

AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO POR AMEBAS DE VIDA LIVRE (AVL) E SUA RELAÇÃO COM INFECÇÕES ASSOCIADAS À ASSISTÊNCIA A SAÚDE (IRAS)

Fabiana Maria Ozório da Silva¹
César Gomez-Hernandez²
Karine Rezende de Oliveira³
Poliana Lucena Nunes⁴

Introdução

As Amebas de Vida Livre (AVL) são um grupo de protozoários unicelulares, anfizóicos e ubiqütários que se apresentam em variadas fontes ambientais, tais como: ar, solo, água, poeira, ambientes hospitalares e aparelhos de ar condicionado entre outros, podendo sobreviver e se replicar no meio ambiente sem um hospedeiro. As AVL podem causar infecções oportunistas e não oportunistas, em humanos e outros animais, sendo estas moderadas, graves ou fatais (RIZO-LIENDO et al., 2019; FONSECA et al., 2020; WOPEREIS et al., 2020).

Além de possuírem a capacidade de ampla dispersão, resistência ambiental e potencial patogênico associado a elevados índices de morbimortalidade, as AVL também desempenham uma função carreadora ao atuarem como veículo de bactérias, fungos, algas, cianobactérias e protozoários menores (PUSHKAREVA et al., 2019; REYES-BATLLE et al., 2019; GOMES et al., 2020; LATIFI et al., 2020).

Assim, considerando-se as características ambientais e de endossimbiosismo verificado entre as AVL e diversos patógenos associados a IRAS percebeu-se a necessidade de investigação desses microrganismos em diferentes locais, especialmente naqueles com assistência em saúde. Uma vez que o perfil de seus usuários geralmente se relaciona à imunodeficiência, o contato com as AVL pode favorecer a ocorrência direta de infecção pela ameba e/ou indireta por MRA, e determinar uma provável piora do estado de saúde dos atingidos. Com isso, a

¹Discente do curso de Biomedicina da Faculdade Evangélica de Ceres, E-mail:fabianamariaaozorio@gmail.com.

²Universidade Federal do Triângulo Mineiro, E-mail: cesar_cgh@hotmail.com

³Instituto de Ciências Exatas e Naturais da Universidade de Uberlândia, E-mail:karinerezende@ufu.br

⁴Docente da Faculdade Evangélica de Ceres, E-mail: polianalucena@hotmail.com .

realização deste estudo permitiu avaliar a correlação entre a contaminação ambiental de um hospital do município de Ceres-GO por AVL e MRA associados a IRAS.

Materiais e Métodos

Foi desenvolvido um estudo transversal em pesquisa de campo, com caráter prospectivo de natureza quali-quantitativa para a avaliação da ocorrência de Amebas de Vida Livre (AVL) em amostras ambientais.

As amostras ambientais foram coletadas de um hospital público localizado na cidade de Ceres-GO, através de parceria previamente estabelecida por meio de autorização. Já as análises laboratoriais, por sua vez, foram desenvolvidas no Laboratório de Parasitologia da Faculdade Evangélica de Ceres-FECER ficando a participação do hospital público restrita ao acesso e disponibilização das amostras para avaliação laboratorial.

Foram obtidas 45 amostras de água, biofilme e poeira. Dentre essas, as 15 amostras de água foram coletadas em sacos plásticos estéreis, com volume de aproximadamente 300 ml, a partir de diferentes locais, como: torneiras, bebedouros, chuveiros e etc. Já as 30 amostras de poeira e biofilme, quinze amostras cada, foram obtidas com auxílio de *swabs* estéreis embebidos em três mililitros de água destilada autoclavada armazenada em tubos plásticos cônicos (tipo falcon) de 15 ml. Essas amostras foram adquiridas de bancadas, torneiras, maçanetas, macas e etc.

As amostras foram obtidas dos principais setores cujos os pacientes apresentam algum grau de debilidade imunológica: maternidade, pediatria, clínica médica e cirúrgica. Todas as amostras coletadas tiveram a devida identificação através de código seguindo planilhas do Excel®. E após a coleta acondicionadas em temperatura ambiente em caixas de plástico e encaminhadas para o Laboratório de Parasitologia da Faculdade Evangélica de Ceres-FECER onde ocorreu o devido processamento.

Cada uma das quinze amostras de água foi distribuída em tubos plásticos cônicos (tipo *Falcon*) de 15 ml e centrifugadas a 1500 rpm por cinco minutos. Posteriormente, o sobrenadante foi desprezado com auxílio de uma pipeta plástica (tipo *Pasteur*) de 3 ml, deixando um sedimento de um mililitro. Sendo esse procedimento realizado até a obtenção de um volume final de dois mililitros para cada

amostra, dos quais um mililitro foi diretamente congelado para posterior realização de análise molecular, e, um mililitro semeado em cultura. Se divergindo do processamento de cada uma das 30 amostras de poeira e biofilme que foram deixadas em repouso por 30 minutos para desprendimento do *swab* empregado na coleta, e a partir daí um mililitro foi diretamente congelado para análise molecular e o volume restante semeado em cultura.

Após esse processamento, as amostras foram semeadas em ágar soja 1,5% (FORONDA, 1979) a partir de pipetas plásticas (tipo *Pasteur*) de 3 ml. As culturas estéreis dispostas em tubos plásticos (tipo *Falcon*) de 15 ml. Assim, além da fase sólida do ágar soja 1,5% também havia uma fase líquida composta pela própria amostra. Essas culturas estiveram armazenadas em temperatura ambiente.

