

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

JEAN PHELLIPE MARQUES DO NASCIMENTO

**Contaminação microbiológica do ar, detecção de genes de resistência e de síntese de biofilmes em aeronaves comerciais**

Maceió - AL

2019

JEAN PHELLIPE MARQUES DO NASCIMENTO

**Contaminação microbiológica do ar, detecção de genes de resistência e de síntese de biofilmes em aeronaves comerciais**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Alagoas para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antônio Ferreira da Silva

Co-orientador: Prof. Dr. Eurípedes Alves da Silva Filho

Maceió - AL

2019

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho

N244c Nascimento, Jean Phellipe Marques do.  
Contaminação microbiológica do ar, detecção de genes de resistência e de síntese de biofilmes em aeronaves comerciais / Jean Phellipe Marques do Nascimento. – 2019.  
124 f. : il. color.

Orientador: Luiz Antônio Ferreira da Silva.  
Co-orientador: Eurípedes Alves da Silva Filho.  
Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Maceió, 2019.

Bibliografia: f. 92-124.

1. Poluição do ar. 2. Aeronaves. 3. Fungos. 4. Antibacterianos. 5. Biofilmes. I. Título.

CDU: 615.281.9



Universidade Federal de Alagoas  
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

ICBS - UFAL – Campus A. C. Simões  
Av. Lourival Melo Mota, S/N  
Cidade Universitária – Maceió-AL  
CEP: 57072-900  
E-mail: ppgcs9@gmail.com  
Fone: 82 3214 1850

## Folha de Aprovação

Jean Phellipe Marques do Nascimento

Contaminação microbiológica do ar, detecção de genes de resistência e de síntese de biofilmes em aeronaves comerciais

Tese submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Alagoas e aprovada em 12 de Abril de 2019.

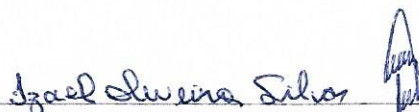
### Banca Examinadora



Prof. Dr. Lucas Anhezini de Araujo – (UFAL)



Prof. Dr. Dalmo Almeida de Azevedo - (UFAL)



Prof. Dr. Izael Oliveira Silva – (UNINASSAU Maceió)

## **Dedicatória**

*Ao meu Deus e Pai, que me concedeu toda a capacidade para concretização desse objetivo, bem como a toda a minha família que esteve sempre ao meu lado.*

## **Agradecimentos**

Ao meu bom e eterno Deus por todas as experiências que foram vivenciadas ao longo deste período. Não há como expressar em palavras a gratidão ao meu Deus por todo o seu cuidado e socorro em vários momentos e por sua voz a me falar quando em meus momentos de oração e lágrimas que só foram vistas por ele.

Agradeço a Deus também por minha família que ao longo desta jornada esteve a me apoiar em tudo que precisei. Aos meus pais, Elizabete Marques da Silva e Mauro Marques do Nascimento que são os melhores pais que Deus poderia ter me concedido. Quero ser grato também ao meu irmão Edgar Marques, sua esposa Niedja Brenda e meu sobrinho Nicolas Estevam, que como família sempre estiveram perto.

Sou grato a Deus por um grande presente recebido em meu doutoramento, a minha futura esposa Mykaella Andrade de Araújo, que por diversas vezes esteve comigo durante os desafios enfrentados. Quero dizer que te amo, minha princesa! Que o bom Deus continue a nos abençoar hoje e por todos os dias de nossas vidas. Que nele sejamos felizes e conquistemos muitas vitórias, para honra e glória do nome dEle. Quero em algumas palavras também agradecer pelos cuidados e todo o carinho por parte de minha sogra dona Antônia e meu sogro seu Nelson que como pais me cercaram de bênçãos.

Gostaria de agradecer também ao professor Eurípedes Alves pelo aceite em ser meu orientador, mesmo tendo eu chegado no laboratório sem conhecer de sua linha de pesquisa, ele confiou em mim e me guiou neste objetivo. Agradeço pelos conselhos, amizade e por todo suporte que me permitiram finalizar este trabalho. Agradeço ainda pelos investimentos em mim que não foram poupados para me permitir ampliar meus conhecimentos.

À Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), na pessoa da dona Nazaré, dona Sônia, seu Wellington Lyra, Goretti, seu Carlos e dona Maria todo o meu agradecimento. Agradeço a parceria e por ter comprado nosso projeto de pesquisa, não medindo esforços para nos permitir tocar nossas coletas de dados.

Gostaria de agradecer a todos que fazem parte do Laboratório de Genética e Microbiologia Aplicada e Laboratório de Ambientes Climatizados, por toda a ajuda nas análises e coletas. Especialmente agradeço ao Diogo que foi meu parceiro de coleta em grande parte do tempo, além disso agradeço aos estagiários Fernanda, Rebeca, Renata e João. Deixo minha gratidão também a Mirna e a Daniela por toda ajuda no trabalho com os fungos.

Aos funcionários do ICBS, que trabalham na coordenação, direção e limpeza.

Às instituições CAPES, FAPEAL e UFAL pelo apoio financeiro.

Que Deus abençoe a todos!

## Epígrafe

*“Que darei eu ao Senhor, por todos os benefícios que me tem feito?  
Tomarei o cálice da salvação, e invocarei o nome do Senhor.”*

Salmos 116:12,13.

## RESUMO

**Introdução:** O transporte aéreo de passageiro pode ser apontado como um dos principais meios pelo qual a disseminação mundial de patógenos altamente prejudiciais à saúde humana ocorre. Não apenas isso, a problemática da resistência bacteriana a antibióticos pode ser amplificada para todas as regiões do mundo, tendo o ar como um veículo de transmissão extremamente eficaz. **Objetivos:** a) Monitorar a qualidade do ar interior climatizado em aeronaves comerciais e analisar a diversidade microbiana presente e b) Proceder o rastreamento de genes de resistência a antibióticos e de síntese de biofilmes nas amostras coletadas. **Métodos:** Coletas do ar interior climatizado de aeronaves comerciais foram feitas durante o período em que elas estavam em solo e a amostragem foi feita na cabine dos pilotos e no corredor onde ficam passageiros e tripulação. Para as análises foram selecionados voos com rota Nacional e Internacional e estas seguiram o estabelecido na Resolução nº 09/2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, que estabelece padrões da qualidade do ar em ambientes artificialmente climatizados de uso público e coletivo. A contaminação microbiológica do ar foi avaliada por meio da pesquisa de aerossóis fúngicos e bacterianos e estes foram coletados por meio da utilização de amostrador de bioaerossóis portátil. O ar captado foi impactado em placas de Petri contendo meios específicos como ágar dicloran rosa bengala clorafenicol para fungos e ágar sangue para bactérias. Os microrganismos coletados tiveram sua identificação feita com base nas características macroscópicas e microscópicas para os fungos e com base na análise do material genético para bactérias. Além disso, foi feito rastreamento para a produção de micotoxinas em fungos e rastreamento de genes de resistência a antibióticos e de síntese de biofilmes em bactérias. **Resultados:** Houve uma considerável diversidade de fungos nas amostras coletadas, com a identificação de gêneros com espécies potencialmente patogênicos como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium* e *Paecilomyces*. Em relação a produção de micotoxinas, somente três amostras fúngicas foram positivas em nosso rastreamento. Bactérias Gram negativas e positivas com potencial patogênico foram encontradas, com destaque para *Acinetobacter baumannii*, *Serratia marcescens*, *Moraxella osloensis*, *Streptococcus salivarius* e *Staphylococcus* spp. O rastreamento de genes de resistência a antibióticos revelou a presença dos seguintes genes: *mecA* (resistência à meticilina/oxacilina), *blaZ* (resistência a penicilina), *ermA*, *ermB* e *ermC* (resistência cruzada aos macrolídeos, lincosamidas e estreptogramina B). Em relação a síntese de biofilmes, somente alguns isolados da espécie *Staphylococcus epidermidis* exibiram a detecção conjunta dos genes *icaAD*, o que está relacionado diretamente com a formação de biofilmes por estas bactérias. A presença dos microrganismos possivelmente patogênicos aqui descritos, bem como o relato da ocorrência de genes de resistência e de produção de biofilmes corrobora com as evidências de que o ar constitui um importante meio para disseminação de microrganismos virulentos, colocando em sérios riscos a saúde de passageiros e tripulação a bordo. Este é o primeiro estudo no Brasil a avaliar a qualidade do ar interior climatizado em aeronaves comerciais estes dados alertam para a necessidade de se considerar o monitoramento e avaliações dos fatores que possam estar envolvidos na presença de fungos e bactérias dentro do ambiente de cabine de aeronaves.

**Palavras-chave:** Qualidade do ar, aeronaves comerciais, fungos, resistência bacteriana, biofilmes.



## ABSTRACT

**Introduction:** Passenger air transport can be pointed out as one of the main means by which the worldwide spread of highly harmful pathogens to human health occurs. Not only that, the problem of bacterial resistance to antibiotics can be amplified for all regions of the world, with air as an extremely effective transmission vehicle. **Objectives:** a) To monitor the quality of indoor air conditioning in commercial aircraft and to analyze the microbial diversity present; and b) To carry out the tracing of antibiotic resistance genes and biofilm synthesis in the samples collected. **Methods:** Air-conditioned indoor air collection of commercial aircraft were made during the period when they were on the ground and sampling was done in the cabin of the pilots and in the corridor where they are passengers and crew. For the analyzes, flights with national and international route were selected and these followed the established in Resolution nº 09/2003 of the National Agency of Sanitary Surveillance, which establishes air quality standards in artificially acclimatized environments of public and collective use. Microbiological contamination of the air was evaluated by means of the research of fungal and bacterial aerosols and these were collected through the use of a portable bioaerosol sampler. The captured air was impacted in Petri dishes containing specific media like agar dichloran rose bengal chlorafenicol for fungi and blood agar for bacteria. The collected microorganisms had their identification made based on the macroscopic and microscopic characteristics for the fungi and based on the analysis of the genetic material for bacteria. In addition, screening was done for fungal mycotoxins production and screening of antibiotic resistance genes and for biofilms synthesis in bacteria. **Results:** There was a considerable diversity of fungi in the samples collected, with the identification of genera with potentially pathogenic species such as *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium* and *Paecilomyces*. Regarding the production of mycotoxins, only three fungal samples were positive in our screening. Gram negative and positive bacteria with pathogen potential were found, with emphasis on *Acinetobacter baumannii*, *Serratia marcescens*, *Moraxella osloensis*, *Streptococcus salivarius* and *Staphylococcus* sp. Screening of antibiotic resistance genes revealed the presence of the following genes: *mecA* (resistance to methicillin/oxacillin), *blaZ* (penicillin resistance), *ermA*, *ermB* and *ermC* (cross-resistance to macrolides, lincosamides and streptogramin B). In relation to the biofilms synthesis, only a few isolates of the species *Staphylococcus epidermidis* exhibited joint detection of *icaAD* genes, which is directly related to the biofilm formation by these bacteria. The presence of possibly pathogenic microorganisms described here, as well as the report of the occurrence of resistance genes and biofilm production, corroborates the evidence that air is an important medium for the dissemination of virulent microorganisms, posing serious risks to the health of passengers and crew on board. This is the first study in Brazil to evaluate indoor air quality in commercial aircraft. These data point to the need to consider the monitoring and evaluations of factors that may be involved in the presence of fungi and bacteria within the aircraft cabin environment.

**Keywords:** Air quality, commercial aircraft, fungi, bacterial resistance, biofilms.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química das principais micotoxinas.....	22
Figura 2 – Transmissão de <i>Legionella</i> para seres humanos.....	25
Figura 3 – Crescimento, reprodução, disseminação de microorganismos em sistemas HVAC.....	27
Figura 4 – Mecanismos de ação e classificação dos principais agentes antibacterianos.....	30
Figura 5 – Alvos bacterianos e antibióticos ativos contra <i>MRSA</i> .....	34
Figura 6 – Contribuição do ambiente na transmissão e disseminação de bactérias resistente a antimicrobianos para humanos.....	36
Figura 7 – Etapas da formação de biofilmes em bactérias.....	39
Figura 8 – Descrição do sistema de ar condicionado em aeronaves comerciais.....	41
Figura 9 – Transmissão de doenças infecciosas por gotas, fômites e aerossóis.....	43
Figura 10 – Seleção das colônias.....	50
Figura 11 – Esquematização geral das etapas para identificação molecular das amostras.....	52
Figura 12 – Organização genômica do óperon <i>ica</i> em <i>S. aureus</i> ATCC 35556.....	54
Figura 13 – Valores de temperatura, umidade relativa e concentração de CO <sub>2</sub> no das coletas de ar interior climatizado nas aeronaves comerciais e do ar atmosférico.....	56
Figura 14 – Concentração fúngica das coletas de ar interior climatizado nas aeronaves e do ar atmosférico.....	60
Figura 15 – Rastreamento para produção de micotoxinas.....	66
Figura 16 – Concentração bacteriana das coletas de ar interior climatizado nas aeronaves e do ar atmosférico.....	67
Figura 17 –Matriz bidimensional representando o percentual de identidade de comparações pareadas com base em sequências parciais do gene 16S DNAr de bactérias obtidas neste estudo e outras sequências disponíveis obtidas no GenBank.....	71
Figura 18 – Matriz bidimensional representando o percentual de identidade de comparações pareadas com base em sequências parciais do gene <i>rpoB</i> de bactérias obtidas neste estudo e outras sequências disponíveis obtidas no GenBank.....	72
Figura 19 – Árvore filogenética <i>Neighbor joining</i> gerada pelo software SeaView 4, construída com base no alinhamento múltiplo de sequências parciais do gene <i>tuf</i> de <i>Staphylococcus</i> . O modelo de substituição de nucleotídeos utilizado foi Kimura-2-parâmetros (K2P). Os números nos nós indicam valores de bootstrap em percentagem (1000 bootstraps). <i>Macrocooccus caseolyticus</i> foi utilizado como outgroup.....	73

Figura 20 – Matriz bidimensional representando o percentual de identidade de comparações pareadas com base em sequências parciais do gene <i>tuf</i> de bactérias obtidas neste estudo e outras sequências disponíveis obtidas no GenBank.....	75
Figura 21 – Prevalência de <i>Staphylococcus</i> em amostras de ar de aeronaves comerciais.....	76
Figura 22 – Gel de eletroforese visando identificação específica e detecção de genes de resistência em <i>Staphylococcus</i> .....	78
Figura 23 – Gel de eletroforese da detecção do gene <i>mecA</i> e genes para formação de biofilmes em <i>Staphylococcus</i> .....	78
Figura 24 – Detecção individual dos genes de resistência a antibióticos em <i>Staphylococcus</i> ...	82
Figura 25 – Frequência de detecção dos genes relacionados à síntese de biofilmes em <i>Staphylococcus</i> .....	87

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Micotoxinas e seus efeitos na saúde animal e humana.....	23
Tabela 2 – Bactérias patogênicas e não patogênicas encontradas em ambientes artificialmente climatizados.....	28
Tabela 3 – Algumas doenças relacionadas a viagens aéreas.....	45
Tabela 4 – Principais doenças respiratórias relacionadas a viagens aéreas.....	46
Tabela 5 – Sequência dos primers, tamanho dos amplicons e temperatura de anelamento dos primers utilizados para identificação molecular das bactérias.....	52
Tabela 6 – Sequência dos primers utilizados para rastreamento de genes de resistência e de síntese de biofilmes.....	54
Tabela 7 – Espécies de fungos encontradas no ar interior climatizado de aeronaves comerciais .....	63
Tabela 8 – Espécies bacterianas identificadas pelo sequenciamento parcial dos genes 16S DNAr, <i>rpoB</i> , <i>tuf</i> e utilização de primers espécie-específicos.....	70
Tabela 9 – Detecção de genes de resistência e genes para síntese de biofilmes entre as espécies identificadas.....	79

## **LISTA DE QUADROS**

Quadro 1 – Sintomas, sinais e doenças decorrentes da exposição a fungos aéreos.....	20
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AB	Bactérias transportadas pelo ar (Do inglês, Airborne Bacteria)
AF	Fungos transportados pelo ar (Do inglês, Airborne Fungi)
AFs	Aflatoxinas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ARGs	Genes de Resistência a Antibióticos (Do inglês, Antibiotic Resistance Genes)
BHI	Infusão Cérebro e Coração (Do inglês, Brain Heart Infusion)
CA-MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina/oxacilina de origem na comunidade
CDC	Centros de Controle e Prevenção de Doenças (Do inglês, Centers for Disease Control and Prevention)
COVM	Compostos orgânicos voláteis microbianos
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DON	Desoxinivalenol
DRBC	Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol
EDR	Extensivamente droga resistente
FAA	Administração de Aviação Federal
HA-MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina/oxacilina de origem hospitalar
HEPA	Filtros de ar com alta eficiência na separação de partículas (Do inglês, High Efficiency Particulate Arrestance)
HVAC	Aquecimento, ventilação e ar condicionado (Do inglês, Heating, Ventilation, and Air Conditioning)
IARC	Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (Do inglês, International Agency for Research on Cancer)
K2P	Kimura 2 parâmetros
MDR	Multidroga resistente
MLS <sub>B</sub>	Macrólídeos, Lincosamidas e Estreptogramina do grupo B
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina/oxacilina
MR-SCoN	<i>Staphylococcus coagulase negativo</i> resistentes à meticilina/oxacilina

MSCRAMMS Componentes da superfície microbiana que reconhecem moléculas da matriz (Do inglês, Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules)

OTA Ocratoxinas

PABA Ácido p-aminobenzoico (Do inglês 4-Aminobenzoic acid)

PAT Patulina

PCR Reação em Cadeia da Polimerase

PIA Adesina intercelular polissacarídica (Do inglês, polysaccharide intercellular adhesin)

PLP Proteínas ligadoras de penicilina

RNA Ácido Ribonucleico

SCCmec Cassete cromossômico Estafilocócico (Do inglês, *Staphylococcal Cassete Chromosomal*)

SCoN *Staphylococcus* coagulase negativo

SDT Ferramenta de demarcação de espécie (Do inglês, Species Demarcation Tool)

TE Tris-EDTA

UFC Unidade formadora de colônia

WHO/IUIS Banco de dados de alérgenos fúngicos, mantido pela Organização Mundial da Saúde e Sociedade Imunológica Internacional (Do inglês, World Health Organization/International Union of Immunological Societies)

ZON Zearalenona

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b>	5
<b>ABSTRACT</b>	6
<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</b>	7
<b>LISTA TABELAS</b>	9
<b>LISTA DE QUADROS</b>	10
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b>	11
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	14
<b>2. OBJETIVOS GERAIS</b>	16
<b>2.1 Objetivos específicos</b>	16
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b>	17
3.1 Bioaerossóis fúngicos e saúde humana	17
3.2 Bioaerossóis bacterianos e saúde humana	23
3.3 Antibióticos e resistência bacteriana em <i>Staphylococcus</i>	30
3.3.1 Disseminação de bactérias resistentes a antibióticos	35
3.4 Biofilmes em <i>Staphylococcus</i>	37
3.5 Viagens e doenças infecciosas	40
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b>	47
4.1 Coleta de ar	47
4.2 Análise microbiológica	48
4.2.1 Bioaerossóis fúngicos	48
4.2.2 Rastreamento de Micotoxinas	49
4.2.3 Bioaerossóis bacterianos	49
4.2.4 Identificação molecular das bactérias	50
4.2.5 Identificação de genes de resistência e síntese de biofilmes em <i>Staphylococcus</i>	53
4.2.6 Comparação das sequências e análises filogenéticas	55
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	56
5.1 Análises da temperatura, umidade relativa, concentração de co <sub>2</sub> e aerodispersóides	56
5.2 Análises de bioaerossóis: fungos filamentosos	60
5.3 Análises de bioaerossóis: bactérias	66
5.4 Análises de bioaerossóis: diversidade de <i>Staphylococcus</i>	72
5.4.1 Detecção de genes de resistência em <i>Staphylococcus</i>	77
5.4.2 Detecção de genes de síntese de biofilmes em <i>Staphylococcus</i>	85
<b>6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS</b>	91
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	92



## 1. INTRODUÇÃO

Desde a revolução industrial e o avanço tecnológico iniciado a partir do século XX, grande parte do nosso tempo (cerca de 80%) tem sucedido com a presença em ambientes artificialmente climatizados. Sem dúvidas, estes lugares oferecem um padrão de conforto e satisfação ímpar, concorrendo para que cada vez mais tempo nestes espaços sejam apreciados, independentemente se é para o desenvolvimento de atividades laborais ou até mesmo para o desfrute de momentos de lazer (KRÜGER; DRACH, 2016).

Contudo, a qualidade do ar respirado nestes ambientes deve ser levada em consideração, sobretudo no que diz respeito a possível ocorrência de agravos à saúde humana (FERNÁNDEZ et al., 2013). Segundo a Organização Mundial da Saúde, milhões de mortes anualmente em todo o mundo podem ser atribuídas a contaminantes presentes no ar que circula em ambientes fechados (WHO, 2009), classificando este fenômeno como sendo o décimo fator de risco em importância para a saúde da população em geral (WHO, 2002). Microrganismos diversos podem comprometer a qualidade do ar, o que concorrerá para a exposição humana a agentes potencialmente infecciosos (FERNSTROM; GOLDBLATT, 2013).

Fungos, bactérias e vírus podem ser responsáveis pelo acometimento de sérias doenças que podem ter o ar como um dos principais modos de disseminação (GUPTA et al., 2012). O ambiente de cabine em aeronaves comerciais como qualquer outro ambiente artificialmente climatizado, pode servir como local para dispersão de importantes patógenos infecciosos. Não apenas doenças, mas também micróbios altamente problemáticos como aqueles que apresentam resistência a antibióticos e fatores de virulência diversos podem ser encontrados ocorrendo neste ambiente específico, permitindo assim a sua dispersão global e a entrada em áreas sem nenhum contato prévio. Estudos recentes têm relatado a presença de vírus e bactérias dentro do ambiente de cabine, e esta contaminação tem sido observada tanto em superfícies dentro da aeronave como também no ar (LIMEYER; ADLHOCH, 2016; KORVES et al., 2013).

No Brasil, questões relativas ao monitoramento da qualidade do ar têm sido bem estabelecida, sobretudo, pelo sancionamento da Lei 13.589/2018, suportada pela Resolução N°9 e portaria 3.523/98, estabelecendo a obrigatoriedade da análise da qualidade do ar em ambientes artificialmente climatizados de uso público e coletivo e também a elaboração do plano de manutenção, operação e controle dos equipamentos utilizados. Isso tem permitido que uma variedade de ambientes como hospitais, escolas, igrejas e repartições públicas e privadas estejam sendo monitoradas quanto a presença e exposição aos vários tipos de agravos à saúde.

Entretanto, questões relativas a situação da qualidade do ar respirado na aviação civil brasileira ainda não tem sido levada em consideração, o que pode resultar em um menosprezo aos riscos já claramente evidenciados pela literatura.

Diante do exposto, o monitoramento da qualidade do ar interior nas aeronaves comerciais que atualmente realiza o transporte aéreo de passageiros no Brasil justifica-se pelo fato de nos permitir compreender a diversidade microbiana presente no ar, bem como verificar de que forma a saúde humana tem sido influenciada no quesito ocorrência e possível transmissão de microrganismos causadores ou não de doenças. Outrossim, fornecerá um panorama preliminar que poderá servir como direcionamento para a elaboração de regulamentações visando a segurança em voo de todos aqueles que dependem do transporte aéreo para atender as suas necessidades.

## **2. OBJETIVO GERAL**

Monitorar a qualidade do ar interior climatizado em aeronaves comerciais e analisar a diversidade microbiana presente.

### **2.1 Objetivos específicos**

- ✓ Investigar a presença de fungos cujos esporos estejam eventualmente sendo disseminados via sistema de climatização das aeronaves;
- ✓ Proceder o rastreamento de fungos com genes ativos para produção de micotoxinas;
- ✓ Verificar a contaminação aérea por bactérias possivelmente patogênicas;
- ✓ Rastrear genes de resistência a antimicrobianos;
- ✓ Avaliar a presença de genes relacionados a síntese de biofilmes.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Bioaerossóis fúngicos e saúde humana

Ambientes com ar interior representam um dos muitos locais de ocorrência e importância no que diz respeito a presença de fungos. Suas características adaptativas favorecem a sua dispersão global, permitindo a sobrevivência desses microrganismos em vários tipos de habitats (NEVALAINEN; TÄUBEL; HYVÄRINEN, 2015).

Grande parte dos fungos chegam aos ambientes artificialmente climatizados principalmente através do ar externo, sendo este uma importante fonte de contaminação biológica (BURGE, 2018; CRAWFORD et al., 2015). A abertura de portas e janelas favorece a diminuição/diluição da concentração fúngica interior, entretanto, pode também favorecer o aumento da concentração e até mesmo permitir a entrada de espécies que não estavam presentes anteriormente. Embora o ar externo contribua significativamente para a composição e aumento da concentração, essa não é a única maneira pelo qual a contaminação aérea pode ocorrer. Atividades domésticas e cotidianas podem impactar consideravelmente as concentrações de esporos no ar (JÜRGENSEN; MADSEN, 2016; LEHTONEM; REPONEM, 1993).

A ocupação humana também pode ser considerada um importante fator pelo qual o aumento da concentração fúngica pode ocorrer (LAX et al., 2014). Hospodsky e colaboradores (2015) ao estudarem a influência da ocupação de salas de aula na concentração de bioaerossóis no ar interior, constataram que altas concentração de esporos fúngicos estavam fortemente associadas ao momento em que as salas estavam ocupadas pelos estudantes. Manipulação de material orgânico (lenha e vasos de plantas) (HAMEED et al., 2015), de roupas de cama, pêlos de cães e gatos, a pele humana, cabelos e unhas e vestimentas também podem influenciar positivamente para o aumento da concentração fúngica (PITKARANTA et al., 2008).

Os fatores considerados preponderantes em influenciar a presença e o desenvolvimento de fungos em ambientes com ar interior são umidade, temperatura e a disponibilidade de nutrientes (TANG; KUEHN; SIMCIK, 2015). Baughman e Arens (1996) afirmam que materiais de construção como madeira, celulose, papel de parede, materiais de insulação orgânica, material têxtil, colas e tintas podem conter nutrientes como carboidratos e proteínas, que servem muito bem ao crescimento fúngico.

