganismos, o ozônio mostrou-se mais eficaz em bactérias do que em vírus e fungos, sendo que as bactérias gram-negativas são mais sensíveis ao ozônio

em relação às gram-positivas^{24,25}. Isso pode ser explicado pelo fato das bactérias gram-positivas possuírem uma membrana mais espessa e rígida, devido a uma maior quantidade de camadas de peptidoglicano²⁶. Seguindo o raciocínio de rigidez celular, podemos considerar que os fungos, tanto sua forma leveduriforme quanto o micélio são envoltos por uma camada externa protetora denominada parede celular, sendo esta semelhante à parede celular encontrada em vegetais, com a mesma função, mas quimicamente diferentes^{27,28,29}. A parede celular fúngica representa cerca de 20-30% do peso da célula seca²⁹ tendo sua composição química bastante complexa³⁰. Desta forma, podemos relacionar a rigidez da célula fúngica com a dificuldade em eliminar esse microrganismo em baixas concentrações de ozônio e pouca exposição a esse gás, uma vez que o mesmo age na desestruturação da membrana e/ou parede celular³¹.

5. CONCLUSÃO

Podemos concluir que, os fungos encontrados são patogênicos, ou seja, são capazes de causar riscos à saúde humana. E, quanto ao uso do ozônio na concentração de 100 mg/h durante o tempo de 60 minutos, foi capaz de eliminar da superfície de livros os gêneros *Rhizopus sp.* e *Trichophyton sp.*, diminuiu a quantidade de *Aspergillus sp.* e *Penicillium sp.* enquanto para *Cândida sp.*, *Microsporium sp.*, *Trichosporium.*, *Fusarium sp.*, e *Cladosporium sp.* não houve nenhuma eficácia. Sugere-se novos estudos com concentrações de O₃ maiores e com maior tempo de exposição.