As análises microscópicas das culturas se deram a cada quatro a seis dias a partir de exame a fresco em microscopia óptica. Para isso, a fase líquida da amostra foi coletada com uma pipeta plástica (tipo *Pasteur*) de 3 ml e transferida para um tubo plástico (tipo *Falcon*) de 15 ml autoclavada, realizada a centrifugação a 1500 rpm por cinco minutos, desprezando em seguida, o sobrenadante e dez microlitros do *pellet* analisados entre lâmina e lamínula, a partir de esfregaço a fresco em objetivas de 4X, 10X e 40X.

A partir do esfregaço a fresco foi avaliada a presença de trofozoítos e cistos de AVL e após uma alíquota das amostras positivas congelada para posterior processamento molecular. As amostras negativas foram avaliadas por até 30 dias. Após esse período, um mililitro de cada cultura negativa foi congelado para análise molecular e as culturas então desprezadas.

As condições ambientais do hospital avaliado serão obtidas por meio de *checklist* elaborado para pesquisa visando a sua correlação com a positividade das amostras. Todos os dados serão compilados em planilhas do Excel. A análise molecular para a identificação genética das espécies de AVL será realizada no Laboratório de Ciências Biomédicas do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal, ICENP-UFU, Ituiutaba-MG, mediante parceria previamente estabelecida.

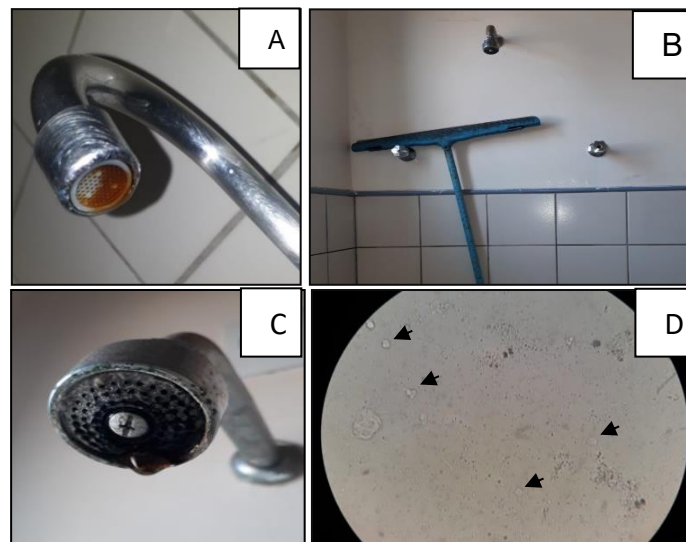
Resultados

Dentre as 45 amostras analisadas houve a positividade de 15,5% (7/45), pela qual 71,4% (5/7) corresponderam a amostras de biofilmes e 28,6% (2/7) a amostras

de água. Todas as amostras de poeira foram negativas para AVL. A positividade das amostras para as AVL esteve associada a falhas de higienização e descontaminação ambiental.

Quanto ao local, foi verificado que 71, 4% (5/7) das amostras positivas corresponderam ao setor de clínica médica do hospital avaliado, o qual atende pacientes com elevado grau de debilidade imunológica. O que, por sua vez, representa importante sinal de alerta, visto que essas amebas podem causar infecção grave em imunocomprometidos. É relevante ressaltar também que as AVL têm sido associadas à veiculação de diversos microrganismos associados a Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS), inferindo risco a população local risco a população local.

Figura 01. Imagem representativa de locais de coleta que apresentaram positividade para Amebas de Vida Livre (AVL). Torneira da pia da enfermaria (A) e chuveiro dos quartos (B e C). Trofozoítos de AVL em exame a fresco após cultivo em ágar soja 1,5% (D).



FONTE – Dos

autores (2022).

Conclusão

Concluiu-se que a presença de AVL nos locais avaliados pode representar risco a população exposta, especialmente aos com debilidade imunológica, sendo importante a adoção de medidas específicas de higienização ambiental desses locais, uma vez que além de causarem danos diretos, as AVL podem também carrear patógenos associados à Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS).

Agradecimentos

Este projeto teve o apoio da Associação Educativa Evangélica, a partir de bolsa PIBIC concedida.

Referências

FORONDA, A.S. **Observações sobre Amebas de Vida Livre potencialmente patogênicas**. Tese (Doutorado em Ciências Biomédicas) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 1979.

FONSECA, J. D. G. et al. Identification of T3 and T4 Genotypes of *Acanthamoeba* sp. in Dust Samples Isolated from Air Conditioning Equipment of Public Hospital of Ituiutaba-MG. **Current microbiology**, v. 77, n. 5, p. 890-895, 2020.

GOMES, T. S. et al. Presence and interaction of free-living amoebae and amoeba-resisting bacteria in water from drinking water treatment plants. **The Science of the total environment**, v. 719, p. 137080, 2020.

LATIFI, A. et al. Isolation and identification of free-living amoeba from the hot springs and beaches of the Caspian Sea. **Parasite epidemiology and control**, v. 10, p. e00151, 2020.

PUSHKAREVA, V. I. et al. Experimental *Listeria-Tetrahymena*-Amoeba food chain functioning depends on bacterial virulence traits. **BMC ecology**, v. 19, n. 1, p.47, 2019.

REYES-BATLLE, M. et al. Isolation and molecular identification of free-living amoebae from dishcloths in Tenerife, Canary Islands, Spain. **Parasitology research**, v. 118, n. 3, p. 927-933, 2019.

RIZO-LIENDO, A. et al. In Vitro Activity of Statins against *Naegleria fowleri*. **Pathogens**, v. 8, n. 3, p. 122, 2019.

WOPEREIS, D. B. et al. Free-living amoebae and their relationship to air quality in hospital environments: characterization of *Acanthamoeba* spp. obtained from air-conditioning systems. **Parasitology**, v. 174, n. 7, p. 782-790, 2020.