Em geral, os valores de temperatura e umidade para o crescimento de fungos podem variar dependendo da espécie em questão. Ambientes artificialmente climatizados possuem valores de temperatura ótimo para o crescimento de fungos, situando na faixa de 10-35 °C

(HESELTINE; ROSEN, 2009). Abbasi e Samaei (2018) avaliando o efeito da temperatura sobre o crescimento fúngico em um hospital, verificaram que a 25 °C houve melhor crescimento dos fungos no ambiente. Temperaturas de 15 °C e 25 °C estiveram relacionadas ao maior crescimento e produção de compostos orgânicos voláteis microbianos produzidos por fungos dos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Periconia* (POLIZZI et al., 2012). Hagiwara e colaboradores (2017) observaram que temperatura de 25 °C pode influenciar de forma diferenciada conídios de *Aspergillus fumigatus*, um importante fungo encontrado em ambientes com ar interior, de forma a favorecer seu crescimento, sobrevivência e tolerância a estresse.

Para umidade relativa, valores abaixo de 75% são relatados como limitantes do crescimento fúngico em edifícios (ROWAN et al., 1999). Condições críticas de umidade relativa para o crescimento microbiológico em materiais de construção foi definida por Johansson e colaboradores (2005). Eles estabeleceram que, a depender do grupo de materiais (madeira, concreto e outros) o crescimento poderia acontecer em valores de umidade relativa mínimo de 75% e máximo de 95%. Crescimento em materiais de construção foi observado também em valores de temperaturas de 5 °C, 10 °C, 20 °C e 25 °C, bem como em umidade relativa de 78% a 95% (NIELSEN et al., 2004). Valores de umidade relativa acima de 85% tem sido fortemente relacionado ao crescimento de fungos associado a partículas de poeira em ambientes com ar interior (DANNEMILLER; WESCHLER; PECCIA, 2017). Resultados da análise da qualidade do ar em uma Universidade da Nigéria demonstrou que altas concentrações fúngicas foram observadas, e a faixa de umidade relativa nestes ambientes variaram de 77-95% sob temperaturas de 28-29 °C (EKHAISE; EKHOSUEHI, 2018). Ao passo que temperatura e umidade relativa constituem importantes fatores em determinar o crescimento e permanência de fungos aéreos contaminantes, o manejo destes parâmetros pode ser de igual modo importante para redução da concentração de esporos em suspensão, protegendo os ocupantes expostos (MØLLER et al., 2017; TANG, 2009).

Muitos são os gêneros de fungos encontrados em ambientes com ar interior. De acordo com a especificidade do lugar, as populações podem variar e podem ser observadas predominância de alguns em relação a outros. Um dos principais fungos encontrados nestes locais são *Aspergillus*. Estas espécies são associadas com doenças graves em humanos chamada de Aspergiloses (doença pulmonar invasiva, doença invasiva das vias aéreas, doença cutânea invasiva), além do fato de produzirem alérgenos químicos, que frequentemente, estão associados a quadros de alergias em indivíduos sensitivos e na exacerbação do quadro de asma (CHALLA, 2018). Mousavi et al. (2016) abordaram em sua revisão de literatura as espécies de

*Aspergillus* mais comumente encontradas em ambientes com ar interior, assim como os riscos à saúde associados à sua exposição. Uma revisão abordando a concentração e flora de fungos viáveis no ar de ambientes escolares, constatou nestes ambientes, os gêneros *Cladosporium* e *Penicillium* como os mais prevalentes (SALONEN et al., 2015). Outros gêneros de fungos encontrados são *Alternaria*, *Rhizopus*, *Curvularia* (REDDY; SRINIVAS, 2017; SHARPE et al., 2015), *Botrytis*, *Acremonium* (ŁUKASZUK et al., 2016), *Chrysosporium*, *Fusarium*, *Trichosporon*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula* (SEPAHVAND et al., 2017), *Candida* (LANDRY et al., 2018), *Scopulariopsis* (WOUDENBERG et al., 2017), *Talaromyces* (CHEN et al., 2016), *Chaetomium* (WANG et al., 2016), *Stachybotrys*, *Arthrimum*, *Mucor*, *Absidia* e *Geotrichum* (SMOKE, 2018).

A exposição a aerossóis fúngicos pode levar a vários efeitos adversos à saúde humana (quadro 1). Irritações, alergias, infecções pulmonares ou cutâneas e micotoxicoses são alguns dos problemas relatados (BAXI et al., 2016). Alguns fungos podem ser também produtores de moléculas com potencial genotóxico e carcinogênicos (CAREY et al., 2012). Algumas revisões de literatura têm demonstrado uma clara associação entre umidade, crescimento fúngico em edifícios e o desenvolvimento de sintomas entre os ocupantes após exposição a aerossóis fúngicos, muitos dos quais levando a sérios problemas de saúde (MENDELL et al., 2011; BORNEHAG et al., 2004). Dennis e Thrasher (2016), relataram o caso de uma mulher que após exposição fúngica em um ambiente com alta umidade desenvolveu um quadro de rinosinusite crônica. Polineuropatia desmielinizante inflamatória crônica tem sido também associada à exposição fúngica em ambientes com níveis consideráveis de umidade (LIEBERMAN; CURTIS; CAMPBELL, 2017). Quando presente, fungos podem produzir compostos orgânicos voláteis microbianos (COVM), alérgenos químicos e micotoxinas, que são responsáveis por muitos efeitos danosos à saúde, principalmente quando em longos período de exposição.

Compostos orgânicos voláteis microbianos (COVM) refere-se a uma variedade de compostos produzidos pelo metabolismo primário ou secundário de fungos e bactérias. Atualmente, grande é a variedade dos COVMs identificados e sua concentração no ar interior ocorre na faixa do  $\text{ng/m}^3$  a  $\mu\text{g/m}^3$  (KORPI et al., 2009). A emissão destes compostos pode ser de fácil percepção no ambiente, pois odores característicos (odor de mofado) podem ser sentido pelos ocupantes, sobretudo em locais com grande crescimento fúngico (NEVALAINEN; TÄUBEL; HYVÄRINEN, 2015). Trabalhos de revisões publicados por Korpi et al. (2009) e Thorne e Reenman (2012), descrevem muito bem alguns dos efeitos relacionados à exposição em curto e longo prazo aos COVM, inclusive em ambientes artificialmente climatizados.

Muitos dos sintomas relacionados à síndrome do edifício estão associados à exposição a bioaerossóis fúngicos e seus metabólitos (SAHLBERG et al., 2013). Araki et al. (2010), concluíram que a presença de COVMs em amostras de ar em uma residência familiar esteve relacionada a sintomas de irritação do nariz, olhos e membranas mucosas da garganta, referido pelos moradores do local de estudo. O agravamento do quadro de asma pode estar relacionado também a exposição a estes compostos (CHOI; SCHMIDBAUER; BORNEHAG, 2017).

#### **Quadro 1 – Sintomas, sinais e doenças decorrentes da exposição a fungos aéreos.**

- Alergias
- Alergia Tipo I - Rinoconjuntivite alérgica, asma, urticária
- Alergia Tipo I e Tipo III – Aspergilose broncopulmonar alérgica
- Alergia Tipo III e Tipo IV - Pneumonite hipersensitiva, eczema atópico
- Susceptibilidade a infecção – Bronquite crônica
- Micoses sistêmica
- Micotoxicoses
- Alveolite tóxica, Síndrome tóxica da poeira orgânica
- Irritação de membrana mucosa
- Efeitos relacionados ao odor
- Comprometimento do bem-estar

Fonte: HURRASS et al., 2017.

Alérgenos produzidos por fungos constituem outro fator de risco para a saúde daqueles que frequentemente passam grande parte do seu dia em ambientes artificialmente climatizados. Um alérgeno pode ser definido como qualquer substância (antígeno) que pode ser geralmente inalada e que ocasiona uma resposta imune incomum, assim como desencadeia uma reação alérgica (KIM; KABIR; JAHAN, 2018). Alérgenos fúngicos são geralmente proteínas e por vezes, enzimas liberadas do esporo fúngico durante a germinação ou podem ser também, proteínas localizadas na superfície dos esporos (AIMANIANDA et al., 2009). Os sintomas mais comuns envolvendo a exposição a estas moléculas envolvem coriza, nariz entupido, garganta inflamada, olhos irritados e espirros (KIM; KABIR; JAHAN, 2018). Entretanto, o maior destaque dado à exposição e sensibilização a alérgenos produzidos por fungos relaciona-se ao desenvolvimento de doenças alérgicas especialmente, rinite e aspergilose broncopulmonar alérgica, uma condição que geralmente acompanha outras complicações pulmonares como a asma (RICK et al., 2016; FUKUTOMI; TANIGUCHI, 2015). Gupta e colaboradores (2018) verificaram que a sensibilização a alérgenos fúngicos em crianças asmáticas, pode levar a uma maior severidade no quadro da doença. Estudo realizado por Caillaud et al. (2018) traz uma revisão de várias publicações associando a exposição a fungos em ambientes com ar interior e o desenvolvimento de asma e rinite em crianças e adultos.

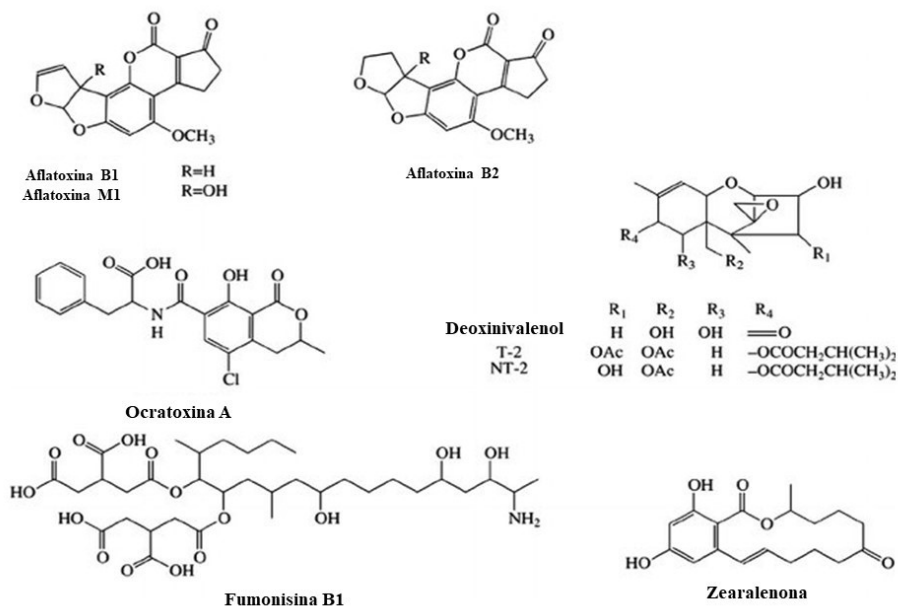
Muitos são os gêneros de fungos que produzem alérgenos em ambientes com ar interior e os mais comumente relatados são aqueles pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium* e *Fusarium* (NASCIMENTO et al., 2019; POMÉS; CHAPMAN; WÜNSCHMANN, 2016). Não apenas fungos filamentosos, mas também fungos leveduriformes são responsáveis pela produção destas substâncias (KHATAB et al., 2017; LEVETIN et al., 2016). O WHO/IUIS Allergen Nomenclature Sub-committee ([www.allergen.org](http://www.allergen.org)), website de nomenclatura sistemática de alérgenos, aprovado pela Organização Mundial da Saúde e a União Internacional das Sociedades Imunológicas traz uma compilação dos alérgenos fúngicos (filamentosos e leveduras) até então identificados.

Seguramente, um dos maiores perigos à saúde humana associado ao crescimento de fungos em ambientes com ar interior refere-se a presença de micotoxinas. O termo micotoxina é derivado da palavra grega “mykes”, que significa fungo e do latim “toxican”, que significa toxinas, e descreve produtos tóxicos gerado pelo metabolismo secundário de muitos fungos (IAMANAKA et al. 2010). Não existe uma regra onde fungos específicos produzem micotoxinas específicas. Na verdade, uma determinada micotoxina pode ser sintetizada por várias espécies fúngicas, bem como várias micotoxinas podem ser produzidas pela mesma espécie de fungo (ANDRETTA et al., 2011). Segundo Anfossi et al. (2016), as principais micotoxinas são aquelas sintetizadas por *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Alternaria* e pertencem a classe das: aflatoxinas (AFs), ocratoxinas (OTA), patulina (PAT) e as toxinas do *Fusarium* (Tricoteceno/desoxinivalenol – DON, fumonisinas e zearalenona - ZON) (figura 1). É importante lembrar que não apenas os quatros gêneros fúngicos acima mencionados são responsáveis pela produção de micotoxinas, mas outros gêneros com menor destaque também estão envolvidos na síntese destes metabólitos secundários. Um trabalho de revisão feito por Wambacq e colaboradores (2016) apresenta outros gêneros menos destacados que também são produtores de micotoxinas como *Curvularia*, *Eurotium*, *Phoma*, dentre outros.

Os danos em decorrência da exposição a micotoxinas ocorrem principalmente por meio da ingestão de alimentos contaminados. Todavia, o contato com a pele e a inalação podem ser importantes rotas de exposição a estes metabólitos tóxicos (BARAC, 2019; BRASEL et al., 2005). Os efeitos nocivos das micotoxinas em humanos dependerá sobretudo do tipo de micotoxina envolvida, a duração da exposição, os níveis de concentração e das condições dos indivíduos expostos (idade, saúde e sexo) (MARIN et al., 2013).



**Figura 1 – Estrutura química das principais micotoxinas.**



Fonte: VIDAL et al., 2009.

A presença de micotoxinas no ar interior já tem sido bem relatada na literatura (POTTIER et al., 2014; BRASEL et al., 2005), demonstrando que esta pode ser uma rota de exposição importante, assim como levando a compreender os riscos inerentes a sua presença no ambiente. Trabalho realizado por Hendry e Cole (1993) desponta como uma das primeiras revisões de literatura a abordar questões sobre micotoxinas em ambientes com ar interior, ressaltando àquela época para a necessidade de mais estudos a fim de entender o potencial, a ocorrência e importância das micotoxinas nestes ambientes. A partir de então, outras revisões de literatura foram feitas, destacando tanto a presença dos fungos produtores, como também os efeitos associados à sua exposição (TÄUBEL; HYVÄRINEN, 2016; THRASHER, 2016; NIELSEN, 2003; ROBBINS et al., 2000).

Como poluente do ar interior, micotoxinas são responsáveis causar intoxicações em animais e humanos, uma condição denominada micotoxicoses (tabela 1). Micotoxicoses podem se manifestar de forma aguda ou crônica e podem também levar a morte rápida ou formação de tumores (MARIN et al., 2013). Os efeitos agudos envolvem necrose hemorrágica do fígado, proliferação dos ductos biliares, edema e letargia (BARAC, 2019), enquanto os efeitos crônicos estão relacionados com crescimento e desenvolvimento prejudicado, disfunção imune e doenças relacionadas a alterações no DNA (VOSS; GELINEAU-VAN; RILEY, 2006). Outros efeitos adversos à saúde envolvem imunossupressão (PESTKA et al., 2004), carcinogenicidade, mutagenicidade e teratogenicidade (IARC, 2002), nefropatia endêmica dos Bálcãs

(STIBOROVÁ; ARLT; SCHMEISER, 2016), infecções gastrointestinais (SOBRAL et al., 2018), doenças nas vias aéreas (LIU et al., 2015) e o comprometimento da atividade celular cerebral por conta da deficiência de vitamina B12 (BARAC, 2019). Trabalhos publicados por Robert e colaboradores (2017) e por Zain (2011) trazem mais informações relacionadas aos impactos na saúde humana e animal decorrentes da exposição a micotoxinas.

**Tabela 1 – Micotoxinas e seus efeitos na saúde animal e humana.**

<b>Micotoxinas</b>	<b>Efeitos na saúde animal e humana</b>
Aflatoxina B1	<i>Hepatotóxica, imunossupressora, carcinogênica (grupo 1 - IARC), teratogênica e mutagênica</i>
Deoxinivalenol	<i>Náuseas, vômitos, diarreias, Imunotóxica e classificada no grupo 3 - IARC</i>
Fumonisina B1	<i>Leucoencefalomalácia Equina, Edema pulmonar em suínos, hepatotóxica, nefrotóxica imunossupressora e carcinogênica (grupo 2B - IARC)</i>
Ocratoxina A	<i>Nefrotóxica, neurotóxica, hepatotóxica, afeta a coagulação sanguínea, imunotóxica, carcinogênica (grupo 2B - IARC) e teratogênica</i>
Zearalenona	<i>Interrupção no controle hormonal e classificada grupo 3 - IARC</i>

Fonte: Adaptada de (KLARIĆ, 2012).

### **3.2 Bioaerossóis bacterianos e saúde humana**

A qualidade do ar interior pode ser comprometida também por bactérias, que podem ser altamente patogênicas. Estes microrganismos crescem naturalmente no ambiente e quando as condições ambientais e a presença de nutrientes são favoráveis, elas proliferam em superfícies e em meios líquidos e podem ser facilmente lançadas para o ar. Quando na atmosfera (ar exterior), podem estar presentes como células individuais ou então associadas a partículas de poeira ou outros microrganismos (SMETS et al., 2016), refletindo o que também pode acontecer no ar de ambientes fechados. Além da própria célula, os aerossóis bacterianos também incluem, fragmentos celulares, produtos do metabolismo microbiano em partículas de poeira ou líquidos e compostos orgânicos voláteis (STETZENBACH, 2007).

Em ambientes com ar interior, podemos apontar o próprio ser humano, a água e o ar externo como as principais fontes de aerossóis bacterianos (FUJIYOSH et al. 2017). Ainda que

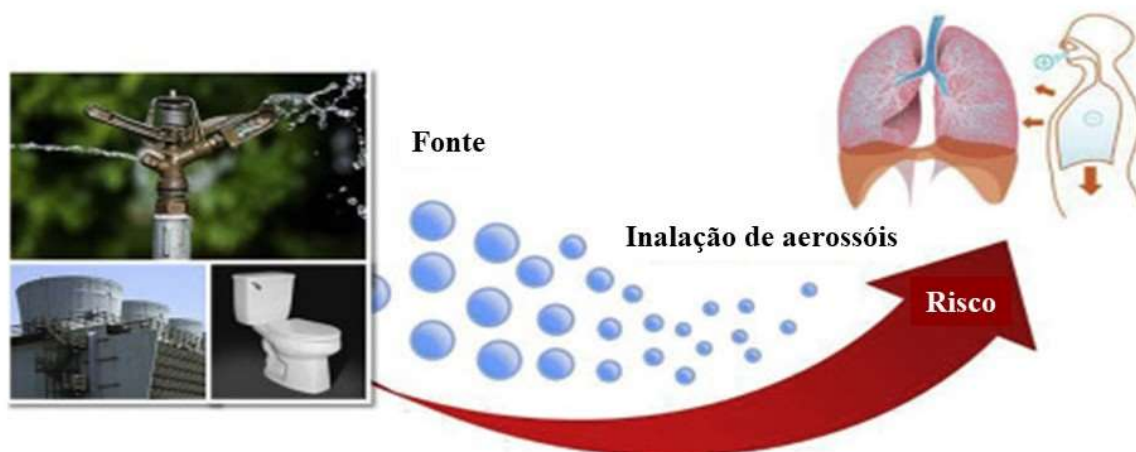
o ar externo através da ventilação natural (abertura de janelas e portas) contribua para a presença de bactérias no ar interior (PRUSSIN; MARR, 2015; BOUILLARD et al., 2005), destacaremos abaixo apenas aquelas fontes cujo estudos apontam ter maior relevância (ser humano e a água). Outras fontes incluem também a presença de animais e plantas, tubulações de esgotos, a ressuspensão de poeira (PRUSSIN; MARR, 2015) e materiais relacionados ao edifício (madeira, papel, produtos cerâmicos e plásticos) (HYVÄRINEN et al., 2002). Evidências têm sugerido que alimentos armazenados também podem constituir fontes de bactérias para o ar (SUN et al., 2016).

Populações bacterianas em ambientes artificialmente climatizados são formadas principalmente por fontes dentro do próprio ambiente. Assim, a presença de humanos representa o principal meio pelo qual bactérias tornam-se aerossolizadas. Fluídos corpóreos e respiratórios emitidos pela tosse, espirros, fala e a própria respiração contribuem para o lançamento de aerossóis bacterianos para o ar ambiente (NICAS; NAZAROFF; HUBBARD, 2005). *Micrococcus* e *Staphylococcus*, dois gêneros bacterianos comumente encontrados na pele humana tiveram sua presença no ar interior associada com o momento em que os estudantes se encontravam nas salas de aula (KOOKEN; FOX; FOX, 2012; FOX et al., 2010). Hospodsky et al. (2012) evidenciaram que a ocupação humana é altamente responsável pela presença de bactérias aéreas, com a microbiota da pele contribuindo significativamente para esta contaminação. Embora muitos estudos tenham relacionado a contribuição da microbiota da pele como o principal local do corpo a servir de fonte bacteriana para o ar interior, estudo realizado por Wilkins et al. (2016) tem demonstrado que outras partes do corpo humano, também podem atuar como fonte.

Além da presença humana, a água desempenha um papel importante na emissão destes microrganismos para o ar interior. Este fornecimento pode vir através de chuveiros, torneiras e banheiros. Estações de tratamento de água também podem constituir uma importante fonte emissora (TEIXEIRA et al., 2013). Lai et al. (2018) forneceram evidências concretas de que aerossóis bacterianos podem ser gerados e emitidos por meio da descarga em banheiros. Em seu estudo experimental, os autores verificaram que este procedimento foi suficiente para gerar aerossóis contendo *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas alcaligenes*, em concentrações suficientes para oferecer riscos à saúde. Perkins e colaboradores (2009) relataram bactérias potencialmente patogênicas que podem ter sido aerossolizadas a partir da água de chuveiros.

A importância da água em carrear bactérias patogênicas e servir como fonte emissora de aerossóis para o ar interior tem extrema relevância, principalmente quando consideramos espécies do gênero *Legionella* sp., com maior destaque notavelmente para *Legionella pneumophila*. *Legionella* compreende bactérias intracelulares encontradas em ambientes aquáticos naturais (rios, lagos e lagoas) e artificiais (sistemas de água potável, torneiras, chuveiros, torres de refrigeração e fontes) (MONTAGNA et al., 2017a). Possui crescimento geralmente em faixa de temperaturas de 25 °C – 50 °C, especialmente em condições de água parada e rica em sedimento, sendo responsável por várias manifestações clínicas. A principal condição clínica associada a esta bactéria é pneumonia, em uma condição chamada doença do Legionário e também a Febre de Pontiac (WHO, 2007). Elas infectam seres humanos por meio da inalação ou aspiração de aerossóis contaminados, gerados a partir de diversos sistemas artificiais de água (figura 2) (HAMILTON et al., 2018).

**Figura 2 – Transmissão de *Legionella* para seres humanos.**



**Fontes de água podem atuar como fontes de aerossóis contendo *Legionella pneumophila*. Indivíduos suscetíveis podem ser contaminados por meio da inalação destes aerossóis contaminados.**

Fonte: Adaptada de HAMILTON et al. (2018)

Muitos são os trabalhos publicados que descrevem os mais variados sistemas artificiais de água como geradores de aerossóis de *Legionella*. De todas as espécies do gênero, notadamente *Legionella pneumophila* é a que mais se destaca e a mais estudada (assim como *Mycobacterium tuberculosis*) no que diz respeito a ambientes com ar interior. Um dos primeiros trabalhos demonstrando a relação entre sistemas artificiais de água e aerossóis de *L. pneumophila* é o realizado por Dondero et al. (1980), que descreve um surto de doença do Legionário relacionado a contaminação de torre de resfriamento de ar condicionado. A partir

de então, outros trabalhos também têm demonstrado a forte relação existente entre os mais variados sistemas artificiais de água e a contaminação aérea por este microrganismo (HAMILTON et al., 2019; COLLINS et al., 2017; MONTAGNA et al., 2017b; ALLEGRA et al., 2016).

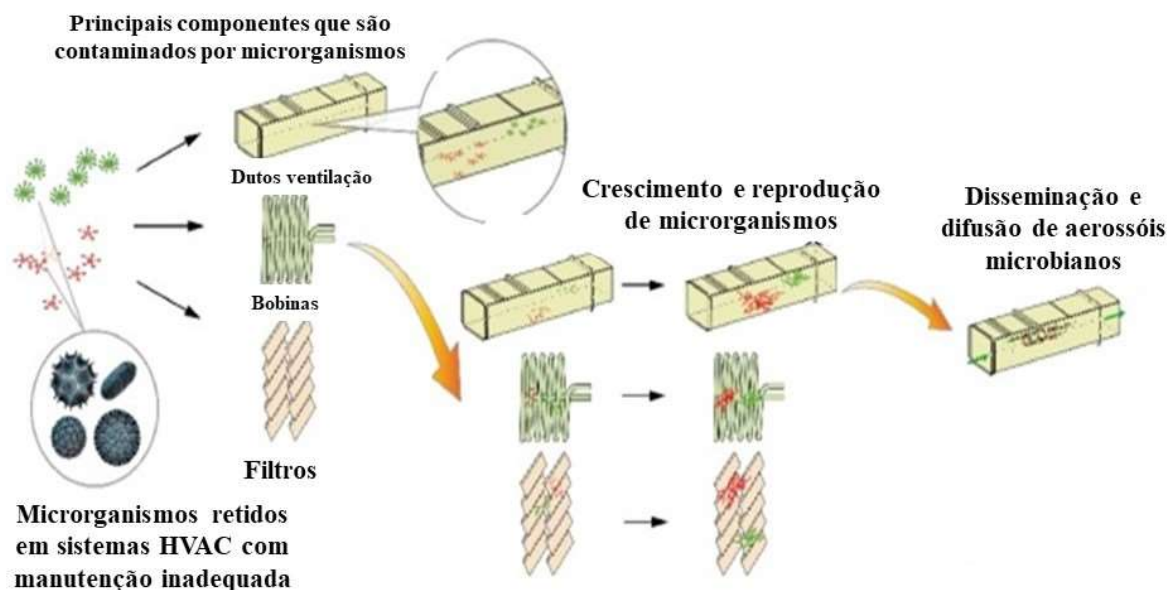
Assim como fungos, a concentração bacteriana sofre influência de fatores como: ocupação humana, temperatura, umidade relativa e a taxa de troca/renovação de ar por meio da ventilação (FUJIYOSH et al., 2017; FRANKEL et al., 2012). É importante destacar que a depender do tipo de ambiente e de variáveis ainda não totalmente compreendidas, estes fatores poderão atuar de forma conjunta ou de maneira diferencial sobre o crescimento e a permanência de bactérias como aerossóis. Gizaw e colaboradores (2016) ao avaliarem a qualidade microbiológica do ar em um hospital, observaram que a temperatura, humidade relativa e um sistema de ventilação deficiente, estiveram altamente relacionados a altas concentrações bacterianas. Madsen et al., (2018) demonstraram que a concentração aérea de *Staphylococcus* spp. em residências foi positivamente associada com a estação do ano (verão, outono e primavera) e a temperatura do ar nos locais analisados. Ainda neste trabalho, os autores observaram não haver influência da umidade relativa do ar sobre a presença microbiana no local e que a renovação de ar atuou de forma a remover boa parte da carga microbiana.