REFERÊNCIAS

- [1] Fragoso MG. Biblioteca na escola. Rev. ACB: Biblioteconomia em Santa Catarina. 2002; 7(1).
- [2] Pantoja LDM, Rizzoli RS, Carvalho BS, Ferreira VC, Galas KS, Fonseca FRM, Paixão GC, et al. Constituição da microbiota aérea de bibliotecas públicas no município de Fortaleza, Estado do Ceará, Brasil. Rebeci. maio./ago., 2012; 17:31-41.
- [3] Belmiro CCL. Identificação da microbiota fúngica anemófila presente em sala de arquivos e três bibliotecas de uma Universidade Pública da Paraíba. [tese] Campina Grande-PB, 2012.
- [4] Guerra OG, Coqueiro BMS, Silva MHR, Souza RF, Machado ARSR, Machado, AM, et al. Livros: fonte do saber ou de infecção?. Revista Resma. 2015; 01.
- [5] Cassares NC. Como Fazer Conservação Preventiva em Arquivos e Bibliotecas. Arquivo do Estado e Imprensa Oficial. São Paulo. 2000.
- [6] Bortoletto ME. Contaminações fúngicas em Ambientes fechados: O caso da biblioteca de Manguinhos. Revista Brasindoor. 1998; 11.
- [7] Garcia CA, Stanziola L, Vieira IS, Naves JHFF, Neves SMN, et al. O gás ozônio na descontaminação de ambientes cirúrgicos. Vet. Not. jul./dez. 2008; 14:37-40.
- [8] Souza CS, Torres LM, Azevedo MPF, Camargo TC, Graziano KU, Lacerda RA, Turrini RNT, et al. Ozônio na esterilização de produtos para assistência à saúde: revisão integrativa de literatura. Ver. Esc. Enferm. USP. 2011; 45(5):1243-9.
- [9] Oliveira AF, Mendes HJ. Aplicações clínicas do ozônio na odontologia. Rev. Saúde. Com. 2009; 5(2):128-140.
- [10] Chiattonne PV, Torres LM, Zambiasi RC, et al. Application of ozone in industry of food. Alimentos e nutrição. Brazilian Journal of food and nutrition. 2008; 19(3): 341.
- [11] Renzo DJ. Pollution control technology for industrial wastewater. NDC. Park Ridge, N.J., 1981.
- [12] Velano H, Nascimento L, Barros L, Panzeri H. In vitro evaluation of the antibacterial activity of ozonized water against *Staphylococcus aureus*. Pesqui. Odontol. Bras. 2001; 15(1):18-22.
- [13] da Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA, Taniwaki MH, dos Santos RFS, Gomes RAR. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. 4ª ed. São Paulo: Livraria Varela; 2010.
- [14] Kern ME, Blevins KS. Micologia médica. Editorial Premier. 1999; 59-61.
- [15] Valle SOR, França AT. Aspergilose broncopulmonar alérgica: panorama atual. Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto. 2008.
- [16] Amorim DS, Maria-Moreira NL, Amorim CDR, Santos SS, Oliveira JM, Nunes CP, Oliveira PC, Gomes AP, et al. Infecções por *Aspergillus spp.*: aspectos gerais. Pulmão RJ. 2004; 13(2).
- [17] de Souza AEF, de Souza EF, Costa HÁ, Wernst Y, Barbosa F, Júnior UPS, Vieira KVM, et al. Microbiota fúngica anemófila de hospitais da rede pública da cidade de Campina Grande-PB. Revista de Biologia e Farmácia. 2010; 04.
- [18] Rosa H, Lemos JÁ, Costa CR, Silva MRR, Fernandes OFL, et al. Ocorrência de fungos filamentosos em acervo da faculdade de medicina da universidade federal de Goiás. Revista de Patologia Tropical. 2008; 37(1):65-69.
- [19] Ribeiro EL. Fungos na biodeterioração de livros em ambientes bibliotecários nos últimos 35 anos (1977-2012). Revista Brasileira de Biblioteconomia e Documentação. 2013; 09.
- [20] Strausz MC, Machado JMH, Brickus LSR. Análise de um acidente por contaminação fúngica em uma biblioteca pública no município do Rio de Janeiro. Revista Brasileira de Saúde Ocupacional. 2007; 32(115):69-78.
- [21] Pinto AT, Schmidt V, Raimundo AS, Raihmer F, et al. Uso de ozônio no controle de fungos em sala de maturação de queijos. Acta Scientiae Veterinariae. 2007; 35(3):333-337.
- [22] Beber-Rodrigues M. Efeito do gás ozônio na qualidade micotoxicológica de arroz (*Oryza sativa L.*) em casca durante a armazenagem. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC; 2013.
- [23] Brandani, EB. Efeito do gás ozônio no controle de fungos e na qualidade fisiológica em sementes de soja. Trabalho de conclusão de curso (graduação). Universidade de Brasília. Brasília/ DF; 2014
- [24] Guzel-Seydim ZB, Greene AK, Seydim AC. Use of ozone in the food industry. LWT - Food Science and Technology. 2004; 37(4):453-60.
- [25] Chiattonne PV, Torres LM, Zambiasi RC. Application of ozone in industry of food. Alimentos e Nutrição. 2008; 3:341-9.
- [26] Murray P, Rosenthal K, Kobayash G. Microbiologia Médica. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan;

2002.

- [27] Junqueira LC, Carneiro J. *Biologia celular e molecular*. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.
- [28] Madigan MT, Martinko JM, Parker J. *Microbiologia de Brock*. 10. ed. São Paulo: Prentice Hall; 2004.
- [29] Smith GJ, Kapteyn JC, Van den ende H, Klis FM. Cell wall dynamics in yeast. *Current Opinoin Microbiology*, Oxford. 1999; 2(4):348-352.
- [30] Adams D. Fungal cell wall chitinases and glucanases. *Microbiology*, Reading. 2004; 150(7):2029-2035.
- [31] Khadre MA, Yousef AE, Kim JG. Microbiological Aspects of Ozone Applications in food: A Review. *Journaul of Food Sciece*. 2001; 66(9):1242-1252.