Consideravelmente, um dos fatores chave a influenciar a concentração aérea de bactérias é a ocupação humana, com a literatura trazendo vários trabalhos mencionando esta associação positiva. Obbard e Fang (2003) e Meadow et al., (2014) em avaliações da qualidade microbiológica do ar em um hospital e salas de aula, respectivamente, concluíram que a concentração das populações bacterianas esteve altamente relacionada com a ocupação humana observada no momento do estudo. Não apenas a densidade de pessoas em um determinado ambiente, mas também as atividades por elas desenvolvidas podem influenciar no aumento da concentração (HWANG; YOON, 2017).

Microrganismos no geral podem ter sua presença e disseminação aérea afetada pelos sistemas de ventilação, quer sejam eles naturais, mecânicos ou híbridos. Sistemas de ventilação mecânica com manutenção inadequada e má operação podem contribuir significativamente para a disseminação de bactérias via ar interior (figura 3), colocando em risco os indivíduos ali presentes (PIEKARSKA; TRUSZ; SZCZEŚNIAK, 2018). Em revisão de literatura publicada por Liu et al. (2018), os autores abordaram a questão envolvendo sistemas de ventilação mecânica influenciando a concentração aérea de fungos e bactérias. O desenho arquitetônico dos edifícios, assim como sua estrutura interior não permitindo uma boa ventilação entre os

espaços, demonstraram influenciar a concentração bacteriana no ar interior (KEMBEL et al., 2014). Por outro lado, sistemas de ventilação com manutenção adequada e a elaboração de estratégias corretas de utilização da ventilação natural, assim como estruturas arquitetônicas que favoreçam a circulação de ar entre os ambientes tendem a favorecer a diminuição da concentração aérea destes contaminantes (CHO; WOO; KIM, 2019; NIELSEN, 2009).

**Figura 3 – Crescimento, reprodução, disseminação de microorganismos em sistemas HVAC.**



Sistemas de climatização podem atuar como concentradores e disseminadores de microorganismos para o ar interior climatizado. Quando não ocorre a manutenção adequada, alguns componentes podem fornecer condições necessárias para que microorganismos se desenvolvam e isto causar redução na eficiência de filtração do ar. Isto pode comprometer a qualidade do ar que está sendo direcionado para os ambientes climatizados.

Fonte: Adaptado de LIU et al. (2018).

Sendo comunidades bacterianas de ambientes artificialmente climatizados influenciadas principalmente pela presença humana, podemos inferir que as espécies destes locais serão em grande parte aquelas associadas à microbiota humana. Comprovando esta afirmativa, Adams et al. (2015) relataram que *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus*, *Propionibacterium* e *Lactococcus* foram abundantemente encontrados nestes locais. É importante ressaltar que, todos estes taxos possuem associação com humanos. Madsen et al. (2018) também identificaram várias espécies de *Staphylococcus* como contaminantes do ar interior nos ambientes por eles analisados. Muitas espécies patogênicas foram identificadas (STETZENBACH, 2004), demonstrando a importância que o ar possui na disseminação de doenças infecciosas e os riscos aos quais estamos expostos. A tabela 2 traz algumas bactérias patogênicas ou não, encontradas em estudos da qualidade do ar interior.

**Tabela 2 – Bactérias patogênicas e não patogênicas encontradas em ambientes artificialmente climatizados.**

Bactérias	Referências
<i>Staphylococcus e Bacillus</i>	(FRÍAS-DE LEÓN et al. 2016)
<i>Staphylococcus aureus</i>	(ANDUALEM et al. 2019)
<i>Aeromonas caviae, Flavobacterium sp., Staphylococcus lentus</i>	(HAN et al. 2018)
<i>Acinetobacter</i>	(FYKSE et al. 2015)
<i>Klebsiella pneumoniae, Pantoea spp., Enterobacter cloacae, Aeromonas hydrophila/caviae, Chryseomonas luteola, Pseudomonas luteola, Shigella sonni, Rahnella aquatilis, Pseudomonas fluorescens, Brevundimonas vesicularis, Escherichia vulneris, Burkholderia cepacea, Pseudomonas stutzeri, Moraxella spp., Stenotrophomonas maltophilia, Bordetella spp., Flavimonas oryzihabitans, Agrobacterium radiobacter</i>	(GIOFFRÈ; MARRAMAO; IANNÒ, 2011)
<i>Staphylococcus, Streptococcus, Klebsiella, Escherichia coli</i>	(EMUREN et al. 2016)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	(WEI; LI, 2016)
<i>Legionella pneumophila</i>	(MONTAGNA et al., 2017b)
<i>Micrococcus</i>	(MANGA; DAVID; BAZATA, 2018)
<i>Kocuria</i>	(MADSEN et al. 2018)
<i>Clostridium</i>	(BORREGO et al. 2012)

A exposição a aerossóis bacterianos pode implicar em vários problemas de saúde como doenças infecciosas, intoxicações e problemas respiratórios mediado por moléculas pró-inflamatórias. Outro problema associado a aerossolização dos mais variados tipos de patógenos relaciona-se a utilização destes para fins de bioterrorismo (JANSEN et al., 2014). Revisão feita por Anderson e Bokor (2012) apresenta as espécies bacterianas *Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis*, *Brucella sp.*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei* e *Rickettsia prowazekii* como agentes de bioterrorismo e o seu potencial em serem dispersas pelo ar. Eles destacam ainda a preocupação mundial em relação aos perigos de infecções por estes agentes biológicos.

Doenças bacterianas relacionadas a transmissão por aerossóis envolvem: tuberculose causada por *Mycobacterium tuberculosis* (NARDELL, 2016), febre Q causada por *Coxiella burnettii* (DE ROOIJ et al., 2016), legionelose causada por *L. pneumophila*, coqueluche causada

por *Bordetella pertussis* (WARFEL; BEREN; MERKEL, 2012) e pneumonias ocasionadas por *Chlamydia pneumoniae* (THEUNISSEN et al., 1993) e *Streptococcus pneumoniae* (RICHTER et al., 2013). Bactérias frequentemente envolvidas em surtos de infecções hospitalares como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Acinetobacter* spp. também podem ser transmitidos por aerossóis, representando riscos à saúde dos ocupantes, principalmente em ambientes de saúde (FERNSTROM; GOLDBLATT, 2013).

A exposição a bactérias aerossolizadas não é o único problema enfrentado por aqueles que passam muito do seu tempo em ambientes artificialmente climatizados. Componentes das células bacterianas como as endotoxinas representam um risco adicional de exposição. Endotoxinas compreendem lipopolissacarídeos presentes na membrana externa de bactérias gram negativas, geralmente encontradas em poeiras orgânicas (DOUWES et al., 2003). Quando aerossolizadas, as endotoxinas são absorvidas pela superfície de materiais particulados, o que proporciona o seu transporte pelo ar (SCHINS et al., 2004), permitindo a sua inalação.

Endotoxinas estão relacionadas a problemas respiratórios, a efeitos tóxicos agudos, alergias e síndromes relacionada à asma (PABA et al., 2013). Bronquite crônica, síndrome tóxica da poeira orgânica, bem como efeitos letais como choque séptico, falência de órgãos e morte são mais alguns dos efeitos adversos relacionados a inalação destas moléculas (AMOUREUX, 2004). Em um estudo de revisão de literatura feito por Farokhi, Heederik e Smit (2018), os autores concluíram que a exposição a baixos níveis de endotoxinas no ar pode ocasionar em efeitos respiratórios significativos e levar ao comprometimento das funções pulmonares. Apesar dos efeitos adversos decorrentes da inalação destas moléculas, alguns estudos têm demonstrado que a exposição a este componente bacteriano pode ter um efeito protetor relacionado ao risco de asma atópica e desenvolvimento de alergias em crianças e adultos (SCHUIJS et al., 2015; LIEBERS; RAULF-HEIMSOTH; BRÜNING, 2008; MUTIUS et al., 2000). Estudos utilizando a abordagem do pré-condicionamento com endotoxinas tem demonstrado efeitos positivos destas moléculas, modulando o sistema imunológico de modo a proteger tecidos e a conter infecções (HATO et al., 2015).

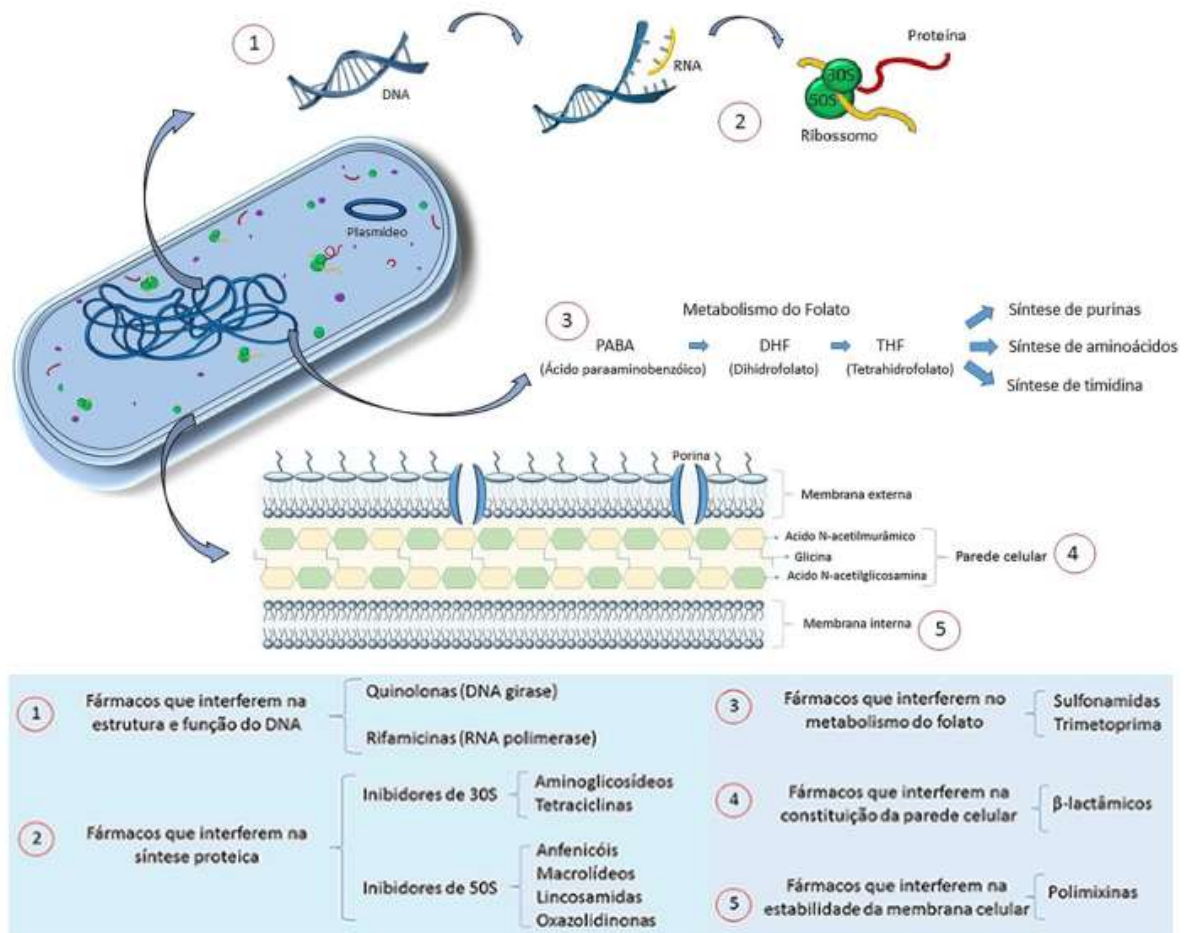
Compostos orgânicos voláteis produzidos por bactérias pertencem geralmente as seguintes classes: hidrocarbonetos, cetonas/álcoois, ácidos, compostos contendo enxofre e nitrogênio e terpenos (AUDRAIN et al., 2015). Os efeitos adversos são os mesmos observados para os voláteis produzidos por fungos, desencadeando praticamente as mesmas manifestações clínicas. Os estudos acerca de voláteis produzidos por bactérias, enfatizam muito mais a sua aplicação e utilização para fins biotecnológicos (AUDRAIN et al., 2015; KAI et al., 2009).



### 3.3 Antibióticos e resistência bacteriana em *Staphylococcus*

Antibióticos são substâncias de origem natural, sintética ou semi-sintética, e que agem inibindo o crescimento bacteriano (ação bacteriostática) ou então “matando” as bactérias (ação bactericida). Eles possuem mecanismos de ação que inclui: inibição da síntese de parede celular bacteriana, síntese de proteínas, síntese de ácidos nucleicos (DNA e RNA), assim como atuação na desorganização da membrana celular e metabolismo celular bacteriano (ZAMAN et al., 2017). Os antibióticos são geralmente classificados de acordo seus mecanismos de ação na célula bacteriana (figura 4).

**Figura 4 – Mecanismos de ação e classificação dos principais agentes antibacterianos.**



Fonte: NOGUEIRA et al., 2017.

Antibióticos que tem como alvo a parede celular vão atuar inibindo a síntese do peptidoglicano, um polímero estrutural presente em bactérias gram positivas e negativas. Esse mecanismo de ação é exercido pelos β-lactâmicos e Glicopeptídeos. Ambas as classes atuam impedindo a atividade das proteínas ligadoras de penicilina (PLP), responsável pela formação

do peptidoglicano (KAPOOR et al., 2017). Para aqueles que vão atuar inibindo a síntese de proteínas, seu alvo são as subunidades ribossômicas bacterianas 30S e 50S. Elas agem no funcionamento da subunidade 30S, exercendo seu efeito interferindo na tradução do RNAm bacteriano, bem como impedindo que esta subunidade se ligue ao RNA alvo (YONEYAMA; KATSUMATA, 2006). A depender da classe, as moléculas cujo alvo seja a subunidade 50S tendem a interromper os estágios iniciais da síntese protéica, interferindo na função do RNAt ou então comprometendo a atividade peptidil transferase do RNAr 23S (KAPOOR et al., 2017).

A membrana plasmática bacteriana também é alvo da ação de alguns antimicrobianos. Essencialmente do grupo das polimixinas, estes fármacos removem cálcio e magnésio responsáveis pela estabilização da membrana, o que promove sua completa desorganização estrutural. Assim, a célula bacteriana torna-se altamente permeável, seu conteúdo interno é liberado, culminando na sua morte (NOGUEIRA et al., 2017). Algumas moléculas antimicrobianas vão interferir no processo de duplicação do DNA bacteriano, especialmente por comprometer a função das enzimas DNA girase e topoisomerase IV. Outra ação a nível de ácido nucléico é o desempenhado pela rifampicina, um antibiótico que se liga de forma específica à RNA polimerase bacteriana inibindo a sua atividade em sintetizar RNA a partir de DNA (ALÓS, 2009; DE SOUZA, 2005).

Uma das etapas metabólicas mais importante para bactérias diz respeito à síntese de purinas, pirimidinas, aminoácidos e timidinas. Para isso, elas precisam sintetizar folato (ou ácido fólico), já que não são capazes de obtê-lo a partir do meio externo (BOURNE, 2014). Conforme Nogueira et al. (2017), estes fármacos prejudicam a síntese deste composto quando impedem a formação do ácido di-hidrofólico, um pré-folato formado a partir do ácido p-aminobenzoico (PABA), bem como quando inibem a ação da enzima que converte o ácido di-hidrofólico em ácido tetrahidrofólico. Os antibióticos que atuam nesta via pertencem ao grupo das sulfonamidas e trimetoprima.

Atualmente, a maior problemática envolvendo bactérias refere-se a notável capacidade destes microrganismos em dispor de mecanismos que lhes permitam sobreviver, mesmo quando submetidos a exposição a antimicrobianos. A resistência pode surgir como um fenômeno natural em resposta a uma pressão seletiva decorrente da utilização destes fármacos no combate a infecções, mas tem se dado muito mais em resposta ao uso indiscriminado por parte de profissionais de saúde, bem como pela própria população. Este grave problema tem trazido sérias consequências clínicas e econômicas, principalmente no que diz respeito ao aumento das taxas de morbidade e mortalidade (WHO, 2005).

A problemática de resistência bacteriana em *Staphylococcus* é algo que evoluiu ao longo do tempo. A descoberta da penicilina e sua utilização como agente antimicrobiano na década de 1940 parecia trazer a solução para os problemas associados a bactérias, entretanto o uso de forma inconseqüente propiciou a seleção das primeiras cepas de *Staphylococcus* resistentes devido à produção de enzimas chamadas de  $\beta$ -lactamases (BARBER et al., 1948). A partir de então, muitos outros casos de resistências a este fármaco foram descritos (KINROSS et al., 2017). Após esta constatação, outros antibióticos como cloranfenicol, eritromicina e estreptomicina foram desenvolvidos, o que a princípio foi eficaz em conter infecções por *Staphylococcus* (LIVERMORE, 2000). Entretanto, não demorou muito até que fossem observados casos de espécies resistentes a estas novas drogas, o que ocorreu em grande parte sendo mediado por plasmídeos e transposons (LACEY, 1984).

Para contrapor este problema foram produzidas penicilinas semissintéticas como a meticilina e oxacilina por volta da década de 1960, com o objetivo de se evitar a ação das  $\beta$ -lactamases, protegendo assim o anel betalactâmico (KLEIN; GOULART, 2008). Essa proteção ocorre porque as  $\beta$ -lactamases promovem a clivagem do anel  $\beta$ -lactâmico dos antibióticos inativando sua ação inibidora de síntese de PLPs (LEITE, 2008). Contudo, com a utilização em larga escala da meticilina/oxacilina não demorou muito para ocorrer a seleção das primeiras cepas resistentes a esse antimicrobiano além da resistência a outros antimicrobianos ocasionando no aparecimento também de cepas multirresistentes de *S. aureus* denominadas MRSA (Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*) e MR-SCoN (Methicillin resistant Coagulase Negative *Staphylococcus*) (FURUNO et al., 2018; BARBIER et al., 2010).

A capacidade de *Staphylococcus* spp. resistir a ação dos  $\beta$ -lactâmicos ocorre geralmente por dois mecanismos principais: codificação de uma  $\beta$ -lactamase por meio do gene *blaZ* ou então pela aquisição do gene *mecA*. No primeiro caso, o gene *blaZ* vai codificar uma enzima que possui ação hidrolítica, causando a destruição do anel beta lactâmico e promovendo a destruição do antibiótico (NIKAIDO, 2009). Este gene pode estar localizado no cromossomo bacteriano ou então no plasmídeo e sua aquisição pode ocorrer via disseminação de clones resistentes, bem como através da transmissão horizontal via elementos móveis (MALACHOWA; DELEO, 2010). Sua detecção pode ocorrer tanto em *S. aureus* quanto em *Staphylococcus* coagulase negativo (ROBLES et al., 2014). Akanbi et al. (2017) relataram a 55,2 % isolados de *S. aureus* carreando o gene *blaZ*, enquanto Osman et al. (2016) verificaram a presença deste gene em espécies de *Staphylococcus* coagulase negativo (SCoN) clinicamente

importantes como *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis* e *Staphylococcus lugdunensis*.

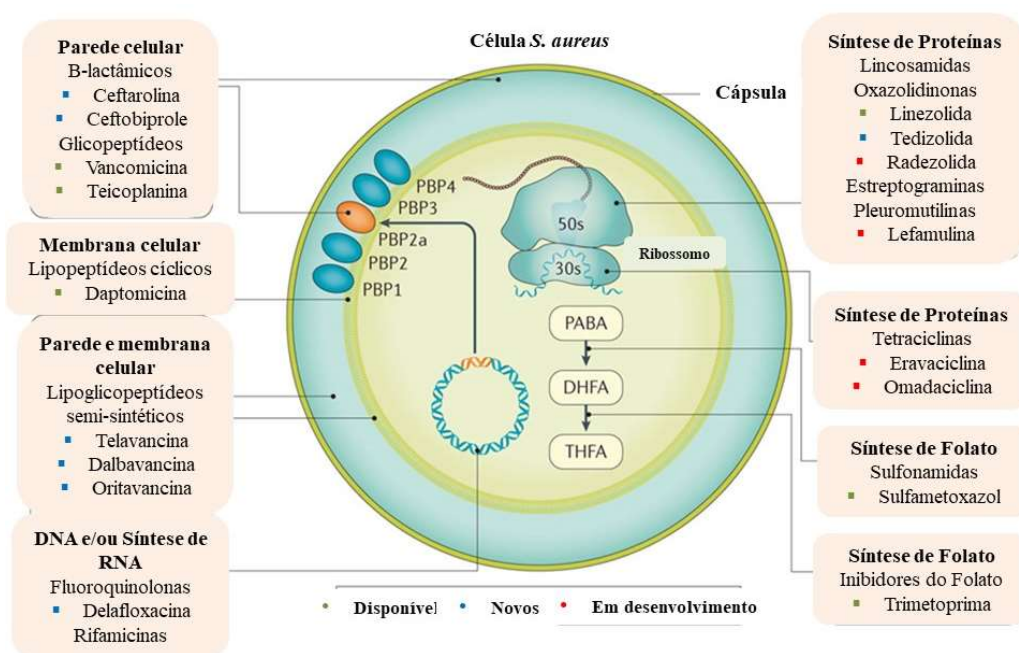
A resistência à metilina/oxacilina teve sua origem devido a uma mutação na PLP original, tornando possível o surgimento de uma PLP modificada (PLP2a) a qual possui baixa afinidade pelos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos em geral (HARTMAN; TOMASZ, 1984). O gene responsável por produzir esta proteína modificada é chamado de *mecA* e está associado a um cassete cromossômico o *Staphylococcal Cassete Chromosomal* (SCCmec), um carreador genético móvel e que até o momento foram descritos 11 tipos para *S. aureus* (I-XI), possuindo diferenças quanto a estrutura e tamanho (IWG-SCC et al., 2009). Em MRSA envolvidos em infecções nosocomiais (HA-MRSA - do inglês, *Health care-associated methicillin resistant Staphylococcus aureus*) geralmente é encontrado o SCCmec dos tipos I-III (ITO et al., 2001), enquanto que naquelas cepas envolvidas em infecções de origem não hospitalar (CA-MRSA - do inglês, *community-associated methicillin resistant Staphylococcus aureus*) podemos encontrar o SCCmec tipo IV e por vezes o tipo V (IWG-SCC et al., 2009). Para MR-SCoN, os tipos de SCCmec descritos até o momento são I, II, III, IV e V (SABER et al., 2017). A resistência mediada pelo gene *mecA* pode adicionalmente conferir resistência a outros grupos de antibióticos como aminoglicosídeos, quinolonas, macrolídeos e tetracilinas (HENWOOD et al., 2000).

Em 2011 um novo gene *mec* envolvido na resistência aos  $\beta$ -lactâmicos foi descrito em *S. aureus* (ÁLVAREZ et al., 2011). Este gene foi denominado *mecC* e codifica uma PLP modificada (PLP2c) em relação aquela produzida pelo gene *mecA* (PLP2a), o que pode resultar em uma diferença estrutural e funcional entre estas proteínas (BALLHAUSEN et al., 2014). Acredita-se que a PLP2c exibe uma afinidade de ligação à oxacilina cerca de quatro vezes mais que a PLP2a (BALLHAUSEN et al., 2014). Desde sua descoberta, relatos da detecção do gene *mecC* em *S. aureus* e SCoN já foram feitos na literatura (LONCARIC et al., 2019; BECKER et al., 2016). Recentemente, Becker e colaboradores (2018) descreveram um isolado de MRSA que foi negativo para a presença do gene *mecA* e *mecC* mas estava carreando o gene *mecB*, até então encontrado somente em *Micrococcus caseolyticus*.

Embora muitos sejam os antibióticos disponíveis para o tratamento de doenças causadas por *Staphylococcus* (figura 5), nos casos de infecções causadas por MRSA ou MR-SCoN multirresistentes, a droga de escolha na terapêutica é a vancomicina, porém a resistência a esta droga já foi relatada entre espécies de SCoN e *S. aureus* (SRINIVASAN et al., 2002). Os primeiros relatos da susceptibilidade reduzida a vancomicina em *Staphylococcus* ocorreram já

no final do século passado. Sanyal et al. (1991) relataram um caso de peritonite que foi causada por *S. eidermidis* resistente a este fármaco. Hiramatsu et al. (1997) descreveram no Japão o primeiro isolado de MRSA com resistência intermediária à vancomicina (do inglês, VISA - vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*). Ainda nessa espécie, a resistência total a esta droga só foi relatada no ano de 2003 em Michigan-EUA (CHANG et al., 2003). Em isolados com resistência intermediária à vancomicina, acredita-se que a presença de uma parede celular mais espessa que o normal tenha sido determinante em interferir na ligação do antibiótico e impedir o seu mecanismo de ação (CUI et al., 2000). A resistência completa é mediada por genes do operon *vanA*, que vão atuar causando uma modificação no peptídeo D-Ala-D-Ala, um precursor do peptidoglicano, impedindo que haja a ligação específica da vancomicina (MCGUINNESS; MALACHOWA; DELEO, 2017).

**Figura 5 – Alvos bacterianos e antibióticos ativos contra MRSA.**



Fonte: Adaptada de Lee et al. (2018).

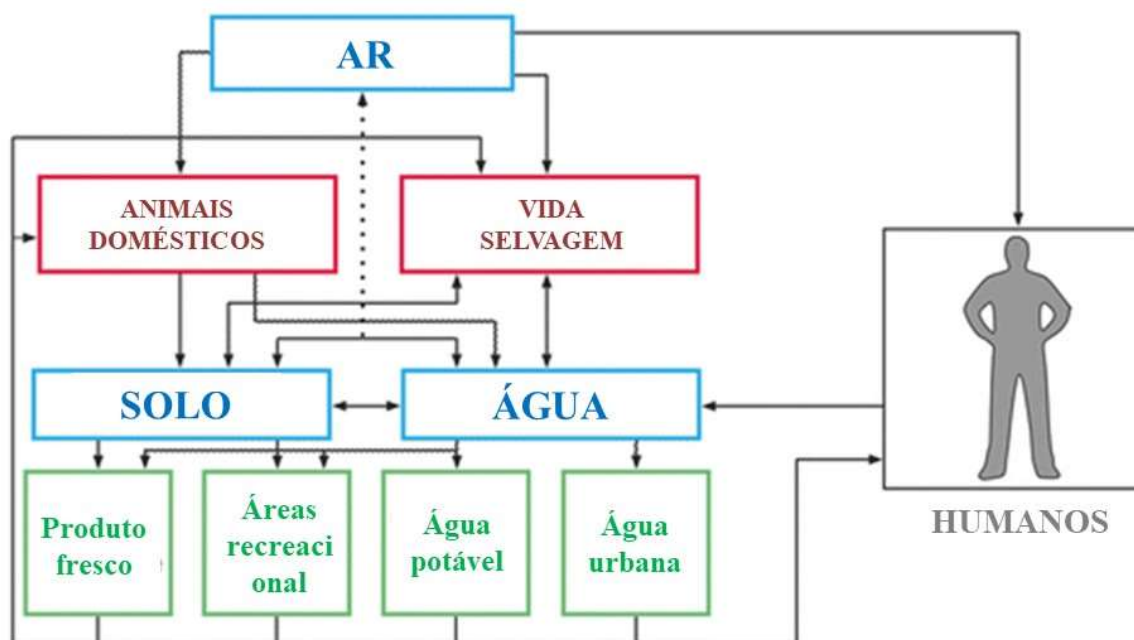
*Staphylococcus* podem exibir resistência também aos antibióticos macrólídeos, lincosamidas e estreptogramina do grupo B (MLS<sub>B</sub>). Embora estas drogas sejam diferentes quimicamente, seus mecanismos de ação são similares, convergindo para uma inibição da síntese protéica bacteriana (JUYAL et al., 2013). Conforme SUN et al. (2018), três são os mecanismos envolvidos na resistência aos MLS<sub>B</sub>: o primeiro deles envolve a modificação do sítio de ligação da droga no ribossomo, que ocorre por metilação ou mutação; o segundo envolve o efluxo ativo do antibiótico; e o último envolve inativação do antibiótico.

Em *S. aureus* e SCoN, a resistência para MLS<sub>B</sub> ocorre mais comumente pelo mecanismo da metilação ribossomal que é mediado pela ação da enzima eritromicina ribossomo metilase, codificada pelo gene *erm* (ROBERTS et al., 1999). Segundo Petinaki e Papagiannitsis (2018), ele pode ser carregado por plasmídeos e transposons, que podem se mover independentemente. Em *Staphylococcus*, os genes *ermA*, *ermB* e *ermC* estão envolvidos na resistência induzível ou constitutiva a MLS<sub>B</sub>, sendo que o primeiro e o último são os mais frequentemente relatados (PETINAKI; PAPAGIANNITSIS, 2018). Kareem et al. (2015) relataram a presença dos genes *ermA* e *ermC* em isolados clínicos de MRSA, enquanto para o gene *ermB*, nenhuma amostra foi positiva. Ainda que não seja muito comum, o carregamento do gene *ermB* em *S. aureus* e SCoN foi verificado por Duran et al. (2012). Os autores constataram que 5,8% e 3,1% das amostras respectivamente, foram positivas para a presença deste gene.

### 3.3.1 Disseminação de bactérias resistentes a antibióticos

Uma das principais rotas para transmissão e disseminação de bactérias resistentes entre humanos se dá por meio da exposição e contato com indivíduos infectados, e isto pode ocorrer tanto no contexto hospitalar como também na própria comunidade (VAN DUIN; PATERSON, 2016). Entretanto, nos últimos anos foi visto que o próprio ambiente exerce um importante papel na disseminação deste grupo específico de bactérias (figura 6), alertando para os riscos de exposição ainda maiores a qual humanos encontram-se suscetíveis (HUIJBERS et al., 2015). Diversas evidências podem ser encontradas na literatura, demonstrando que esgotos (BENGTSSON-PALME et al., 2016), estação de tratamento de águas residuais (LI et al., 2016), corpos de águas (PRUDEN, 2014), viagens (FERNANDO; COLLIGNON; BELL, 2010), aerossóis (MCEACHRAN et al., 2015), poeira (BARBERÁN et al., 2015) e alimentos contaminados (ROLAIN, 2013), constituem importantes formas pelas quais a transmissão ambiental de bactérias resistentes pode acontecer.

**Figura 6 – Contribuição do ambiente na transmissão e disseminação de bactérias resistente a antimicrobianos para humanos.**



A disseminação de bactérias resistentes para humanos pode ocorrer por meio de várias fontes ambientais que interagem entre si. A água, o solo e o ar podem ser veículos eficientes de transmissão bacteriana que podem entrar em contato com indivíduos suscetíveis, levando a exposição a agentes potencialmente perigosos. Animais doméstico e a própria fauna e flora selvagem também pode contribuir na dispersão de microrganismos altamente problemáticos.

Fonte: Adaptada de HUIJBERS et al. (2015).

Sendo o ar um importante veículo de dispersão de vários tipos de patógenos (vírus, bactérias e fungos), foi demonstrado que a disseminação aérea de genes de resistência a antibióticos (da sigla em inglês ARGs - Antibiotic Resistance Genes) pode ocorrer em vários tipos de ambientes, constituindo mais um sério problema de saúde pública. Segundo Li e Yao (2018), ARGs encontram-se aderidos a material particulado (poeira), o que possibilita serem eficientemente dispersos. Ainda conforme eles, o ar contém mais abundância de ARGs que outros meios como solo, água e sedimentos.

A presença de ARGs no ar já tem sido reportada em vários estudos disponíveis na literatura. Xie et al. (2018) relataram a presença de bactérias e genes de resistência associados a partículas inaláveis de 2,5 µm tamanho. Genes de resistência a tetraciclinas, β-lactâmicos e aminoglicosídeos foram encontrados com abundância em amostras de material particulado (2,5 µm e 10 µm) proveniente de fumaças na China (HU et al., 2018). Trabalho realizado por Yang et al. (2018) e Gao et al. (2018) também tem demonstrado a presença de vários ARGs em

amostras de ar coletadas em diversos locais na China. Em pesquisa realizada em 19 cidades abrangendo países dos cinco continentes, foram encontrados 30 subtipos de ARGs em material particulado proveniente de filtros de automóveis (LI et al., 2018). Conforme os autores deste estudo, os padrões de qualidade do ar atuais devem ser revistos, com vistas a considerar a transmissão de ARG e os riscos de saúde pública concernentes a essa disseminação.

Em ambientes com ar interior, evidências acerca da transmissão de bactérias resistentes a antimicrobianos, assim como a disseminação de genes de resistência também tem sido verificada. Em estudo realizado por Sapkota et al. (2006), foi constatado a presença de *Enterococcus* spp. e *Streptococcus* spp. no ar interior de uma fábrica de alimentação animal, com carreamento de importantes genes de resistência. Resistência a antibióticos tem sido verificada também em isolados bacterianos coletados de amostras de ar em edifícios comerciais (BRAÇOSZEWSKA; BIEDROŃ, 2018). Mirhoseini et al. (2016a) demonstraram que o ar interior hospitalar pode constituir um importante meio para a transmissão de patógenos bacterianos. Eles identificaram dentre outras espécies, *Acinetobacter* e *Staphylococcus* carreando genes de resistência aos  $\beta$ -lactâmicos. Bactérias multidroga resistentes (MDR) foram relatadas em amostras de ar hospitalar na Etiópia (SOLOMON et al., 2017). Nesse estudo, foram detectadas importantes espécies envolvidas em surtos de infecção hospitalar como *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterococcus* sp. e *Acinetobacter* sp., com cerca de 75.3% dos isolados apresentando multiresistência. Evidências adicionais comprovando a importância do ar interior como disseminador de bactérias MDRs têm sido fornecidas em estudos realizados por Diriba et al. (2016) e Messi et al. (2015).

### **3.4 Biofilmes em *Staphylococcus***

Além dos problemas relacionados à grande capacidade de resistência a antimicrobianos, *Staphylococcus* sp. possuem fatores de virulência que lhes conferem uma maior notabilidade. De todos estes fatores, biofilmes são aqueles que recentemente tem sido visto com grande preocupação, sobretudo pelo fato de muitas infecções relacionadas a estas bactérias estarem relacionadas a sua ocorrência (BIXLER; BHUSHAN, 2012). Quando agregadas, as células bacterianas conseguem maior proteção e melhor condição de sobreviverem às adversidades do ambiente, persistindo por um tempo maior do que se estivessem isoladas (ABDALLAH et al., 2014). *S. aureus* e *S. epidermidis* são as espécies mais importante do gênero no que diz respeito à formação de biofilmes (PARSEK; SINGH, 2002), contudo, esta produção pode ocorrer em



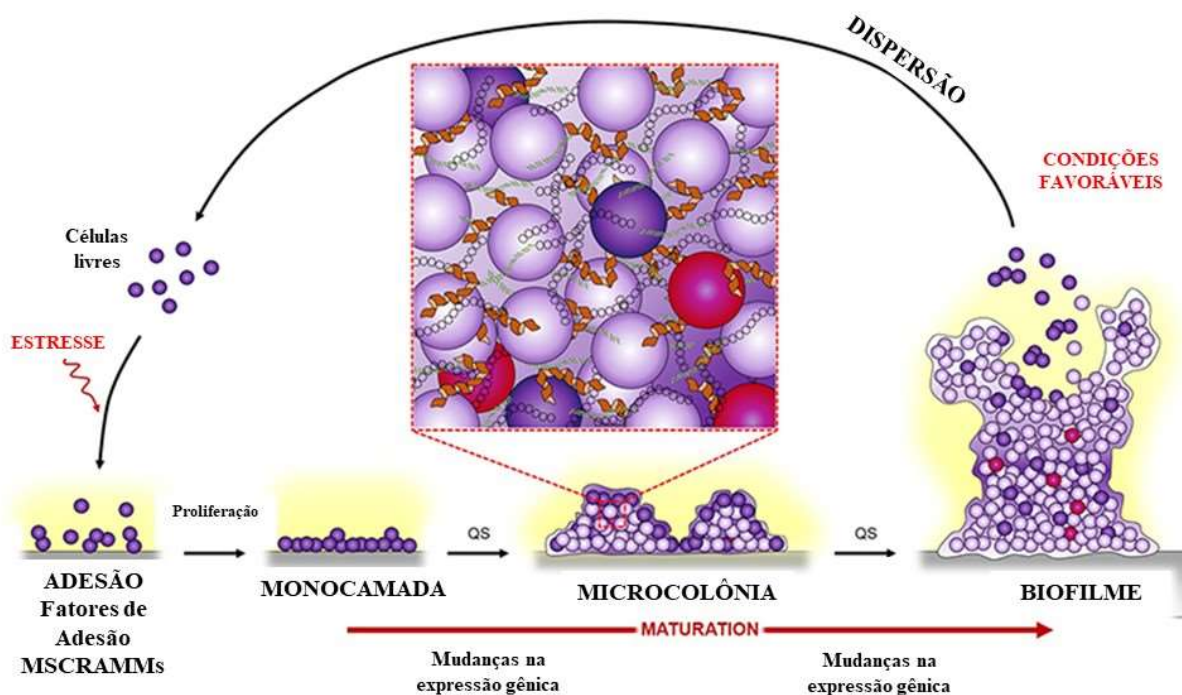
outras espécies de SCoN clinicamente importantes como *Staphylococcus haemolyticus* (SREDNIK et al., 2017), *Staphylococcus lugdunensis* (FRANK; PATEL, 2007) e *Staphylococcus saprophyticus* (SOUMYA et al., 2017).

Um dos mais significativos impactos da formação de biofilmes está relacionado à capacidade das bactérias em aderirem a superfícies de dispositivos médico-hospitalares, o que contribui para a ocorrência de infecções relacionadas ao uso destes materiais (OTTO, 2013a). Infecções associadas a biofilmes propiciam às células bacterianas a capacidade de resistirem às respostas imunes do organismo hospedeiro, bem como resistência a ação dos antibióticos, agravando ainda mais o problema (HØIBY et al., 2010). Vários são os dispositivos médicos associados a infecções causadas por *Staphylococcus* produtores de biofilmes. Ceteteres, próteses valvares cardíacas, marca-passos, lentes de contato, tubos endotraqueais são alguns dos dispositivos em que a formação desta estrutura pode levar a sérios problemas de saúde (PERCIVAL et al., 2015; IMAD et al., 2013).

Segundo Gün et al. (2009), biofilmes são comunidades de microrganismos envolvidos em uma matriz polissacarídica e que estão aderidos a uma superfície. Esta matriz é formada não apenas por polissacarídeos, mas também pode conter proteínas e DNA (BRANDA et al., 2005). Dentro desta estrutura, bactérias se comunicam entre si a partir da produção, liberação e reconhecimento de pequenas moléculas (mecanismo denominado de *quorum sensing*), o que determina a expressão de genes com importantes funções para manutenção do biofilme (SAGINUR et al., 2006). Conforme Reffuveille et al. (2017), as etapas envolvidas na formação de biofilmes são: adesão reversível e irreversível, maturação e dispersão (figura 7).

Em um primeiro momento, células bacterianas aderem-se a superfícies diversas e isto ocorre graças a influência de alguns parâmetros como interações hidrofóbicas e eletrostáticas, forças hidrodinâmicas e a temperatura do ambiente (REFFUVEILLE et al., 2017). Proteínas de superfícies como componentes da superfície microbiana que reconhecem moléculas da matriz (MSCRAMMS - do inglês, microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules) também são importantes nesta aderência inicial (PATTI et al., 1994). Uma vez feita

Figura 7 – Etapas da formação de biofilmes em bactérias.



A formação de biofilmes envolve etapas sequenciais como adesão, maturação e dispersão. Células livres aderem-se a superfícies graças a ação de fatores de adesão como MSCRAMMs. Após a adesão, as bactérias formam uma monocamada em decorrência da proliferação. A maturação ocorre por meio das comunicações entre as células bacterianas, o que promove a síntese de exopolissacarídeo em grandes quantidades. A dispersão final é mediada pelo sistema agr via enzimas secretadas e modulinas solúveis em fenol, permitindo que as bactérias explorem novos nichos.

Adaptado de: REFFUVEILLE et al. (2017).

a adesão inicial, há a multiplicação das células bacterianas, com consequente formação de microcolônias e uma estrutura fortemente aderida a superfície, difícil de ser removida (SREY et al., 2013). A próxima etapa consiste na maturação do biofilme, e de acordo com Reffuveille et al. (2017), ela se dá por meio do desenvolvimento de uma estrutura multicelular, cujo crescimento é controlado pela ação de moléculas mediadoras, redução da atividade metabólica e cooperação entre as células bacterianas. Ainda conforme os autores, esta etapa tem seu início quando ocorre a criação de uma agregação intercelular decorrente da grande produção de um polissacarídeo extracelular denominado matriz. Em *Staphylococcus*, o principal exopolissacarídeo da matriz é a adesina intercelular polissacarídica (PIA – do inglês, polysaccharide intercellular adhesin), formada por N-acetilglucosamina  $\beta$ -1,6-glicosídeo (ARCIOLA et al., 2015).

A última etapa da formação de biofilmes é chamada de dispersão e envolve o retorno das células para um estado de vida livre, seja de forma individual ou agregadas. Isto vai ocorrer em decorrência de boas condições no ambiente ou então no caso da expansão do biofilme

(REFFUVEILLE et al., 2017). Em infecções relacionadas a biofilmes, esta dispersão permite que as células bacterianas cheguem à corrente sanguínea, ocasionando frequentemente em disseminação sistêmica (OTTO, 2013b). A dispersão tende a acontecer em resposta a ação de moléculas moduladoras e a atividade de algumas proteases, que promoverão a desestruturação do biofilme em decorrência da degradação das adesinas e do polímero extracelular (LAVERTY et al., 2013).

Em *S. aureus* e algumas outras espécies de SCoN, a síntese de PIA é mediada pelo locus *icaADBC* que foi descoberto e primeiramente estudado por Heilmann et al. (1996). Este locus gênico é parte do conjunto de genes acessórios o que diferentemente daqueles tido como genes constitutivos, não é encontrado em todos os isolados bacterianos. Assim, sua presença é vista somente em *Staphylococcus* formadores de biofilmes baseado no mecanismo de secreção de exopolissacarídeo (ARCIOLA et al., 2015). Os genes *icaA*, *icaD*, *icaB* e *icaC* mais o promotor *icaR* fazem parte da composição do locus *ica*, com os dois primeiros sendo fundamentais na síntese de PIA.

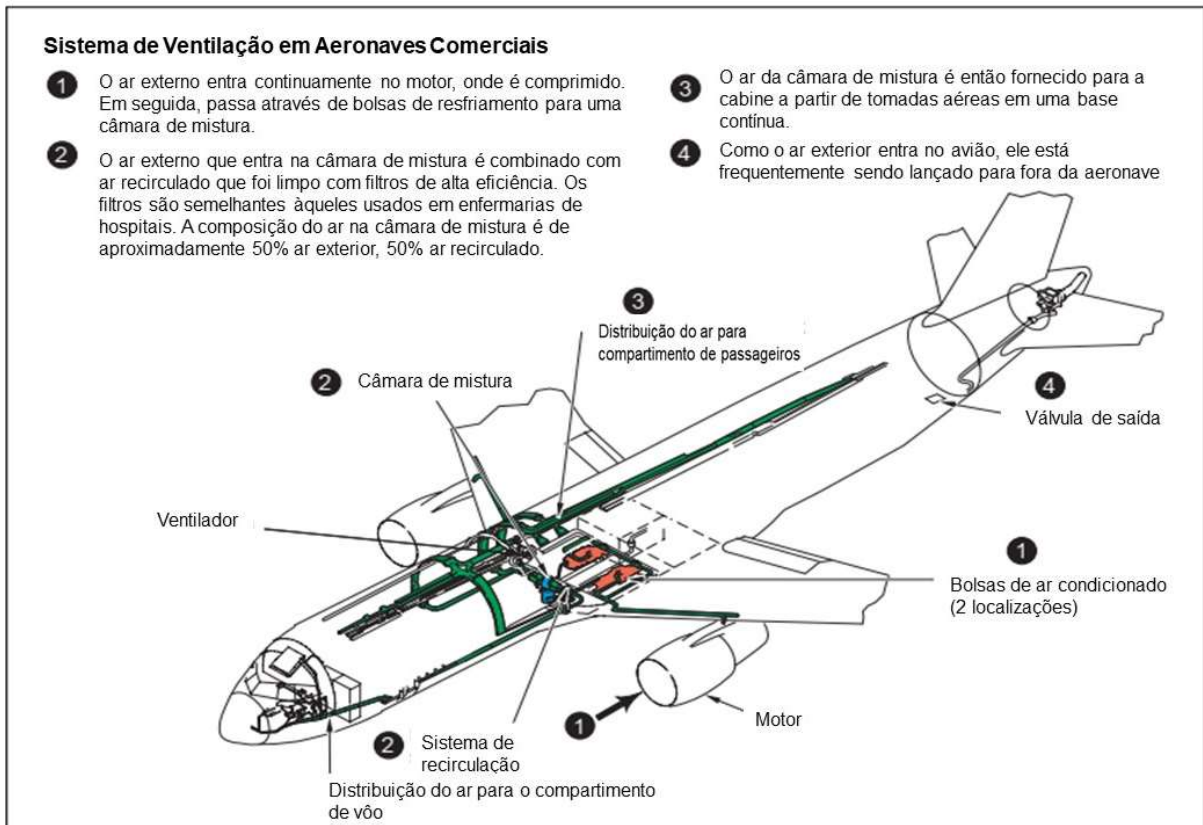
O gene *icaA* codifica para a enzima N-acetilglucosaminiltransferase, e esta é a responsável por sintetizar o exopolímero. A expressão única do gene *icaA* não induz a formação de quantidades suficientes de PIA, o que vai acontecer somente quando há coexpressão com o gene *icaD*, levando a uma maior atividade enzimática de transferase (GERKE et al., 1998). Vuong et al. (2004) descrevem que o gene *icaC* sintetiza uma molécula responsável pela translocação do polímero N-acetilglucosamina para a superfície da célula bacteriana, enquanto *icaB* vai codificar uma molécula que opera a desacetilação deste polímero. O gene *icaR* exerce papel de regulador negativo, atuando na repressão da expressão dos genes do locus *ica*, sendo influenciado pelo regulador acessório dos *Staphylococcus* e pelo fator sigma alternativo  $\sigma^B$  (CERCA et al., 2008; CONLON et al., 2002a).

### 3.5 Viagens e doenças infecciosas

Em aeronaves comerciais, o ar fornecido a passageiros e tripulantes provém de uma combinação de ar externo (ambiente) condicionado que foi redirecionado para a cabine a partir dos estágios do motor compressor, bem como do próprio ar da cabine que foi extraído, filtrado e depois retorna a circular dentro da aeronave (figura 8) (MANGILI et al., 2016). Cerca de 10% a 50% do ar na cabine sofre recirculação e mistura com o ar externo, permitindo que a qualidade do ar em aeronaves sofra um cuidadoso processo de controle, com trocas de ar ocorrendo cerca de 20 a 30 vezes por hora (BRUNETTE et al., 2017). Em grande parte dos novos modelos de

aeronaves, o ar reciclado passa por filtros de ar particulado de alta eficiência (HEPA, do inglês *High Efficiency Particulate Arrestance*), capturando cerca de 99,9% das partículas (bactérias, fungos e vírus) com 0,1-0,3 µm de diâmetro (MANGILI et al., 2016).

**Figura 8 – Descrição do sistema de ar condicionado em aeronaves comerciais.**



Fonte: HUNT; SPACE, 1994.

Ademais, o ar tende a circular em áreas definidas dentro da aeronave, limitando assim a dispersão de patógenos aerossolizados, resultando em uma condição não propícia para a propagação da maioria das doenças infecciosas (BRUNETTE et al., 2017; PAVIA, 2007). Ainda que filtros HEPA comprovadamente sejam eficientes em remover grande parte dos microrganismos aerossolizados, há fortes evidências demonstrando que eles também podem constituir importantes fontes de contaminação para o ar interior, quando não observada a manutenção adequada destes equipamentos (LIU et al., 2018). Em condições de temperatura e umidade relativa adequadas, microrganismos retidos nos filtros podem se multiplicar utilizando partículas orgânicas aderidas ao filtro como fonte de alimento (KORVES et al., 2011; MITTAL et al., 2011; SIMMONS et al., 1997). Assim, uma vez multiplicando nos filtros, microrganismos podem danificar e comprometer a eficiência de funcionamento destes, o que pode levá-los ao invés de reter as partículas, disseminá-las para o ambiente.

É importante destacar que ainda não existe nenhuma regulamentação exigindo a utilização e testes prévios da comprovação da eficiência dos filtros HEPA instalados nos aviões comerciais atualmente utilizados (PAVIA, 2007). Assim, Mangili e colaboradores (2016) pontuam que a elaboração de regulamentos internacionais mais aprimorados no que diz respeito a inspeção, certificação e manutenção dos sistemas de controle ambiental de aeronaves serão de suma importância para minimizar os riscos da disseminação de doenças infecciosas.

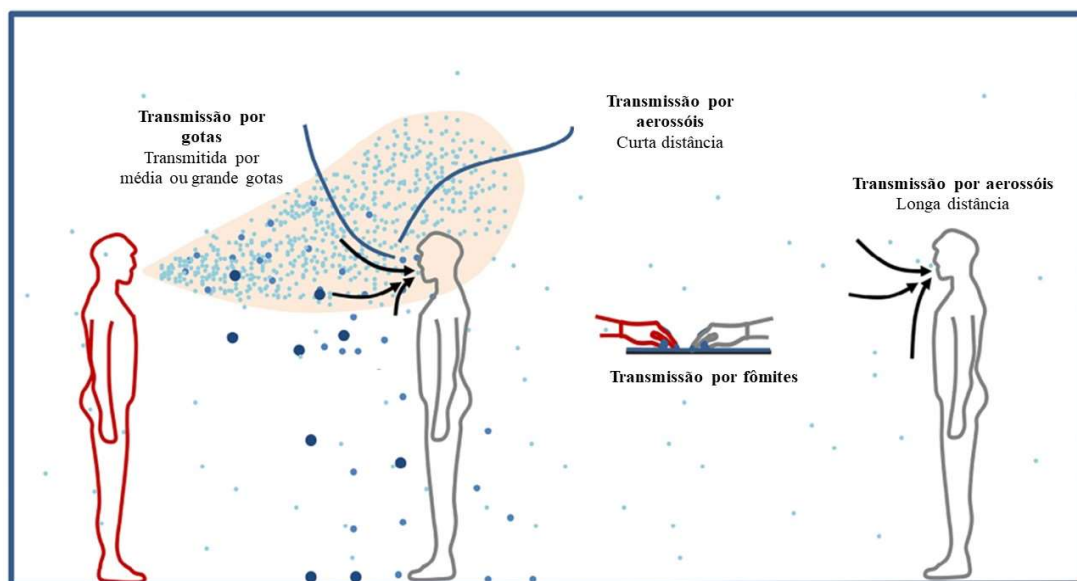
A qualidade do ar em aviões comerciais tem sido alvo de algumas investigações, pois é contundente o entendimento acerca do risco da transmissão de doenças no ambiente de cabine (KULCZYŃSKI et al., 2017; SPENGLER; WILSON, 2003; PIERCE et al., 1999; HUNT; SPACE, 1994). Existe uma preocupação relacionada ao fato de que parte das partículas aerossolizadas provavelmente sejam provenientes da distribuição feita pelo sistema de ventilação das aeronaves (MANGILI; GENDREAU, 2005). É importante, contudo, esclarecer que nenhuma evidência sólida tem sido fornecida a respeito desta hipótese. Entretanto, em um estudo detalhado acerca da qualidade do ar em aeronaves comerciais, os autores concluíram que a temperatura, umidade relativa, velocidade do ar, concentração de monóxido de carbono, CO<sub>2</sub> e flora microbiana a bordo de 14 voos comerciais foram equivalentes às condições observadas em estudos da qualidade do ar em outros ambientes (AHGW, 2004 apud MANGILI; GENDREAU, 2005). Esta informação chama atenção para o fato de que, sendo observadas as mesmas condições que outros ambientes com ar interior, a contaminação do ar pode ocorrer seguindo a influência dos mesmos fatores e com os indivíduos estando sujeitos aos mesmos riscos de exposição.

O transporte aéreo de passageiros (ou viagens aéreas) pode ser considerado um dos principais meios a contribuir na disseminação global de doenças infecciosas, permitindo assim que patógenos ultrapassem barreiras e alcancem os mais variados lugares (OSTROFF, 2016). Isto permite que estes sejam disseminados em áreas endêmicas, bem como sejam introduzidos em áreas anteriormente livres (não endêmicas). A disseminação de doenças por meio de viagens aéreas tende a ocorrer durante a viagem (no aeroporto ou a bordo da aeronave) ou então posteriormente a ela (quando da chegada ao destino) (PETERSEN; CHEN; SCHLAGENHAUF-LAWLOR, 2017). Kirking et al. (2010), descreveram a provável transmissão de norovírus ocorrendo a bordo de um voo que saiu de Boston com destino a Los Angeles. Neste estudo, um grupo de turistas sofreu com diarreias e vômitos durante toda a viagem e, dado a curta duração do percurso, os autores concluíram que a transmissão tenha ocorrido em voo. Outros casos envolvendo a transmissão de doenças durante o voo tem sido

relatado por Hoad et al. (2013) e Young et al. (2014), ambos os casos relacionados a patógenos virais. Em relação a transmissão do patógeno pós-viagem, Hoskins et al. (2011) relataram a ocorrência de surtos de sarampo após a chegada de três pessoas que provavelmente foram infectadas durante o período em que estiveram em viagem. A disseminação de bactérias com perfil de resistência a antibióticos pós-viagem tem sido relatada por Kuenzli et al. (2014).

Não existe um modo único pelo qual doenças infecciosas são transmitidas em aeronaves. Ao contrário, ela ocorre principalmente por meio da transmissão por contato e via aerossóis (MANGILI; GENDREAU, 2005). A transmissão por contato ocorre via contato direto entre indivíduos (corpo a corpo) ou então, via contato indireto com superfícies contaminadas (via fômites). Outra forma de transmissão por contato envolve a presença de gotas. Nesta forma de transmissão, grandes gotas ( $\geq 5 \mu\text{m}$ ) contendo patógenos e que foram geradas pela fala, tosse ou espirros de um indivíduo infectado, são expelidas a uma curta distância, capaz de serem depositadas sobre a mucosa nasal ou oral de um indivíduo suscetível (figura 9) (LIU et al., 2017). A transmissão via aerossol ocorre quando pequenos núcleos de gotas ( $\leq 5 \mu\text{m}$ ) contendo agentes infecciosos permanecem suspensos no ar e podem facilmente serem inalados, bem como amplamente disseminados pelo ambiente (figura 9) (TELLIER et al., 2019). Água e alimentos contaminados no ambiente de cabine também podem carrear microrganismos potencialmente patogênicos (MANGILI; GENDREAU, 2005).

**Figura 9 – Transmissão de doenças infecciosas por gotas, fômites e aerossóis.**



Fonte: Modificado de: WEI; LI, 2016.

De todos os modos de transmissão de doenças em aeronaves comerciais, a transmissão por grandes gotas e via aerossóis podem ser considerados os que mais representam riscos aos

passageiros (WEI; LI, 2016). Os fatores relacionados a transmissão de infecção no ambiente de cabine podem ser os mais variados. Mangili e colaboradores (2016) apontam como fatores: geometria do assento e da cabine, densidade de ocupação, intensidade das fontes de contaminação (taxa de geração de um agente infeccioso), exposição (proximidade da fonte e duração da exposição) e a ventilação. De todos estes fatores elencados, a densidade de ocupação mais o comportamento e movimento de passageiros e tripulantes dentro da cabine, constituem os pontos mais relevantes quando consideramos a transmissão de doenças em aeronaves (KULCZYŃSKI et al., 2017; SCHWARTZ; MACIAS-MORIARITY; SCHELLING, 2012). Estudos realizados por Hertzberg (2018) e Han et al. (2014) forneceram evidências acerca do movimento e comportamento de pessoas dentro do ambiente de cabine e o aumento no risco de infecção. Voos com longo percurso e tempo de duração expõe passageiros e tripulantes a um maior contato com patógenos aerossolizados ou indivíduos infectados (caso índice ou paciente zero), o que pode também aumentar significativamente o risco de infecção (KENYON et al., 1996).

O ar que circula dentro da cabine em aeronaves comerciais pode estar contaminado com microrganismos potencialmente infecciosos que causam os mais variados tipos de doenças. A literatura demonstra que as principais doenças relacionadas a viagens compreendem infecções gastrointestinais, doenças febris, problemas dermatológicos e infecções respiratórias (tabela 3) (BRUNI; STEFFEN, 1997).

Doenças gastrointestinais geralmente estão associadas com alimentos e água contaminados servidos a bordo, assim como um passageiro doente que serve como fonte de aerossóis (KULCZYŃSKI et al., 2017). Surtos de doenças gastrointestinais ocasionadas *Vibrio cholerae* e *Shigella sonnei* em alimentos contaminados servidos durante voos internacionais foram relatados por Eberhart-Phillips et al. (1996) e Gaynor et al. (2009), respectivamente. Revisão de literatura feita por McMullan et al. (2007) descreve vários surtos de intoxicações alimentares relacionados a alimentos contaminados servidos a bordo de aviões comerciais, destacando como agente etiológico de alguns surtos *S. aureus*, *Salmonella typhi*, *E. coli*, *Clostridium perfringens*, entre outros. Infecção gastrointestinal ocasionada por Norovírus em aeronaves foi também relatado (THORNLEY et al., 2011).

**Tabela 3 – Algumas doenças relacionadas a viagens aéreas.**

<b>Possíveis sintomas</b>	<b>Categoria de doença</b>	<b>Disseminação da infecção</b>
Tosse, espirros, febre, erupção cutânea ou dificuldade em respirar	Respiratória	Via grandes gotas ou aerossóis contaminados ou contato com superfícies contaminadas
Náusea, dor de estômago, vômito, febre ou diarreia	Gastrointestinal	Contato com superfícies contaminadas, fezes ou vômitos, ou alimentos e água contaminados
Sangramento visível, devido a lesão ou não	Doenças transmitidas pelo sangue	Contato com cortes abertos, arranhões ou membranas mucosas (revestimento da boca, olhos ou nariz)

Fonte: Adaptação de publicação feita no *Centers for Disease Control and Prevention* – CDC.

Infecções do trato respiratório compreendem o principal grupo de doenças com transmissão relacionadas a viagens aéreas. Fungos, bactérias e vírus podem causar danos tanto às vias aéreas superiores quanto às vias aéreas inferiores. Doenças respiratórias em aeronaves são transmitidas principalmente pela exposição a grandes gotas ou contato com fômites, assim como pela inalação de aerossóis contaminados suspensos no ar. Um artigo de revisão de literatura feito por Duong e Waldman (2016), destaca as principais infecções respiratórias com transmissão em viagens aéreas e também discute medidas preventivas a fim de serem evitadas epidemias e pandemias ocasionadas pela rápida e fácil disseminação destas doenças. A tabela 4 apresenta as principais doenças respiratórias com transmissão em viagens aéreas.

De todas as doenças respiratórias transmitidas em aeronaves comerciais, aquelas ocasionadas pelo vírus Influenza e pela bactéria *M. tuberculosis* são as que mais se destacam. Consideráveis são os estudos relatando os riscos de transmissão, bem como a ocorrência de tuberculose em aviões comerciais (OTA; KATO, 2017; ABUBAKAR, 2010; WHO, 2008; DRIVER et al., 1994). De igual modo, vários são os relatos da ocorrência de infecções por Influenza vírus em aeronaves comerciais, destacando inclusive infecções por subtipos diferentes como H1N1 e H7N9 e por Influenza B (LEI; TANG; LI, 2018; SKOWRONSKI et al., 2016; NEATHERLIN et al., 2013; LEDER et al., 2013). Uma revisão sistemática feita por Leitmeyer e Adlhoch (2016), traz uma avaliação acerca das evidências envolvendo a transmissão de influenza a bordo de aeronaves comerciais.



Viagens aéreas não apenas contribuem para a disseminação de patógenos bacterianos, mas também desempenham grande importância na dispersão de bactérias resistentes a antibióticos por todo o globo terrestre. Revisão de literatura feita por Schwartz e Morris (2018) descreve a importância das viagens aéreas na propagação mundial do problema envolvendo bactérias resistentes, destacando recentes achados na literatura. Enterobactérias produtoras de  $\beta$ -lactamase de espectro estendido e com resistência a carbapenêmicos, assim como *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) são algumas das bactérias mencionadas na revisão supracitada. Disseminação de *M. tuberculosis* extensivamente droga resistente (EDR) associada a viagem aérea foi relatada por An Der Heiden et al. (2017).

**Tabela 4 – Principais doenças respiratórias relacionadas a viagens aéreas.**

<b>Microrganismo</b>	<b>Manifestação clínica</b>	<b>Principal meio de transmissão</b>
Vírus		
MERS-CoV	Síndrome Respiratória do Oriente Médio	Contato com gotas contaminadas
SARS-CoV	Síndrome Respiratória Aguda Grave	Contato com gotas contaminadas e inalação de aerossóis
Influenza A e B	Doença febril caracterizada por tosse, dor de garganta e mialgia	Contato com gotas contaminadas e inalação de aerossóis
Bactéria		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Pneumonia e Meningite	
<i>Haemophilus influenzae</i>	Pneumonia, Meningite, Bacteremia	Contato próximo com secreções respiratórias e por gotas contaminadas
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Pneumonia	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Pneumonia	
<i>Legionella pneumophila</i>	Doença do legionário	Inalação de aerossóis contaminados
<i>Burkholderia pseudomallei</i>		Inalação, ingestão ou contato direto com água contaminada
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (EDR e MDR)	Tuberculose	Aerossol
Fungos		
<i>Histoplasma capsulatum</i>	Complicações pulmonares	Inalação de aerossóis contaminados
<i>Coccidioides immitis</i>	Complicações pulmonares	Inalação de aerossóis contaminados
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	Complicações pulmonares	Inalação de aerossóis contaminados
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	Complicações pulmonares	Inalação de aerossóis contaminados

EDR – Extensivamente droga-resistente; MDR – Multi-droga resistente. Fonte: Adaptação de (DUONG; WALDMAN, 2016).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Coleta de ar

Esta pesquisa foi desenvolvida no Aeroporto Internacional Zumbi dos Palmares, estado de Alagoas, durante um período de doze meses, com início em Janeiro de 2018 e finalização em Janeiro de 2019. Foram realizadas coletas mensais, onde nos seis primeiros meses, foram realizadas quatro visitas ao mês para a coleta nas aeronaves. Nos últimos seis meses a frequência de idas foi diminuída para duas vezes ao mês, em decorrência da grande quantidade de amostra biológica obtida nas coletas realizadas no primeiro semestre e o cuidado para não perdermos nenhuma delas. Assim, foram realizadas durante o período de monitoramento 44 visitas ao aeroporto. As amostras foram obtidas utilizando o coletor de bioaerossóis portátil SAS Super ISO 100 (VWR Collection), em uma taxa de fluxo de ar de 100 L/min. O ar foi coletado entre o momento do pouso e a próxima decolagem, e a entrada dentro da aeronave só foi possível mediante acompanhamento do fiscal sanitário da Agência Nacional de Vigilância Sanitária e permissão do comandante responsável.

Coletas de ar foram realizadas na cabine dos pilotos, bem como percorrendo todo o espaço da cabine onde ficam os passageiros e tripulação, em um período de tempo de aproximadamente seis minutos. O coletor de bioaerosol foi posicionado a uma faixa de altura de mais ou menos 1,5 m do chão. A avaliação da qualidade do ar foi feita em aeronaves de companhias aéreas que atualmente operam no Brasil com rotas nacionais e internacionais. Os equipamentos analisados foram Airbus A320 e A321, Boeing 737-800, Embraer ATR 72-600 e E195. Uma vez que o aeroporto internacional Zumbi dos Palmares não possui grande variedade de rotas, compreendendo principalmente voos para Brasília, São Paulo, Rio de Janeiro, Recife e por vezes, Belo Horizonte, o tempo de viagem acabou sendo semelhante. Exceto para Recife, cujo tempo de voo esteve abaixo de uma hora ( $\cong$  45 minutos), as outras viagens tiveram percursos que não excederam a três horas. Durante o período de coleta, as aeronaves realizaram viagens com a capacidade máxima de passageiros ou então próximo dela. De acordo com os fabricantes, a capacidade total de passageiros dos diferentes equipamentos avaliados são: A320 e A321, 185 e 220 passageiros respectivamente; Boeing 737-800, 199 passageiros; ATR 72-600, 72 passageiros; E195, 124 passageiros.

A pesquisa foi realizada observando as normas técnicas NT01, NT02, NT03, e NT04 da Resolução N°9, regulamentadas pela ANVISA no ano de 2003 (BRASIL, 2003), que dispõem acerca do monitoramento de bioaerossóis, análise da concentração de CO<sub>2</sub>, determinação da

temperatura e umidade relativa do ar e análise da concentração de aerodispersóides em ambientes com ar interior. Bioaerossóis fúngicos e bacterianos foram investigados como contaminantes microbiológicos do ar interior em aeronaves comerciais. Como parte do cumprimento de exigência feita pela RE N°9, foram também realizadas coletas do ar atmosféricos em áreas abertas do Aeroporto, o mais próximo possível das aeronaves.

## **4.2 Análise microbiológica**

### **4.2.1 Bioaerossóis fúngicos**

Para coleta de fungos filamentosos foram utilizadas placas de Petri descartáveis (90x15mm) contendo meio específico Ágar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol (DRBC). Ágar Sabouraud também foi utilizado à medida em que as amostras foram processadas para a identificação. O meio de cultura DRBC é comumente utilizado para isolamento e enumeração de fungos, enquanto o Sabouraud é utilizado para o isolamento de fungos e leveduras, especialmente fungos dermatófitos (FAIA, 2011). Após a coleta as placas foram levadas para o Laboratório de Ambientes Climatizados da Universidade Federal de Alagoas, e colocadas em estufa de crescimento a uma temperatura de 28 °C, permanecendo por um período de cinco a seis dias, tempo no qual se observou ótimo crescimento fúngico nas placas. Após crescimento, a contagem das colônias fúngicas foi realizada, observando o valor de unidade formadora de colônias (UFC) limite estabelecido pela RE N°9 de 750 UFC/m<sup>3</sup> (metro cúbico de ar). Registros fotográficos das placas foram feitos utilizando Câmera Digital Cybershot 12.1 Megapixels, ©Sony.

Posteriormente, os isolados foram purificados através de cultura central em meio ágar Sabouraud e os fungos foram identificados com base nas características macroscópicas das colônias como cor, superfície e textura do verso e reverso, através de chaves de identificação segundo De Hoog et al. (2000).

Para as observações das características microscópicas, foram realizados microcultivos conforme descrito por Ridell (1950). Este procedimento consistiu na inoculação do isolado fúngico sobre um pequeno bloco de meio ágar Lactrimel sobre uma lâmina de vidro que estava apoiada em um canudo no interior de uma placa Petri de 100x10 mm esterilizada. Após inoculação do fungo, o bloco de meio foi coberto com uma lamínula de 22x22 mm. Papel filtro foi colocado no interior da placa e depois foi umedecido com 1 ml de água destilada esterilizada e a placa incubada em estufa, a 28°C por 7 dias. Após a incubação, a lamínula foi retirada e colocada sobre uma lâmina contendo solução Lactofenol de Amann, que é bastante utilizada

para coloração de esporos e micélios de fungos hialinos. As lâminas preparadas foram observadas ao microscópio óptico em aumento de 40 e 100X para a visualização das características estruturais e reprodutivas do fungo. A espécie fúngica foi identificada através de suas características morfológicas seguindo os critérios adotados nas chaves de identificação de De Hoog et al. (2000). As amostras identificadas foram conservadas em água destilada conforme método de Castellani (1939).

#### 4.2.2 Rastreamento de micotoxinas

O rastreamento de micotoxinas foi feito a partir de um método rápido descrito por Lin e Dianese (1976). Amostras em conservação foram reativadas por meio de semeio radial de 50 µL da suspensão de esporos na superfície de placas de Petri contendo meio de cultura ágar Leite de Coco, sendo mantidas em estufa a 28 °C por cinco dias. Após o período de incubação, procedeu-se à análise de atividade tóxica por meio de visualização a olho nu da presença de pigmentação, e posteriormente verificado a presença de halos de fluorescência ao redor das colônias sob luz ultravioleta em transiluminador UV Vilber Lourmat a 365 nm de comprimento de onda. A presença de pigmentação e halo de fluorescência fornecem uma indicação de que a espécie é potencial produtora de micotoxinas.

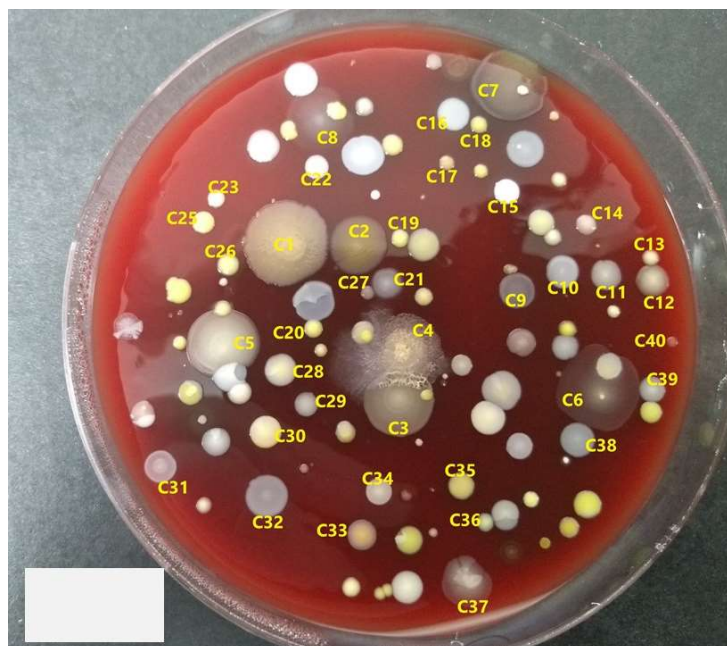
#### 4.2.3 Bioaerossóis bacterianos

A pesquisa de bactérias no ar de aeronaves comerciais foi feita utilizando placas contendo o meio ágar sangue. Este meio foi escolhido por proporcionar o crescimento de grande parte das bactérias gram-positivas e gram-negativas, a partir de uma base rica e suplementada, oferecendo ótimas condições de desenvolvimento para microrganismos não fastidiosos. Após a coleta, as placas foram incubadas em estufa a 37 °C, permanecendo lá por um período de máximo 48 horas quando foi observado um ótimo crescimento das colônias.

Uma vez observado crescimento nas placas, foi feita seleção das colônias de interesse. Para tal, critérios próprios foram estabelecidos, sendo levado em conta o tamanho das colônias, coloração, morfologia e repetição da colônia na placa, com escolha de uma colônia representativa (figura 10). Tendo sido feita a seleção, as colônias foram repicadas e semeadas em placas contendo meio BHI ágar (do inglês *Brain Heart Infusion*), com período de incubação de 48 horas para obtenção de cultura pura. Após obtenção de cultura pura, as amostras foram levadas para crescimento em BHI caldo com vista a preparação de uma alíquota para extração de DNA e conservação em glicerol. Esta etapa foi feita conforme descrito por Pires (2011). Inicialmente, cultura pura foi inoculada em tubo Eppendorf de 1,5 ml contendo 1,250 µl de BHI

caldo e colocada em estufa para crescimento a 37 °C por até 48 horas. Após crescimento, 250 µl da amostra foi transferida para tubo criogênico (2 ml) contendo 500 µl de BHI caldo, e procedeu-se nova incubação a 37 °C por até 48 horas. Findo este período, foi adicionado 750 µl de glicerol 20% e os tubos foram devidamente identificados e armazenados a 4 °C. O volume de 1000 µl restante foi utilizado para extração de DNA.

**Figura 10 – Seleção das colônias.**



AUTOR, 2019.

#### 4.2.4 Identificação molecular das bactérias

Inicialmente foi feita a identificação dos isolados com base na composição da parede celular bacteriana (Gram + e Gram -), por meio da coloração de Gram (HOLT et al., 1994). Feito isto, o DNA das amostras foi extraído seguindo protocolo de Dashti et al. (2009), com modificações. Bactérias gram negativas e positivas tiveram seu DNA extraído como segue: 1 ml da cultura pura foi centrifugado a 14 000 rpm por 5 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi descartado e o pellet de células bacterianas foi ressuspenso em 1 ml de H<sub>2</sub>O Milli-Q estéril, com nova centrifugação a 14 000 rpm por 5 minutos. Este procedimento foi repetido. Após a centrifugação, o sobrenadante foi novamente descartado e o pellet foi ressuspenso em 200 µl de Tampão TE (Tris-EDTA, pH 8,0), sendo submetido a fervura a 99 °C por 15 minutos. Finalizado o tempo de aquecimento, os tubos foram imediatamente submetidos a congelamento em freezer -20 °C por 15 minutos. Completado o tempo de congelamento, os tubos foram mantidos em temperatura ambiente até o descongelamento total e foi adicionado 500 µl de

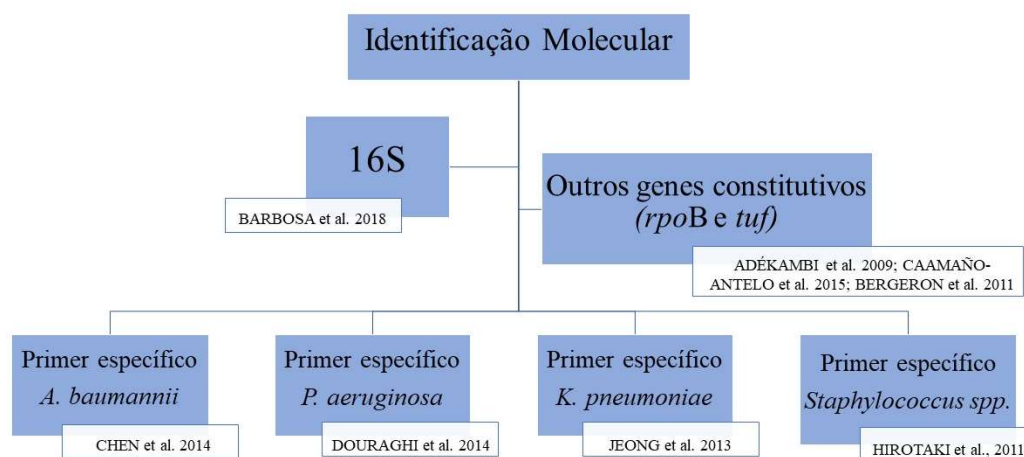
Clorofórmio/Álcool isoamílico (24:1) com posterior centrifugação a 14 000 rpm por 10 minutos. Por fim, o sobrenadante contendo o DNA (150 µl) foi transferido para um novo tubo e armazenado em freezer -20 °C até sua utilização em análises posteriores.

Para a identificação molecular, o DNA extraído foi utilizado para reações de amplificação por PCR (*Polymerase Chain Reaction*), utilizando primers já descritos na literatura (figura 11). Inicialmente, foi utilizado primers que amplificaram um fragmento do gene 16S DNAr (BARBOSA et al., 2018), por se tratar de uma abordagem amplamente utilizada em estudos de taxonomia bacteriana. Entretanto, devido a baixa variabilidade entre as sequências do gene 16S (FOX et al., 1992), foi necessário a utilização de outros genes marcadores que pudessem fornecer uma melhor identificação. Assim, para bactérias Gram-negativas, amostras cuja identificação não pôde ser determinada pela utilização do gene 16S, foi utilizado um par de primers que amplificou um fragmento do gene *rpoB* (subunidade β da RNA polimerase bacteriana, específico para gama-proteobactérias) (ADÉKAMBI et al., 2009). Com o propósito de se obter uma identificação mais rápida, primers espécie-específicos para *Acinetobacter baumannii* (CHEN et al., 2014), *Pseudomonas aeruginosa* (DOURAGHI et al., 2014) e *Klebsiella pneumoniae* (JEONG et al., 2013) também foram utilizados. Os programas utilizados no termociclador para amplificação dos fragmentos de interesse foram os mesmos descrito nas referências acima mencionadas para cada par de primer, exceto em alguns casos onde a temperatura de anelamento foi alterada. A sequência dos primers, tamanho dos amplicons e alteração na temperatura de anelamento podem ser visualizadas na tabela 6.

Para identificação de bactérias gram-positivas, especialmente *Bacillus* e *Staphylococcus* que foram os gêneros mais encontrados entre as amostras analisadas, além do gene 16S, foram utilizados primers gênero-específico que amplificaram fragmentos do gene *tuf* que também configura um marcador alternativo e com melhor poder de discriminação entre espécies relacionadas, particularmente nos gêneros supracitados (CAAMAÑO-ANTELO et al., 2015; BERGERON et al., 2011). Ainda com o propósito de obter uma rápida identificação, amostras positivas para o gênero *Staphylococcus* foram identificadas utilizando primers espécie-específicos (HIROTAKI et al., 2011), com rastreamento das principais espécies associadas a doenças em humanos. Os programas utilizados no termociclador para amplificação dos fragmentos de interesse foram os mesmos descrito nas referências acima mencionadas para cada par de primer, exceto em alguns casos onde a temperatura de anelamento foi alterada. A sequência dos primers, tamanho dos amplicons e alteração na temperatura de anelamento podem ser visualizadas na tabela 5.

A reação de PCR foi preparada em volume final de 25 µL em tubos tipo Eppendorf de 0.2 µL e continha: 2,5 µl de tampão de PCR 10X (100 mM Tris-HCl pH 8.5, 500 mM KCl), 2,5 µl de dNTPs (20 mM), 1,0 µl (0,4 µM) de cada oligonucleotídeo, 1,5 µl de MgCl<sub>2</sub> (50 mM), 0,25 µl de Taq DNA Polimerase (5U/ µl), 1 µL de DNA genômico e 15,25 µl de água ultrapura. Todas as reações ocorreram em termociclador MJ – BIOCYCLER®.

**Figura 11 – Esquematização geral das etapas para identificação molecular das amostras.**



AUTOR, 2019.

**Tabela 5 – Sequência dos primers, tamanho dos amplicons e temperatura de anelamento dos primers utilizados para identificação molecular das bactérias.**

Primers	Gene	Sequência (5' – 3')	Anelamento	Fragmento
BG1 BG2	16S DNAr	AGACTCCTACGGGAGGCAGC GGACTACCAGGGTATCTAATCC	60 °C	~500 pb
γProteoRpoB2413F γProteoRpoB3272R	<i>rpoB</i>	GCITTYATGCCITGGAAYGG TCRTCRTAIGGCATRTCYTC	51 °C	820 – 860 pb
<i>A. baumannii</i> P-Ab-ITSF P-Ab-ITSB	Região ITS	CATTATCACGGTAATTAGTG AGAGCACTGTGCACTTAAG	58 °C	208 pb
<i>P. aeruginosa</i> PA1 PA2	<i>oprL</i>	ATGGAAATGCTGAAATTCGGC CTTCTTCAGCTCGACGCGACG	57 °C	504 pb
<i>K. pneumoniae</i> KP1 KP2	<i>tyrB</i>	GGCTGTACTACAACGATGAC TTGAGCAGGTAATCCACTTTG	55 °C	931 pb
tufGPF tufGPR	<i>Bacillus - gene tuf</i>	CGTTGACTGCCAGGACAC GATACCAGTTACGTCAGTTGTACGGA	55 °C	791 pb
stat1 stat2	<i>Staphylococcus - gene tuf</i>	TTATCACGTAACGTTGGTG CATTCWGTACCTTCTGG	53 °C	660 pb

**Tabela 5 – Sequência dos primers, tamanho dos amplicons e temperatura de anelamento dos primers utilizados para identificação molecular das bactérias.**

Primers	Gene	Sequência (5' – 3')	(conclusão)	
			Anelamento	Fragmento
<i>Staphylococcus hominis</i> hom-F hom-R	Gene <i>nuc</i>	TACAGGGCCATTAAAGACG GTTTCTGGTGTATCAACACC	52 °C	177 pb
<i>Staphylococcus epidermidis</i> epi-F epi-R	Gene <i>nuc</i>	TTGTAAACCATTCTGGACCG ATGCGTGAGATACTTCTTCG	52 °C	251 pb
<i>S. aureus</i> aur-F aur-R	Gene <i>nuc</i>	TCGCTTGCTATGATTGTGG GCCAATGTTCTACCATAGC	52 °C	359 pb
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> hae-F hae-R	Gene <i>nuc</i>	TAGTGGTAGGCGTATTAGCC ACGATATTTGCCATTCGGTG	52 °C	434 pb
<i>Staphylococcus capitis</i> cap-F cap-R	Gene <i>nuc</i>	ACTACGCCTATGATTATTGC GAYGCTTCTTTACCATAGGG	51 °C	525 pb
<i>Staphylococcus lugdunensis</i> lug-F lug-R	Gene <i>nuc</i>	TCCAATGATGGTAACGAGGC TTTTGCGCCTCGTTTTGTGC	58 °C	695 pb
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> sap-F sap-R	Gene <i>nuc</i>	TTTTGGATGCGATAGATTGG TCTTCAGACTTTTCAAAGGC	51 °C	843 pb
<i>Staphylococcus warneri</i> war-F war-R	Gene <i>nuc</i>	CGTTTGTAGCAAAACAGGGC GCAACGAGTAACCTTGCCAC	53 °C	999 pb

Após as reações de amplificação dos genes 16S, *rpoB* e *tuf*, uma alíquota (5 µl) dos produtos de PCR foi aplicada em gel de agarose a 1,2% e submetidos à eletroforese em tampão TBE (Tris-Ácido bórico, EDTA 0,5M pH 8,0) em voltagem de 85V/cm durante uma hora e 20 minutos. Após a eletroforese, o gel foi corado em brometo de etídeo por dois minutos, e descorado em água destilada para ser visualizado em transiluminador de luz ultravioleta (312 nm de comprimento de onda) e fotografado. Os produtos das reações de PCR foram enviados para Macrogen Inc. (Seul, Coréia do Sul), sendo purificados e sequenciados.

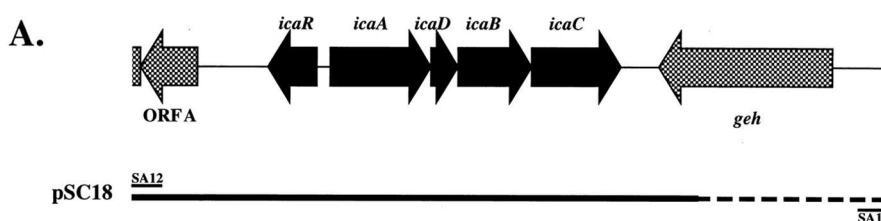
#### 4.2.5 Identificação de genes de resistência e de síntese de biofilmes em *Staphylococcus*

Para amostras identificadas como *Staphylococcus*, foi feita a investigação dos seguintes genes de resistência: *mecA* e *mecC* (resistência à meticilina/oxacilina), *blaZ* (resistência as penicilinas), *erma*, *ermB* e *ermC* (resistência cruzada aos macrolídeos, lincosamidas e estreptogramina B) e *vanA* (resistência à vancomicina). Estes genes foram rastreados por meio



da utilização de primers já descritos na literatura (tabela 6). Foi realizado também a pesquisa de genes relacionados à síntese de biofilmes em *Staphylococcus*. Todos os cinco genes individuais do locus *ica* (figura 12) foram rastreados por meio de primers específicos (tabela 7). A preparação das reações de PCR foi feita conforme já mencionado para a identificação das amostras e os programas utilizados no termociclador para amplificação dos fragmentos foi feito conforme as referências utilizadas exceto, pela modificação da temperatura de anelamento na reação do gene *blaZ* para 53 °C.

**Figura 12 – Organização genômica do operon *ica* em *S. aureus* ATCC 35556.**



Fonte: CRAMTON et al., 1999

**Tabela 6 – Sequência dos primers utilizados para rastreamento de genes de resistência e de síntese de biofilmes.**

Primers	Gene	Sequência (5' – 3')	Fragmento	Referência
<i>MRS1</i> <i>MRS2</i>	<i>mecA</i>	TAGAAATGACTGAACGTCGG TTGCGATCAATGTTACCGTAG	154 pb	Pereira et al. 2010
<i>mecC-F</i> <i>mecC-R</i>	<i>mecC</i>	GAAAAAAAGGCTTAGAACGCCTC GAAGATCTTTCCGTTTTTCAGC	138 pb	Pajić et al. 2014
<i>blaZ-1</i> <i>blaZ-2</i>	<i>blaZ</i>	ACTTCAACACCTGCTGCTTTC TGACCACTTTTATCAGCAACC	173 pb	Duran et al. 2012
<i>ermA F</i> <i>ermA R</i>	<i>ermA</i>	TATCTTATCGTTGAGAAGGGATT CTACACTTGGCTTAGGATGAAA	139 pb	Kareem et al. 2015
<i>ermB F</i> <i>ermB R</i>	<i>ermB</i>	CTATCTGATTGTTGAAGAAGGATT GTTTACTCTTGGTTTAGGATGAAA	142 pb	
<i>ermC F</i> <i>ermC R</i>	<i>ermC</i>	CTTGTTGATCACGATAATTTCC ATCTTTTAGCAAACCCGTATTC	190 pb	
<i>vanA F</i> <i>vanA R</i>	<i>vanA</i>	GGCAAGTCAGGTGAAGATG ATCAAGCGGTCAATCAGTTC	713 pb	Azimian et al. 2012
<i>icaA F</i> <i>icaA R</i>	<i>icaA</i>	ACAGTCGCTACGAAAAGAA GGAAATGCCATAATGACAAC	103 pb	Arciola et al. 2005
<i>icaB F</i> <i>icaB R</i>	<i>icaB</i>	CTGATCAAGAATTTAAATCACAAA AAAGTCCCATAAGCCTGTTT	302 pb	

**Tabela 6 – Sequência dos primers utilizados para rastreamento de genes de resistência e de síntese de biofilmes.**

(conclusão)

Primers	Gene	Sequência (5' – 3')	Fragmento	Referência
<i>icaC F</i>	<i>icaC</i>	TAAC TTTAGGCGCATATGTTTT	400 pb	Arciola et al. 2005
<i>icaC R</i>		TTCCAGTTAGGCTGGTATTG		
<i>icaD F</i>	<i>icaD</i>	ATGGTCAAGCCCAGACAGAG	198 pb	
<i>icaD R</i>		CGTGTTTTCAACATTTAATGCAA		
<i>icaR 1</i>	<i>icaR</i>	TAATCCCGAATTTTTGTGAA	469 pb	
<i>icaR 2</i>		AACGCAATAACCTTATTTTCC		

#### 4.2.6 Comparação das sequências e análises filogenéticas

As sequências obtidas foram avaliadas para verificar o grau de confiabilidade de cada um dos nucleotídeos utilizando como base valores de PHRED 30, seguido da montagem dos consensos por meio do software *Staden Package* (STADEN *et al.*, 2003). Alinhamentos locais foram realizados utilizando o programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (ALTSCHUL *et al.*, 1990) para uma identificação preliminar dos produtos sequenciados. Para o gene 16S, a identificação ao nível de espécie ocorre somente quando valor acima de 99 % de homologia entre as sequências é observado. Para a identificação ao nível de espécie por meio do gene *rpoB*, as sequências devem possuir homologia  $\geq 96\%$  (ADÉKAMBI *et al.*, 2009). Para identificação com base no gene *tuf*, os valores de homologia entre as sequências devem ser  $\geq 98\%$  (BERGERON *et al.*, 2011).

Foram realizadas comparações pareadas entre as sequências das amostras e as sequências de bactérias já identificadas e que se encontram disponíveis no GenBank. Esta análise foi realizada com o auxílio da ferramenta Species Demarcation Tool, v. 1.0 (SDT) (MUHIRE *et al.*, 2013) e estimada a percentagem de identidade das sequências de nucleotídeos entre os isolados.

As sequências nucleotídicas correspondentes ao gene *tuf* para as amostras de *Staphylococcus* foram alinhadas utilizando o algoritmo CLUSTAL W, implementado no software MEGA 6 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) (TAMURA *et al.*, 2011). Análises filogenéticas foram realizadas por meio do método de Neighbor-Joining (NJ), aplicando o modelo Kimura-2-parâmetros (K2P), utilizando o software SeaView 4 (GOUY; GUINDON; GASCUEL, 2009). A confiabilidade da árvore gerada foi obtida utilizando o teste estatístico de suporte bootstrap com valor de 1000 pseudoréplicas aleatórias. A espécie *Macrocooccus caseolyticus* foi utilizada como outgroup.

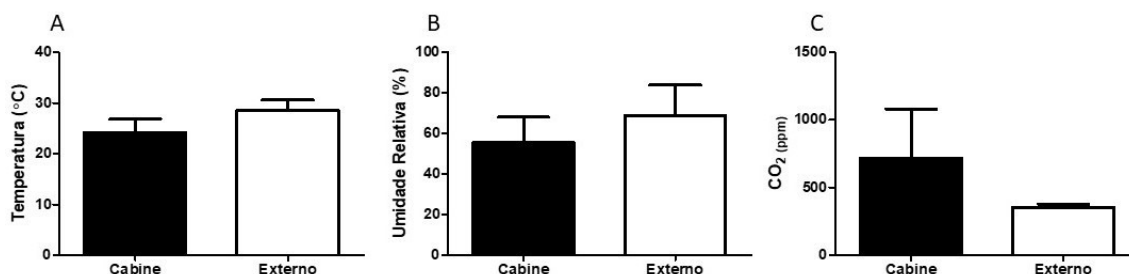
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não existe atualmente uma regulamentação internacional ou mesmo nacional acerca de padrões referenciais para qualidade do ar interior em aeronaves comerciais. Assim, todas as análises e discussões neste estudo serão feitas com base na Resolução - RE nº 09/2003 (RE nº09) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que determina padrões referenciais para QAI em ambientes artificialmente climatizados de uso público e coletivo. Durante um período de 12 meses de monitoramento, foram realizadas 164 coletas de ar em aeronaves comerciais que pousaram no Aeroporto Internacional Zumbi dos Palmares.

### 5.1 Análises da temperatura, umidade relativa, concentração de CO<sub>2</sub> e aerodispersóides

Com base no disposto na RE nº 09, foram realizadas medições da temperatura, UR, concentração de CO<sub>2</sub> e poeira total. Para cada parâmetro os valores recomendados pela legislação são: temperatura, 20 °C a 26 °C; UR, 40% - 65%; concentração de CO<sub>2</sub>, ≤ 1000ppm; concentração de poeira total, ≤ 80 µg/m<sup>3</sup>.

**Figura 13 – Valores de temperatura, umidade relativa e concentração de CO<sub>2</sub> no das coletas de ar interior climatizado nas aeronaves comerciais e do ar atmosférico.**



AUTOR, 2019

Os valores representam as médias ± desvio padrão. **A)** Temperatura do ar interior climatizado e do ar atmosférico. **B)** Umidade Relativa do ar interior climatizado e do ar atmosférico. **C)** Concentração de CO<sub>2</sub> no ar interior climatizado e ar atmosférico. Para os três parâmetros avaliados n=164 para o grupo cabine e n= 32 para o grupo externo.

A figura 13 exibe os valores médio para as análises de temperatura, UR e concentração de CO<sub>2</sub>. Para o ar climatizado no ambiente de cabine, os valores de temperatura variaram de 19,6 °C a 29,9 °C, com média de 24,2°C ± 2,7. Em relação a temperatura do ar atmosférico, os valores no geral foram maiores quando comparados aos obtidos dentro da aeronave, com variação de 21,7 °C a 32 °C e média de 28,5 °C ± 2,0. Para UR, os valores das coletas de ar interior climatizado variaram de 30,1% a 98,6% e média de 55,4% ± 12,7. No geral, os valores

de UR para o ar atmosférico foram maiores, com variação de 48% a 99,9% e média de  $68,7\% \pm 15,15$ . A concentração de CO<sub>2</sub> dentro do ambiente de cabine variou de 340 ppm a 2306 ppm e média de  $717 \text{ ppm} \pm 365,4$ , sendo geralmente encontrado valores maiores que a concentração observada no ar atmosférico cuja concentração variou de 317 ppm a 445 ppm e média  $353 \text{ ppm} \pm 25,54$ .

Em relação aos valores recomendados pela RE nº09, foi observado que 130/164 (79%) aeronaves estiveram com a temperatura dentro dos limites recomendados, enquanto para a UR, 108/164 (65,8%) aeronaves estiveram em conformidade. Em se tratando do CO<sub>2</sub>, 133/164 (81%) das aeronaves avaliadas estiveram com a concentração abaixo do estabelecido pela legislação. No que diz respeito a concentração de poeira total, todas as aeronaves analisadas não estiveram em conformidade com o valor referência de  $\leq 80 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , sendo observado principalmente elevadas concentrações de finas partículas com tamanho de  $2,5 \mu\text{m}$  (dados não mostrados).

Os valores de temperatura obtidos neste estudo se assemelham aos resultados de análises da qualidade do ar interior em ambientes de cabines realizados por Waters et al. (2002) e Pierce et al. (1999). Em análises durante o percurso de viagem, Cui et al. (2017) relataram temperatura do ar interior variando de 23 °C e 26 °C, valores semelhantes aos encontrados nesta pesquisa. Para UR, os resultados obtidos foram diferentes dos relatados por outros estudos (CUI et al., 2017; WATERS et al., 2002; PIERCE et al., 1999). Essa diferença pode ter sido em decorrência das diferentes condições de análise onde, enquanto neste estudo as aeronaves foram avaliadas em solo, outros estudos fizeram suas avaliações durante o voo. Assim, é possível que durante nossas análises, a UR do ar atmosférico, tenha influenciado positivamente nas medições de UR dentro do ambiente de cabine, explicando as diferenças nos resultados.

Temperatura e umidade relativa são dois parâmetros importantes em análises da qualidade do ar interior pois influenciam no conforto térmico dos ocupantes e podem favorecer o aumento da concentração de microrganismos (VAN LOENHOUT et al., 2016; PAKPOUR et al., 2015). Para o ar interior climatizado do ambiente de cabine, a relevância da temperatura para o crescimento de microrganismos pode ser considerada incerta, sobretudo pelo fato da alta eficiência do sistema de climatização das aeronaves que, segundo Mangili et al. (2016) é projetado para oferecer um ambiente menos contaminado possível. É provável então que este parâmetro esteja muito mais relacionado com o conforto térmico de passageiros e tripulação. Todavia, são necessários mais estudos a fim de entender melhor até que ponto este parâmetro pode influenciar na ocorrência de agravos à saúde dentro do ambiente de cabine.

Considerando a UR, valores abaixo de 40% podem estar relacionado a secagem das membranas mucosas e pele, irritação de olhos, fadiga, dores de cabeça e hemorragias nasais (SPACE et al. 2000), enquanto que valores >65% tendem a favorecer o aumento da concentração de determinados microrganismos (TANG; KUEHN; SIMCIK, 2015). Para cabine de aeronaves, Nagda (2000) tem descrito que  $UR \leq 20\%$  são frequentemente encontrados neste tipo de ambiente, com uma média de 15–19% a depender da aeronave, enquanto Hinninghofen e Enck (2006) aponta que valores referenciais de UR para este ambiente estão entre 12% e 22%. É importante, contudo, destacar que não existe um consenso ou mesmo uma referência com relação à faixa de UR que proporcione um ambiente de conforto adequado para passageiros e tripulação. Assim, ainda são muitos os incômodos relacionados à baixa UR vivenciados por passageiros e tripulação durante viagens aéreas (GRUN et al., 2012; LEE et al., 2000).

Em relação aos níveis de CO<sub>2</sub> encontrados neste estudo, concentrações  $\leq 1000$  ppm também foram relatadas por Giaconia et al. (2013) e Lindgren et al. (2000), que em suas análises em voo obtiveram 59% e 97% das aeronaves respectivamente, em acordo com os padrões aceitáveis. Todavia, sendo o ambiente de cabine um espaço fechado e com aglomeração de pessoas que estão a expelir dióxido de carbono para o ar ambiente inúmeras vezes por hora, é de se esperar que a concentração deste gás exceda o limite de 1000 ppm durante o voo. Myhrvold et al. (1996) relataram que a exposição a concentrações de CO<sub>2</sub> >1000 ppm em ambientes com ar interior climatizado pode estar relacionado a sintomas de dores de cabeça, dificuldade de concentração e tonturas. Assim, é de se esperar que, no ambiente de cabine onde geralmente as concentrações tendem a exceder 1000 ppm, passageiros e tripulação venham a padecer com alguns destes sintomas ou até mesmo outros.

Em se tratando de aeronaves comerciais, não há no Brasil ou mesmo internacionalmente uma regulamentação definindo limites para a concentração de CO<sub>2</sub>. Até o momento, somente a Administração Federal de Aviação americana (FAA em inglês) tem estabelecido como limite aceitável 5,000 ppm (FAA, 2013), um índice consideravelmente alto, possivelmente levando em conta a aglomeração de pessoas frequentemente vista nestes ambientes. Considerando este valor referencial, os resultados aqui obtidos ficaram muito abaixo até mesmo da metade (2500 ppm), uma vez que o maior valor aqui descrito foi de 2306 ppm, o que corrobora também com resultados descritos por Cao et al. (2018). Notadamente, não se sabe até que ponto este limite de 5000 ppm possa estar relacionado a uma condição onde passageiros e tripulação estejam expostos a um ar de boa qualidade. Este fato, alerta para a necessidade de mais estudos que

possam melhorar o nosso entendimento e subsidiar a elaboração de regulamentações que considerem os riscos da exposição aérea ao CO<sub>2</sub> em aviões comerciais.

Uma vez que altas concentrações de material particulado foram encontradas, especialmente aqueles com tamanho relativamente pequeno, isto nos alerta para o fato de que ao serem inaladas estas partículas podem facilmente penetrar até as regiões mais profundas do trato respiratório inferior e causarem muitos danos a saúde (KHALILI et al., 2018). Além disso, existem fortes evidências de que partículas de poeira podem constituir eficiente meio para transmissão de patógenos, sobretudo aqueles causadores de doenças respiratórias (YANG et al., 2017). Parte desta alta concentração pode ser explicada pelo fato de as coletas terem sido realizadas após o desembarque dos passageiros, o que tende a resuspender a poeira que estava sedimentada nos assentos e carpetes. Muitas análises concernentes a material particulado em aeronaves têm se detido a verificar mais os contaminantes químicos e avaliar os possíveis riscos associados (DELHAYE et al., 2017; PECK et al., 2012; YU et al., 2012).

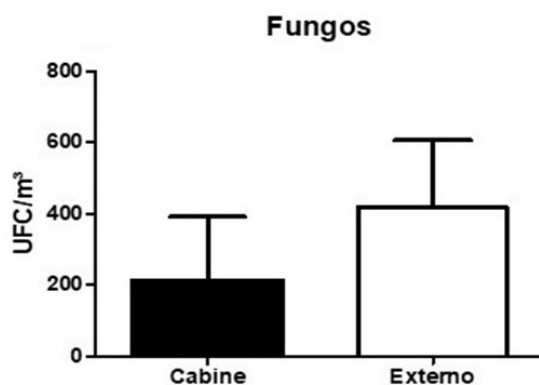
Nesta pesquisa, concentrações elevadas de partículas com tamanho suficiente para serem inaladas e prejudicar a saúde de passageiros e tripulação foram detectadas, o que foi também observado em outros ambientes com ar interior (WU; JIN; CARLSTEN, 2018; MORAWSKA et al., 2017). Ainda que não tenha sido objetivo deste estudo pesquisar especificamente o material particulado aerossolizado, é possível que a alta concentração de partículas de poeira nas cabines avaliadas também possa ter influenciado a presença e concentração de bioaerossóis (resultados mais adiante). Esse cenário destaca mais ainda a necessidade de se considerar o monitoramento destes poluentes em legislações que tratem da qualidade do ar interior em aeronaves comerciais.

Para os parâmetros e poluentes discutidos acima, sua investigação em cabines de aeronaves ainda é escassa no Brasil. Este é um estudo inicial que busca fornecer um conhecimento preliminar para uma questão até então desconhecida no âmbito nacional e que é analisado esporadicamente internacionalmente. Considerar o conforto de passageiros e tripulação do ponto de vista da QAI seria de grande relevância, tendo em vista as questões e particularidades aqui discutidas e os efeitos deles na saúde humana.

## 5.2 Análises de bioaerossóis: fungos filamentosos

Conforme orientação da RE nº09 quanto a concentração de bioaerossóis fúngicos em ambientes com ar interior climatizado, foram realizadas coletas de ar para análises da presença de fungos filamentosos em aeronaves comerciais, observando a concentração limite de 750 UFC/m<sup>3</sup>. A concentração fúngica no ambiente de cabine variou de 3 a 777 UFC/m<sup>3</sup>, com média de 214,3 UFC/m<sup>3</sup> ± 177,3 (figura 14). Em relação ao ar atmosférico, as concentrações variaram de 141 a 849 UFC/m<sup>3</sup>, com média de 416,8 UFC/m<sup>3</sup> ± 189,7 (figura 14). Assim, para quase todas as amostras coletadas a concentração esteve em conformidade com o estabelecido pela legislação. Somente para uma aeronave, a contagem da placa de coleta ultrapassou este limite, contabilizando 777 UFC/m<sup>3</sup>. Muitas placas de coleta tiveram de ser descartadas devido a presença de fungos invasores que impediram o crescimento de outros fungos de interesse, inviabilizando também a mensuração da concentração em muitas destas placas.

**Figura 14 – Concentração fúngica das coletas de ar interior climatizado nas aeronaves e do ar atmosférico.**



AUTOR, 2019.

Os valores representam as médias ± desvio padrão. Para as condições avaliadas n=98 para o grupo cabine e n=24 para o grupo externo. UFC – unidade formadora de colônia.

Diferente do nosso resultado, Nagda et al. (1989) e Wick e Irvine (1995) relataram concentração média de menos de 10 UFC/m<sup>3</sup> e 43 UFC/m<sup>3</sup> respectivamente, durante análises em voo. Contudo, semelhante aos resultados que encontramos, Dumyahn et al. (2000) relataram em voo alta concentração de fungos no ambiente de cabine, e o valor máximo por eles descrito foi de 500 UFC/m<sup>3</sup>. Uma possível explicação para nossas altas concentração fúngica, ainda que em conformidade com a RE nº09, é o fato de as coletas realizadas terem sido feitas em solo, sofrendo influência do ar atmosférico durante a abertura da porta traseira das aeronaves para o abastecimento. Isto pode ser confirmado pela observação das maiores concentrações fúngicas

em nossas análises terem sido encontradas no ar atmosférico (figura 14), confirmando o estabelecido na literatura acerca da influência do ar externo nas concentrações de fungos em ambientes com ar interior climatizado (SHAMS-GHAHFAROKHI et al., 2014). Outra hipótese seria o fato de nossas coletas terem sido realizadas exatamente após o desembarque dos passageiros, o que promoveu a ressuspensão de esporos que estavam sedimentados junto às partículas de poeira. Considerando as maiores concentrações fúngicas encontradas no ar externo, nossos resultados corroboram com os descritos por Mckernan et al. (2007a) que ao compararem as concentrações no ambiente de cabine em voo, ambientes artificialmente climatizados dentro do aeroporto e do ar externo fora do aeroporto, verificaram também altas concentrações nas coletas de ar externo.

A tabela 7 traz a identificação das espécies fúngicas que foram detectadas a partir das coletas de ar nas aeronaves. Assim como ocorre para outros ambientes com ar interior, as espécies mais predominantes neste estudo foram aquelas pertencente aos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Estes resultados corroboram com os descritos por Douglas e Robinson (2018) e Okpalanozie et al. (2018), que verificaram estes gêneros como os mais prevalentes em amostras de ar interior climatizado coletadas em ambientes de saúde e ensino respectivamente.

São escassos os estudos que procuraram identificar os espécimes fúngicos obtidos a partir de coletas de ar. Um desses poucos estudos foi realizado por Mckernan et al. (2007b), que ao avaliarem a contaminação aérea por fungos em aeronaves comerciais e algumas aéreas aeroportuárias, constataram também *Aspergillus* e *Penicillium* como os mais prevalentes. Espécies como *A. fumigatus*, *A. japonicus*, *A. ochraceus*, *A. sydowii*, *A. ustus* e *A. versicolor* foram identificadas pelos autores, e estiveram presentes em nossas amostras. Em relação a *Penicillium*, os autores não identificaram espécies, chegando apenas ao nível de gênero. Os resultados aqui descritos quanto a prevalência destes dois gêneros também está concordante com os relatados por Fu et al. (2013).

Outras espécies comumente encontradas em análises da qualidade do ar interior pertencem aos gêneros *Cladosporium*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Acremonium* e *Alternaria*, bem como a espécie *Stachybotrys chartarum* (HÄNNINEN, 2011). Destes, somente *Cladosporium* (*C. herbarum* e *C. cladosporioides*), *Fusarium*, *Acremonium* (*A. potronii*) e *Paecilomyces* (*P. variotti* e *P. lilacinus*) foram identificados no presente estudo, diferentemente do que relataram Mckernan et al. (2007b). Uma possível explicação para esta diferença deve-se ao fato de que nossas coletas foram realizadas apenas no ambiente de cabine, enquanto no estudo de Mckernan et al. (2007b) além do ambiente de cabine, áreas internas do aeroporto



também foram alvos de análise, o que aumenta a diversidade encontrada. A espécie *Tritirachium oryzae*, identificada em nosso estudo, embora não muito comum como patógeno humano, tem sido relacionada a casos de dermatite seborreica (MORAES et al., 2010) e onicomiose (VANAM et al., 2018).

Ainda conforme a tabela 7, muitas das espécies aqui descritas são potenciais patógenos humanos ou então possuem raros casos de infecções descritas. De todas as espécies, sem dúvidas o gênero *Aspergillus* é o que mais se destaca como causador de infecções e podem estar envolvidos em graves infecções respiratórias. Paulussen et al. (2017) apontam em seu estudo *A. fumigatus* como principal causador de aspergilose em humanos. Espécies de *Penicillium* também configuram importantes patógenos, com maior destaque para *Penicillium marneffei*. Embora esta espécie não tenha sido identificada, *P. citrinum* e *P. decumbens* que foram aqui relatados, têm sido associados a casos de infecções em humanos (GARG et al., 2016; ALVAREZ et al., 1990). Outros patógenos fúngicos frequentemente presentes em ambientes artificialmente climatizados e que foram identificados neste estudo são *C. cladosporioides* (MACHADO et al., 2012; KANTARCIOĞLU et al., 2002; VIEIRA et al., 2001), *P. lilacinus* (SAHA et al., 2016; PASTOR; GUARRO, 2006) e *P. variotii* (BELLANGER et al., 2017; FELDMAN et al., 2016).

A preocupação da presença de alguns dos fungos aqui relatados no ambiente de cabine das aeronaves não se deve apenas ao fato de serem patogênicos, mas de igual modo, por eles produzirem alérgenos e compostos voláteis, que são altamente prejudiciais à saúde, principalmente para indivíduos sensíveis. Vários são os relatos dos efeitos adversos decorrentes da exposição a alérgenos fúngicos e compostos orgânicos voláteis microbianos em ambientes com ar interior climatizado (VACHER et al., 2015; ŻUKIEWICZ-SOBCZAK, 2013; MCGINNIS, 2004).

Tabela 7 – Espécies de fungos encontradas no ar interior climatizado de aeronaves comerciais.

(continua)

<b>Código da amostra</b>	<b>Identificação</b>	<b>Danos à saúde humana</b>	<b>Pigmento</b>	<b>Positivo rastreamento micotoxinas</b>	<b>Alérgenos<sup>1</sup></b>	<b>COV<sup>m2</sup></b>	<b>Micotoxinas<sup>3</sup></b>
AF03	<i>Aspergillus sydowii</i>	Patogênico	Não	Sim	ND	Sim	Sim
AF02	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Patogênico	Violeta	Não	Sim	Sim	Sim
AF03	<i>Penicillium verruculosum</i>	Toxigênico	Não	Sim	Não	Não	Sim
AF04	<i>Penicillium spinulosum</i>	Toxigênico	Amarelo alaranjado	Sim	ND	Sim	Sim
AF05	<i>Aspergillus sp.</i>	Patogênico	Castanho	Não	Sim	Sim	Sim
AF06	<i>Aspergillus ustus</i>	Poucos relatos de infecção	Castanho	Sim	ND	Sim	Sim
AF07	<i>Aspergillus deflectus</i>	Poucos relatos de infecção	Castanho púrpura	Não	ND	ND	ND
AF08	<i>Aspergillus japonicus</i>	Não há relatos	Não	Não	ND	ND	Sim
AF09	<i>Aspergillus avenaceus</i>	Patogênico	Rosado	Não	ND	ND	Sim
AF10	<i>Aspergillus oryzae</i>	Patogênico	Amarelado	Não	Sim	ND	Sim
AF11	<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	Toxigênico	Amarronzado	Não	ND	Sim	Sim
AF12	<i>Aspergillus clavatus</i>	Toxigênico	Amarelo alaranjado	Não	ND	Sim	Sim
AF13	<i>Paecilomyces variotti</i>	Patogênico	Não	Não	ND	Sim	Sim
AF14	<i>Aspergillus ochraceus</i>	Poucos relatos de infecção	Castanho	Não	ND	Sim	Sim
AF15	<i>Aspergillus carneus</i>	Poucos relatos de infecção	Salmão	Não	ND	ND	Sim
AF16	<i>Cladosporium herbarum</i>	Alergênico	Amarelado	Não	Sim	Sim	Sim
AF17	<i>Acremonium potronii</i>	Patógeno oportunista	Rosado	Não	ND	ND	ND
AF18	<i>Penicillium decumbens</i>	Patogênico	Alaranjado	Não	ND	Sim	Sim
AF19	<i>Aspergillus versicolor</i>	Toxigênico	Sim*	Não	Sim	Sim	Sim
AF20	<i>Aspergillus janus</i>	Não há relatos	Não	Não	ND	ND	Sim
AF21	<i>Penicillium citrinum</i>	Patogênico	Amarelo alaranjado	Não	Sim	ND	Sim

Tabela 7 – Espécies de fungos encontradas no ar interior climatizado de aeronaves comerciais.

(conclusão)

<b>Código da amostra</b>	<b>Identificação</b>	<b>Danos à saúde humana</b>	<b>Pigmento</b>	<b>Positivo rastreamento micotoxinas</b>	<b>Alérgenos<sup>1</sup></b>	<b>COV<sup>m2</sup></b>	<b>Micotoxinas<sup>3</sup></b>
AF22	<i>Tritirachium oryzae</i>	Patogênico	Rosado	Não	ND	ND	ND
AF23	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Patogênico	Não	Não	Sim	Sim	ND
AF24	<i>Fusarium sp.</i>	Patogênico	Não	Não	Sim	Sim	Sim
AF25	<i>Penicillium oxalicum</i>	Não há relatos	Amarelo azeitona	Não	Sim	ND	Sim
AF26	<i>Curvularia clavata</i>	Patogênica	Demáceo**	Não	ND	ND	ND
AF27	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Patogênico	Não	Não	ND	ND	Sim
AF28	<i>Syncephalastrum sp.</i>	Patogênico	Não	Não	ND	ND	Sim
AF29	<i>Curvularia brachyspora</i>	Poucos relatos de infecção	Não	Não	ND	ND	ND

<sup>1</sup> Conforme informações disponíveis no WHO/IUIS Allergen Nomenclature Sub-committee.

<sup>2</sup> Conforme informações do mVOC 2.0 Database (LEMFACK et al. 2017).

<sup>3</sup> Conforme informações disponíveis na literatura.

\* A depender do meio a cor do pigmento sofre variação.

\*\* Coloração escura quando crescido em meio de cultura.

ND – Não descrito.

Em se tratando de aeronaves comerciais, somente o estudo de Fu et al. (2013) buscou investigar a presença destas substâncias e eles demonstraram a presença de alérgenos fúngicos COVMs nas amostras de ar analisadas. As espécies associadas a produção destas substâncias e identificadas por Fu et al. (2013), pertenciam aos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*.

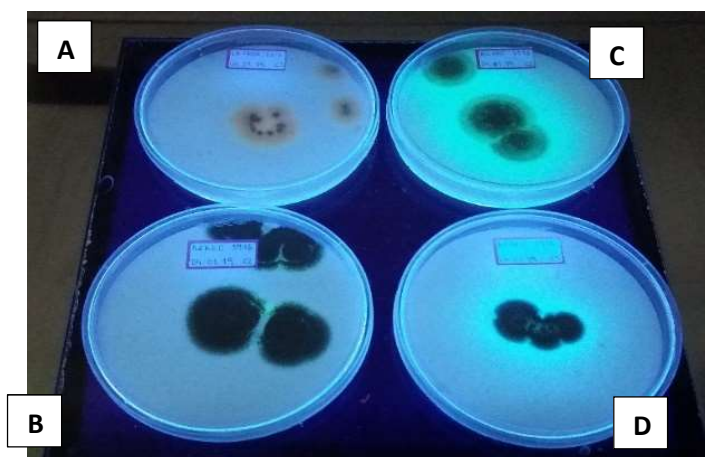
Embora neste estudo não tenhamos feito análises para verificar a presença destas substâncias, a identificação de espécies produtoras, especialmente *A. fumigatus* e *P. citrinum* para os quais muitos alérgenos e compostos orgânicos voláteis já tem sido descrito (tabela 8), alerta para a necessidade de se considerar em investigações futuras esta abordagem. Isto servirá para entendermos até que ponto passageiros e tripulação estão expostos a estes contaminantes aéreos. É importante destacar que os esporos de muitos dos fungos aqui descritos se comportam como aeroalérgenos e que para pessoas sensíveis, a sua associação a partículas de poeira pode ser o suficiente para ocasionar problemas respiratórios (ANSARI et al., 2015).

De todos os produtos fúngicos, micotoxinas são aqueles que trazem maiores riscos de exposição, sobretudo em ambientes com ar interior. Vários são os problemas associados à inalação e acúmulo destes metabólitos no organismo. Das espécies identificadas neste estudo, somente *P. verruculosum*, *P. spinulosum*, *A. sydowii* e *A. ustus* foram consideradas produtoras de micotoxinas por meio do teste rápido utilizando Ágar leite de coco (figura 15). Ainda que este não seja um teste *gold standard* para rastreamento da produção de micotoxinas, ele tem sido bastante utilizado para obtenção de um resultado preliminar com indicação de genes ativos para produção destas moléculas (JEFREMOVA et al., 2016; PEREIRA et al., 2015).

Apesar de termos identificados apenas três espécies, muitos dos fungos aqui relatados são considerados produtores de micotoxinas (tabela 7), inclusive com muitas descrições feitas em ambientes artificialmente climatizados (ALEKSIC et al., 2017; HEUTTE et al., 2017; JARVIS; MILLER, 2005). Várias espécies de *Aspergillus* são consideradas toxigênicas e principais sintetizadores de aflatoxinas, uma classe de micotoxinas altamente tóxica e que ao serem inaladas ou ingeridas podem trazer sérios problemas (HAMID et al., 2013). Barrett (2005) descreveu associação entre a exposição crônica a baixos níveis de Aflatoxinas com câncer de pulmão e verificou prejuízos à resposta imune. Em se tratando de ambientes com ar interior como cabines de aeronaves, isto é particularmente importante devido ao longo tempo de duração em algumas viagens, bem como para os tripulantes que chegam a passar mais de oito horas durante uma jornada de trabalho. Neste longo período, passageiros e tripulação podem estar expostos a quantidades suficientes para ocasionar sérios agravos à saúde.

Poucos são na literatura os estudos com pesquisa da presença fungos e seus contaminantes em ambientes de cabine de aeronaves. Este é o primeiro a ser realizado no Brasil considerando esta abordagem, e o primeiro a investigar a produção de micotoxinas. Dada a importância não apenas da presença fúngica, mas também da exposição aos seus contaminantes, mais estudos tornam-se necessários a fim de podermos compreender melhor os potenciais riscos aos quais este ambiente pode oferecer.

**Figura 15 – Rastreamento para produção de micotoxinas.**



AUTOR, 2019

Rastreamento para produção de micotoxinas com base na visualização de fluorescência. **A** – *Syncephalastrum* sp. (Negativo); **B** – *Aspergillus fumigatus* (Negativo); **C** – *Penicillium verruculosum* (Positivo); **D** – *Aspergillus sydowii* – (Positivo).

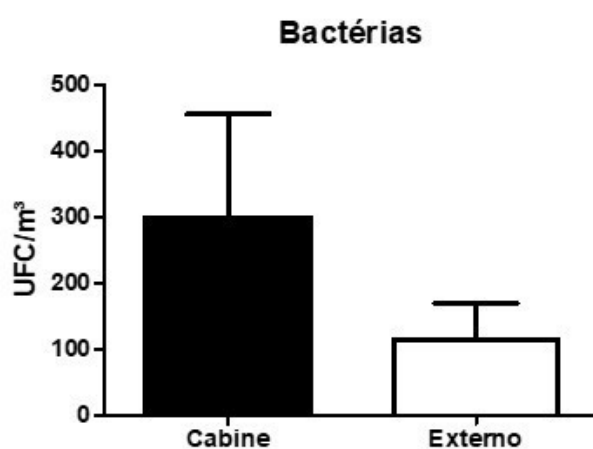
### 5.3 Análises de bioaerossóis: bactérias

A presença de bactérias aéreas no ambiente de cabine também foi alvo de investigação no presente estudo. Ao contrário de fungos, não existe na RE nº 09 uma concentração limite permitida para a presença de bactérias em ambientes com ar interior climatizado. Somente um documento publicado pela ANVISA, a Consulta Pública 109/2003 (disponível: <http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B6046-2-0%5D.PDF>), que trata especificamente de Indicadores de Qualidade do Ar Ambiental Interior em Serviços de Saúde, apresenta concentração máxima permitida de 750 UFC/m<sup>3</sup>. Assim, as discussões dos resultados desta investigação serão feitas observando este valor máximo aceitável.

As concentrações bacterianas dentro do ambiente de cabine variaram de 48 a 678 UFC/m<sup>3</sup>, com média de 299 UFC/m<sup>3</sup> ± 156,6 (figura 16). Para as coletas do ar atmosférico, as concentrações foram no geral mais baixa, com valores variando de 18 a 288 UFC/m<sup>3</sup>, e média

de  $144,4 \text{ UFC/m}^3 \pm 55,42$  (figura 16). Em todas as aeronaves avaliadas a concentração esteve abaixo do recomendado pela regulamentação utilizada como referência. Para bactérias, diferentemente dos fungos, a concentração aérea em ambientes artificialmente climatizados é muito mais influenciada pela presença e atividade humana do que por uma influência do ar atmosférico (HOSPODSKY et al., 2012), o que pode justificar os nossos resultados quando comparadas as duas as coletas na cabine e fora da aeronave.

**Figura 16 – Concentração bacteriana das coletas de ar interior climatizado nas aeronaves e do ar atmosférico.**



AUTOR, 2019.

Os valores representam as médias  $\pm$  desvio padrão. Para as condições avaliadas  $n=124$  para o grupo cabine e  $n=27$  para o grupo externo. UFC – unidade formadora de colônia.

McKernan et al. (2008) quando monitoraram a carga microbiana do ambiente de cabine em diferentes momentos de voos de curta e longa duração, verificaram concentrações bacterianas diferentes a depender do momento de coleta. Eles verificaram que durante o desembarque de passageiros a concentração média foi maior que nos outros momentos, alcançando média de  $518 \text{ UFC/m}^3$ . Assim, semelhante a McKernan et al. (2008), nossos resultados também apontaram para uma alta concentração bacteriana quando coletadas após o momento do desembarque. É possível que o movimento de passageiros e tripulação durante este procedimento tenha contribuído com a ressuspensão de bactérias sedimentada junto a partículas de poeira, concorrendo para os resultados encontrados.

Embora as coletas neste estudo não tenham sido feitas durante o percurso da viagem e possa ter sofrido influência de fatores como ar externo, os resultados de concentração aqui obtidos ficaram abaixo daqueles relatados por análises feitas em voo (OSMAN et al., 2008;

DECHOW et al., 1997). Estes autores relataram concentrações que estiveram acima de 750 UFC/m<sup>3</sup>, com valores  $\leq 1000$  e  $> 1000$  UFC/m<sup>3</sup>, respectivamente. Isso pode indicar que, durante a viagem, além da presença e movimento humano, outros fatores podem contribuir para o aumento da concentração aérea bacteriana. A manipulação de alimentos em voo e a presença de indivíduos infectados podem contribuir para a emissão de bactérias para o ar no ambiente de cabine (HWANG et al., 2013; HATAKKA, 1998). Um sistema de climatização que não tenha sido feita a manutenção adequada pode também favorecer o aumento da concentração bacteriana no ar interior climatizado (BERARDI et al., 1991). Porém, até que ponto estes ou outros fatores possam influenciar nas altas concentrações bacterianas durante o voo, precisa ser melhor investigado.

Uma considerável diversidade bacteriana foi constatada nas amostras analisadas. As tabelas 8 e 9 apresentam as espécies identificadas com base no sequenciamento de genes considerados bons marcadores para taxonomia de bactérias. Análises de comparações pareadas das sequências dos genes 16S DNAr, *rpoB* e *tuf*, obtidas a partir das amostras de ar e sequências depositadas no Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) confirmaram a identificação das espécies aqui descritas (Figuras 17, 18 e 20). Para algumas gram-negativas e especialmente para os *Staphylococcus* patogênicos a humanos, a identificação foi realizada também por meio da utilização de primers específicos que forneceram um resultado rápido e preciso. Os resultados para *Staphylococcus* serão apresentados e discutidos em um tópico separado.

Bactérias gram positivas e negativas, algumas potencialmente causadoras de infecções em humanos estiveram presentes. Alguns destes patógenos são considerados oportunistas, enquanto outros são patógenos com raros casos descritos na literatura ou emergentes. Entre as gram negativas foi encontrado *Acinetobacter baumannii* e *Serratia marcescens*, que são agentes frequentemente envolvidos em surtos de infecção hospitalar (WIELAND et al., 2018; UWINGABIYE et al., 2017; KHANNA et al., 2013) e altamente relacionadas à problemática da multirresistência bacteriana (ALMAGHRABI et al., 2018; MORADIGARAVAND et al., 2016), assim como *Pantoea dispersa*, *Escherichia vulneris*, *Moraxella osloensis*, *Pseudomonas luteola* e *Pseudomonas stutzeri*, importantes agentes causadores de bacteremia, sepsis e pneumonia (ASAI et al., 2019; HALABI et al., 2018; MARUYAMA et al., 2018; JAIN et al., 2016; BAYHAN et al., 2015). Das gram positivas identificadas, *Aerococcus viridans* e *Rhodococcus equi* aparecem como patógenos raros e emergentes, respectivamente (MOHAN et al., 2017; WEINSTOCK; BROWN, 2002), ao passo que *Kytococcus schroeteri* e

*Streptococcus salivarius* são importantes agentes na ocorrência de bacteremia e meningite, respectivamente (BAYRAKTAR et al., 2018; SRINIVASAN et al., 2012). Das coletas de ar atmosférico, estiveram presentes bactérias pertencentes aos gêneros *Staphylococcus* (ver tabela 15) e *Bacillus* (dados não mostrados) e uma amostra foi identificada como *M. osloensis*.

Muitas das bactérias patogênicas identificadas estão associadas a humanos como comensais da pele, colonizadoras do trato respiratório ou então como parte da microbiota intestinal, o que explica em grande parte sua presença no ar coletado dentro das aeronaves. Isto é importante pois, já existem várias evidências na literatura que demonstra ser o homem a principal fonte de bactérias para o ar interior climatizado (MEADOW et al., 2014; HOSPODSKY et al., 2012). Não apenas a presença humana pode para contaminação aérea, mas também as atividades e o seu comportamento dentro do ambiente de cabine podem ter relação com a aerossolização de microrganismos (PAGEL et al., 2018; MENZIES, 2005).

Outras bactérias que foram aqui identificadas, são comumente encontradas em água e estando associadas a partículas de poeira, o que pode contribuir para a sua presença nas amostras de ar coletadas. Há na literatura evidências suficientes relacionadas a aerossolização de bactérias para o ar interior a partir de fontes de águas. Descargas de banheiros, abertura de pias e chuveiros são meios pelos quais algumas bactérias podem ser emitidas para o ar interior em vários tipos de ambientes (KNOWLTON et al., 2018; BARKER; JONES, 2005), o que pode ocorrer inclusive no ambiente de cabine.

Handschuh et al. (2015) avaliaram a qualidade microbiológica da água fornecida para aeronaves comerciais e verificaram considerável contaminação bacteriana nas amostras analisadas, com presença de muitos patógenos, inclusive aqueles envolvidos em surtos de infecção hospitalar. Duas das espécies aqui relatadas *P. luteola* e *P. stutzeri*, foram também identificadas por eles, o que corrobora com a hipótese de que nas aeronaves em que foram detectadas, provavelmente elas tenham sido aerossolizadas a partir das fontes de águas dentro da aeronave. Partículas de poeira como fonte de microrganismos para o ar interior já tem sido descrito para alguns ambientes como residências (LEPPÄNEN et al., 2018) e edifícios comerciais (WEIKL et al., 2016), todavia, para o ambiente de cabine de aeronaves ainda não há estudos publicados.

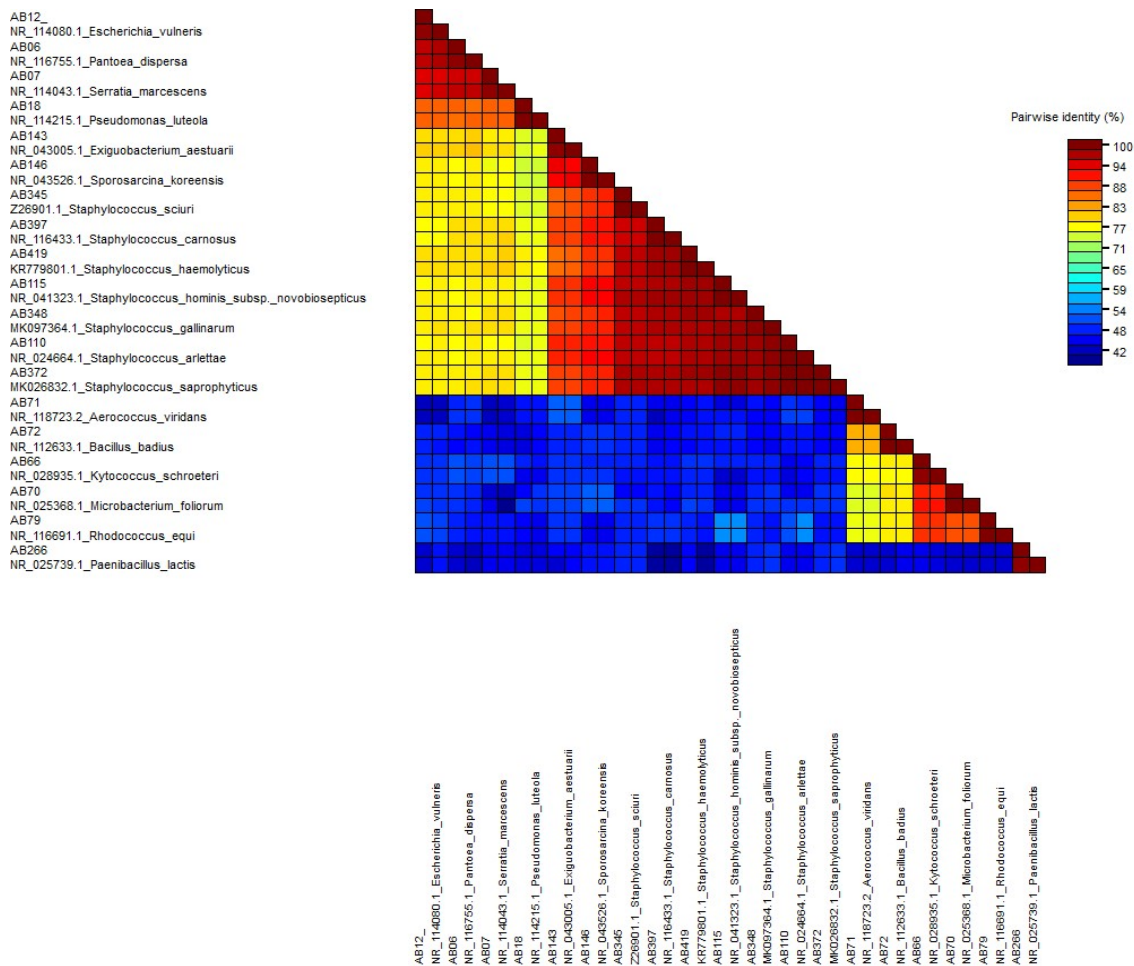


**Tabela 8 – Espécies bacterianas identificadas pelo sequenciamento parcial dos genes 16S rDNA, *rpoB*, *tuf* e utilização de primers espécie-específicos.**

<b>Código das amostras</b>	<b>Identificação molecular</b>	<b>Gene</b>	<b>Identidade (%)</b>	<b>Referência (GenBank)</b>
AB06	<i>Pantoea dispersa</i>	16S rDNA	99	NR_116755
AB07	<i>Serratia marcescens</i>	16S rDNA	99	NR_114043
AB12	<i>Escherichia vulneris</i>	16S rDNA	100	NR_114080
AB18	<i>Pseudomonas luteola</i>	16S rDNA	99	NR_114215
AB66	<i>Kytococcus schroeteri</i>	16S rDNA	99	NR_028935
AB70	<i>Microbacterium foliorum</i>	16S rDNA	99	NR_025368
AB71	<i>Aerococcus viridans</i>	16S rDNA	99	NR_118723
AB72	<i>Bacillus badius</i>	16S rDNA	99	NR_112633
AB79	<i>Rhodococcus equi</i>	16S rDNA	100	NR_116691
AB110	<i>Staphylococcus arlettae</i>	16S rDNA	100	MK095131
AB115	<i>Staphylococcus hominis subsp. novobiosepticus</i>	16S rDNA	99	NR_041323
AB143	<i>Exiguobacterium aestuarii</i>	16S rDNA	99	NR_043005
AB146	<i>Sporosarcina koreensis</i>	16S rDNA	100	NR_043526
AB266	<i>Paenibacillus lactis</i>	16S rDNA	99	KX453954
AB345	<i>Staphylococcus sciuri</i>	16S rDNA	100	Z26901
AB348	<i>Staphylococcus gallinarum</i>	16S rDNA	100	MK097364
AB372	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	16S rDNA	100	MK026832
AB397	<i>Staphylococcus carnosus</i>	16S rDNA	100	Z26891
AB419	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	16S rDNA	100	KR779801
AB213	<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>rpoB</i>	98	CP026420
AB151	<i>Moraxella osloensis</i>	<i>rpoB</i>	96	CP024443
AB210	<i>Pantoea septica</i>	<i>rpoB</i>	97	MH015174
AB153	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	<i>rpoB</i>	99	CP002622
AB182	<i>Bacillus safensis</i>	<i>tuf</i>	99	CP010405
AB188	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>tuf</i>	100	CP032310
AB243	<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>tuf</i>	99	CP015283
AB284	<i>Bacillus subtilis subsp. subtilis</i>	<i>tuf</i>	99	CP032872
AB22	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Primer espécie-específico		

Muitos dos trabalhos que buscaram verificar a diversidade bacteriana aérea no ambiente de cabine relataram que grande parte delas não eram patogênicas (DUCHOW et al., 1997). La Duc et al. (2007), todavia, relataram a presença de patógenos humanos oportunistas como *Acinetobacter calcoaceticus*, *Stenotrophomonas maltophilia* e *Neisseria meningitidis*, agentes causadores de septicemia e meningite. Osman et al. (2008) descreveram uma grande diversidade bacteriana, com alguns gêneros importantes como *Acinetobacter* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptococcus* spp. e as espécies *Pantoea agglomerans* e *A. viridans*.

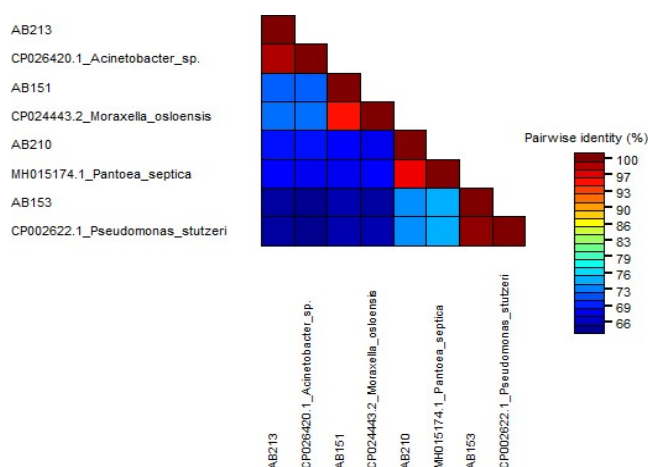
**Figura 17 – Matriz bidimensional representando o percentual de identidade de comparações pareadas com base em sequências parciais do gene 16S DNAr de bactérias obtidas neste estudo e outras sequências disponíveis obtidas no GenBank.**



AUTOR, 2019.

Matriz bidimensional com resultados do pareamento de sequências obtidas neste estudo e sequências retiradas do GenBank. As sequências são pareadas entre si para confirmação do percentual de homologia. Quanto mais escura for a cor, maior o percentual de identidade, com o tom mais escuro representando percentual de 100% de identidade.

**Figura 18 – Matriz bidimensional representando o percentual de identidade de comparações pareadas com base em seqüências parciais do gene *rpoB* de bactérias obtidas neste estudo e outras seqüências disponíveis obtidas no GenBank.**



AUTOR, 2019.

Matriz bidimensional com resultados do pareamento de seqüências obtidas neste estudo e seqüências retiradas do GenBank. As seqüências são pareadas entre si para confirmação do percentual de homologia. Quanto mais escura for a cor, maior o percentual de identidade, com o tom mais escuro respresentando percentual de 100% de identidade.

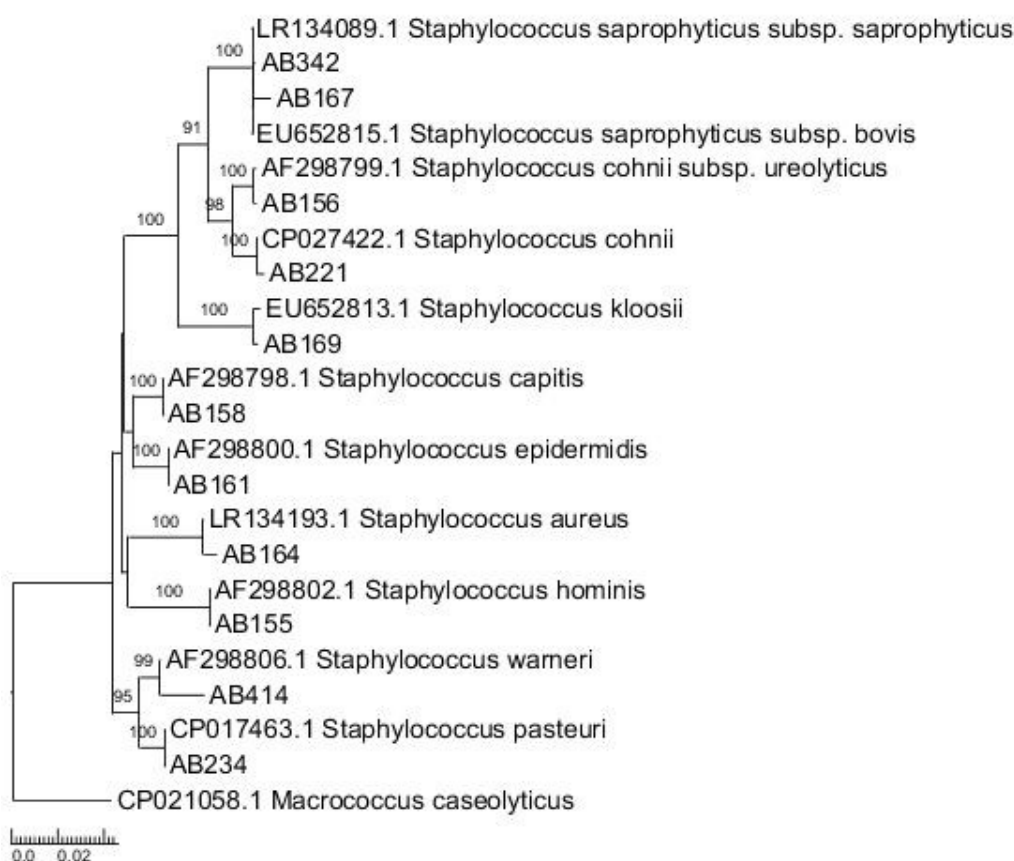
Em um estudo recente feito por Weiss et al. (2019) utilizando abordagem metagenômica para investigar a microbiota bacteriana no ar e em superfícies de aeronaves comerciais, os autores demonstraram a presença de importantes taxas bacterianos como *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Corynebacteriaceae* e *Burkholderiaceae* como os mais prevalentes em ambas as amostras. Estas famílias possuem importantes agentes infecciosos, especialmente *Enterobacteriaceae*, conhecida por conter grande parte das espécies patogênicas a humanos (BAYLIS et al., 2011).

#### 5.4 Análises de bioaerossóis: diversidade de *Staphylococcus*

Dada a relevância clínica do gênero *Staphylococcus*, especialmente *S. aureus* e alguns membros SCoN, foi feita uma análise específica da diversidade destas espécies. Do total de 390 amostras analisadas, 187 (47,9%) foram positivas para o gênero *Staphylococcus*. A identificação das espécies foi feita por meio do sequenciamento parcial dos genes 16S rDNA (tabela 8) e *tuf*, assim como pela utilização de primers específicos descritos na literatura. Análises filogenéticas (figura 19) e comparações pareadas (figura 20) das seqüências parciais

do gene *tuf* confirmaram a identificação das espécies. Para algumas amostras as sequências não tiveram qualidade o suficiente para permitir uma identificação específica, ao que foram descritas ao nível de gênero. Ao todo, foi verificada uma considerável diversidade bacteriana, com 14 espécies presentes (genes 16S e *tuf*), sendo possível também identificar três subespécies. A espécie mais prevalente foi *S. epidermidis* seguida por *S. hominis* e *S. aureus*, enquanto as outras espécies apresentaram frequência abaixo de 10% (figura 21).

**Figura 19 –** Árvore filogenética *Neighbor joining* gerada pelo software SeaView 4, construída com base no alinhamento múltiplo de sequências parciais do gene *tuf* de *Staphylococcus*. O modelo de substituição de nucleotídeos utilizado foi Kimura-2-parâmetros (K2P). Os números nos nós indicam valores de bootstrap em porcentagem (1000 bootstraps). *Macrococcus caseolyticus* foi utilizado como outgroup.



AUTOR, 2019.

Árvore filogenética com base nas sequências de *Staphylococcus* obtidas das coletas em aeronaves e sequências retiradas do GenBank. A barra da escala indica número de nucleotídeos modificados por sítio, 0,02 nucleotídeos. **AB** – Airborne Bacteria: código das amostras obtidas de coletas de ar interior climatizados neste estudo.

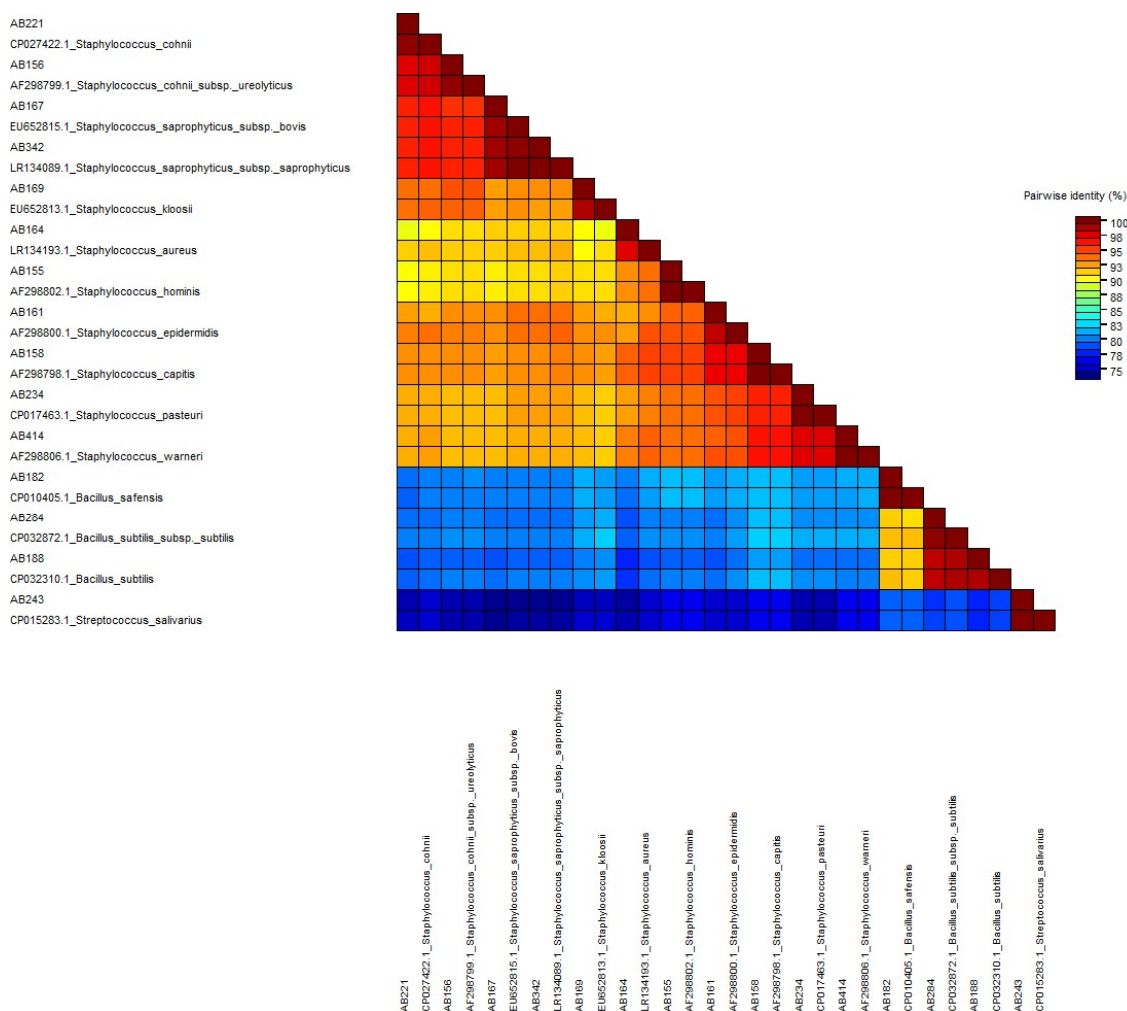
Muitas das espécies descritas neste estudo (figura 19) já têm sido frequentemente encontradas em ambientes artificialmente climatizados. Rendon et al. (2017) relataram a

presença de *S. aureus* no ar interior de ambientes ocupacionais nas Filipinas, enquanto que *S. haemolyticus*, *S. cohnii*, *S. saprophyticus*, *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. arlettae*, *S. warneri* foram descritos no ar de ambientes como hospital, estação de metrô, residências e edifícios comerciais (ASIF et al., 2018; HWANG et al., 2016; MIRHOSEINI et al., 2016b). Para outras espécies como *S. capitis*, *S. pasteurii*, *S. kloosii*, *S. carnosus*, *S. gallinarum* e *S. sciuri* a presença como contaminante do ar interior climatizado já foi feita na literatura, contudo, é possível que estas bactérias não sejam comumente encontradas neste tipo de amostra (MADSEN et al., 2018; LENART-BORÓN et al., 2017; FANG et al., 2014).

Considerando a elevada ocupação vista nas aeronaves avaliadas, a grande diversidade de espécies pode ser explicada pelo fato de que muitas destas bactérias podem ser encontradas colonizando vários sítios do corpo humano. Por exemplo, *S. aureus* tem sido encontrado em narinas, garganta e pele (SOLLID, et al., 2014; OTTO, 2010), enquanto SCoN foram encontrados em narinas, pele e cavidade oral (WOS-OXLEY et al., 2010). Outro ponto a ser levado em consideração é a grande versatilidade de muitas espécies deste gênero, o que permite que sobrevivam em condições ambientais altamente diversas, sendo encontradas em superfícies e aderidas a partículas de poeira (LUDWIG et al., 2017; DIETZE et al., 2001). Assim, estando associados a partículas de poeira, podem facilmente serem aerossolizadas para o ar dentro da cabine.

Poucas são os *Staphylococcus* descritos nos estudos envolvendo a contaminação microbiológica por bactérias no ar e em superfícies de aeronaves comerciais. Dos trabalhos publicados, Duchow et al. (1997) identificaram *S. aureus* e *S. epidermidis*, enquanto Osman et al. (2008) verificaram *S. capitis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. pasteurii*, *S. cohnii* e *S. saprophyticus*. Todas estas espécies foram provenientes de coletas de ar durante o voo. McManus e Kelley (2005) e Zhao et al. (2013) relataram *S. epidermidis*, *S. hominis* e *S. aureus* contaminando superfícies dentro das aeronaves. Das espécies até então relatadas, todas foram encontradas também em nossas análises (figura 20). Até a realização desta pesquisa, este é o primeiro relato de *S. warneri*, *S. kloosii*, *S. carnosus*, *S. sciuri*, *S. arlettae* e *S. gallinarum* contaminando o ar interior climatizado em aeronaves comerciais.

**Figura 20 – Matriz bidimensional representando o percentual de identidade de comparações pareadas com base em seqüências parciais do gene *tuf* de bactérias obtidas neste estudo e outras seqüências disponíveis obtidas no GenBank.**



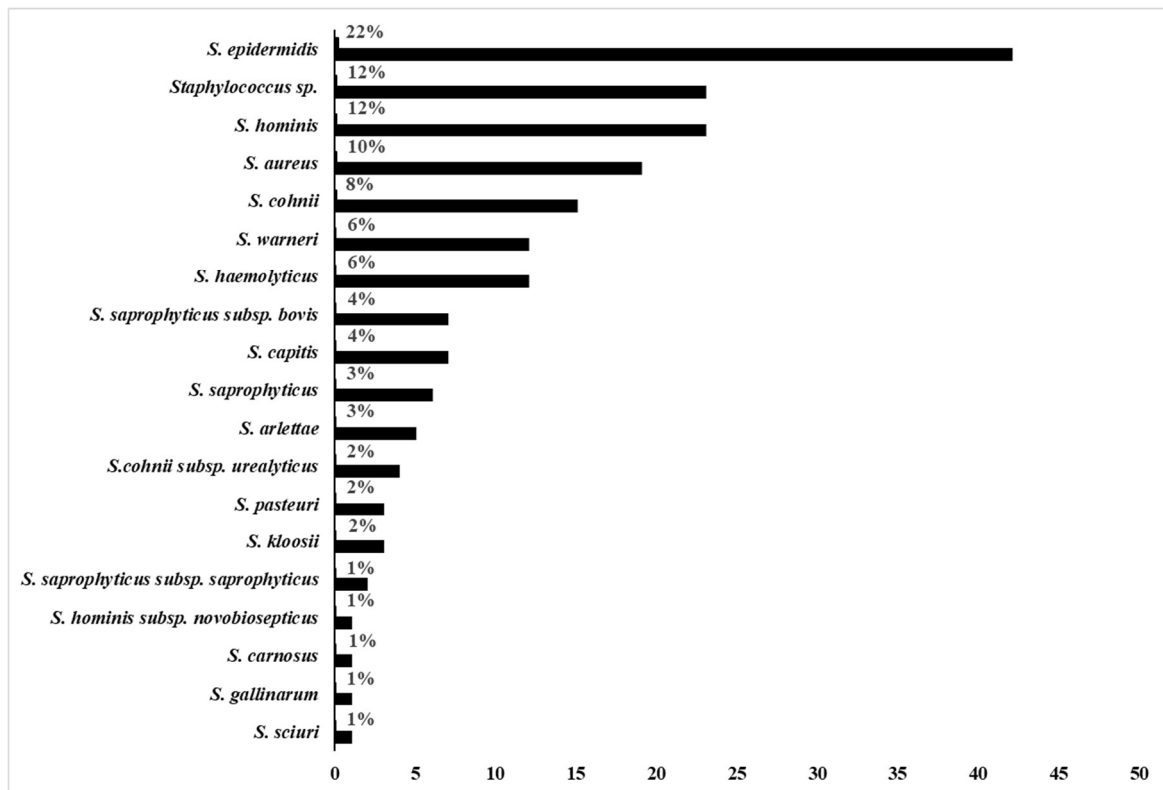
AUTOR, 2019.

Matriz bidimensional com resultados do pareamento de seqüências obtidas neste estudo e seqüências retiradas do GenBank. As seqüências são pareadas entre si para confirmação do percentual de homologia. Quanto mais escura for a cor, maior o percentual de identidade, com o tom mais escuro representando percentual de 100% de identidade.

Dos *Staphylococcus* identificados nesta análise, quase todas as espécies possuem relatos de infecções em humanos, atuando geralmente como patógenos oportunistas ou emergentes, exceto *S. carnosus* e *S. arlettae* para o qual até o momento não tem sido verificado a ocorrência de infecção. Sem dúvida *S. aureus* é a principal espécie do gênero, sendo frequentemente relatado como agente etiológico de um amplo espectro de infecções, incluindo casos de meningite (TURNER et al., 2019; KIM et al., 2014; AGUILAR et al., 2010). Recentemente, muitas espécies do grupo coagulase negativo tem se destacado também como importantes

patógenos humanos. Dos SCoN aqui descritos, *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. haemolyticus* e *S. capitis* são as espécies mais relacionadas a infecções de corrente sanguínea, endocardite e infecções em neonatos (BECKER et al., 2014).

**Figura 21 – Prevalência de *Staphylococcus* em amostras de ar de aeronaves comerciais.**



AUTOR, 2019.

Outro importante patógeno humano deste grupo é *S. sciuri* que tem sido relacionado a endocardite, peritonite, choque séptico, infecções do trato urinário e infecção de ferida (COIMBRA et al., 2011). *S. saprophyticus*, *S. cohnii* e *S. kloosii* têm sido associados a infecções do trato urinário e sepse (HUR et al., 2016; PEER et al., 2011), já *S. warneri*, *S. pasteurii* e *S. gallinarum* tem sido relacionados a casos de meningite e bacteremia (INCANI et al., 2010; SAVINI et al., 2009; YU et al., 2008). Essa diversidade de microrganismos patogênicos aerossolizados nos alerta acerca do risco silencioso e real que ocorre dentro do ambiente de cabine onde indivíduos expostos podem ser acometidos pelos mais variados tipos de infecções.

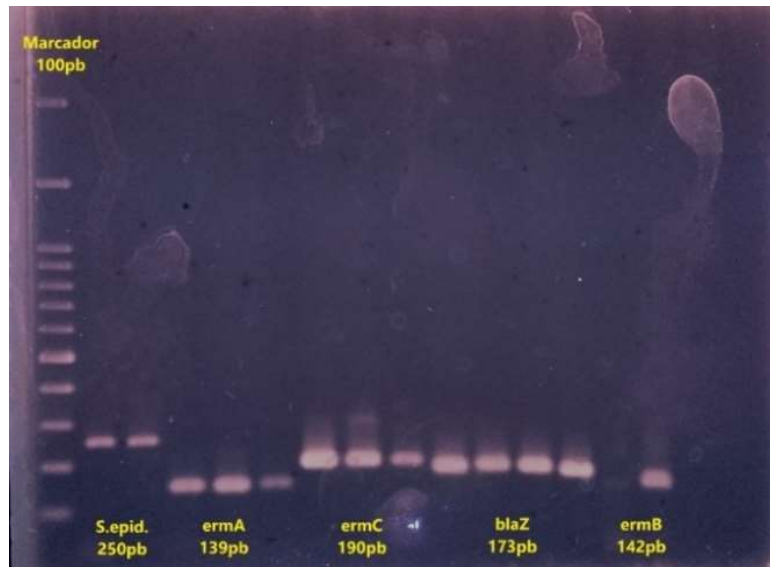
#### 5.4.1 Detecção de genes de resistência em *Staphylococcus*

A importância deste gênero bacteriano não se restringe apenas ao seu envolvimento em graves infecções, mas também se deve à sua capacidade de resistência a antibióticos. Genes de resistência à meticilina/oxacilina (*mecA* e *mecC*), vancomicina (*vanA*), penicilinas (*blaZ*) e resistência cruzada aos macrolídeos, lincosamidas e estreptogramina B (*ermA*, *ermB* e *ermC*) foram rastreados. Do total de isolados identificados, 142 (75,9%) foram positivos nas reações de PCR para o carreamento de genes de resistência (figuras 22 e 23). Alguns isolados carregavam mais de um dos genes detectados, enquanto outros apresentaram genes isolados (tabela 9). De todos aqueles que foram encontrados, o gene *blaZ* foi o mais frequente entre os isolados, seguido pelos genes *ermC*, *ermA* e *mecA* (figura 24). O gene *ermB* foi o menos frequente entre as amostras (figura 24). As espécies em que o gene *mecA* foi detectado foram *S. aureus*, *S. warneri*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. pasteurii* e *S. sciuri*. A tabela 9 apresenta todos os isolados e os respectivos genes que foram encontrados.

Em nossos resultados, somente *mecC* e *vanA* não foram detectados. A ausência do gene *mecC* já era esperada, sobretudo pelo fato da sua descoberta recente e os poucos relatos disponíveis na literatura em relação a sua presença (KERSCHNER et al., 2015; ARIZAMIGUEL et al., 2014). Até o presente momento, não há descrição de *mecC* no Brasil. Para o gene *vanA*, ainda que no Brasil alguns trabalhos já tenham relatado sua ocorrência (BREVES et al., 2015), este evento parece ser algo incomum. Das espécies identificadas, somente *S. gallinarum* e *S. carnosus* não apresentaram a presença de qualquer um dos genes aqui rastreados. Esta não detecção pode ser explicada pelo fato de apenas um isolado ter sido obtido para cada espécie, o que diminui e muito as chances de detecção, haja visto que nestas bactérias alguns dos genes aqui pesquisados já foram verificados (WANG et al., 2018; BOAMAH et al., 2017).



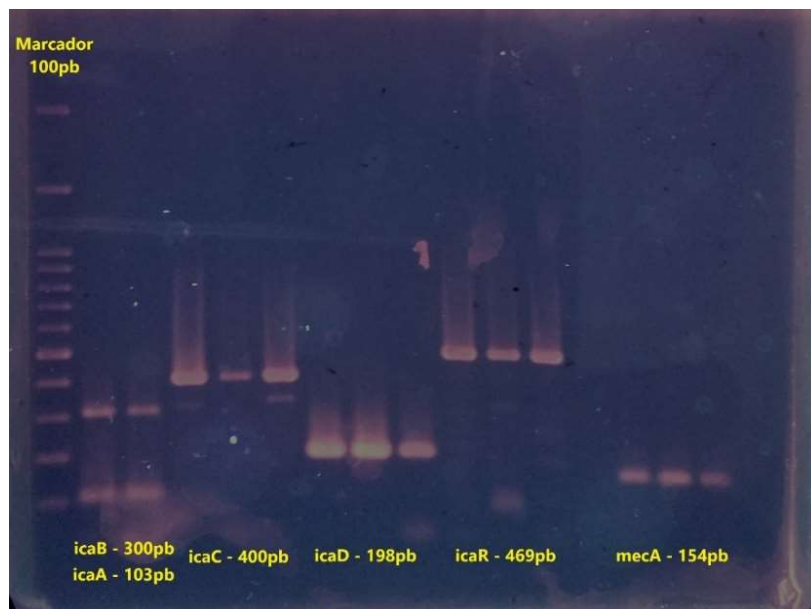
**Figura 22 – Gel de eletroforese visando identificação específica e detecção de genes de resistência em *Staphylococcus*.**



AUTOR, 2019.

Produtos de PCR das reações para identificação específica e rastreamento de genes de resistência a antibióticos. Poços 2 e 3: Identificação específica de *S. epidermidis*; Poços 4-6: gene *ermA*; Poços 7-9: gene *ermC*; Poços 10-13: gene *blaZ*. Poços 14 e 15: gene *ermB*.

**Figura 23 – Gel de eletroforese da detecção do gene *mecA* e genes para formação de biofilmes em *Staphylococcus*.**



AUTOR, 2019.

Produto de PCR para reações de detecção do gene *mecA* e de síntese de biofilmes. Poços 2-12 - Síntese de biofilmes: *icaA*, *icaB*, *icaC*, *icaD* e *icaR*. Poços 14-16: Gene *mecA* - resistência à meticilina.

**Tabela 9 – Detecção de genes de resistência e genes para síntese de biofilmes entres as espécies identificadas.**

(continua)

<b>Código da amostra</b>	<b>Espécie</b>	<b>Gene de resistência</b>	<b>Gene ica síntese de biofilmes</b>
AB03	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ</i>	
AB04	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ</i>	
AB10	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ</i>	
AB11	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ</i>	
AB13	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ, ermC</i>	<i>icaD, icaR</i>
AB15	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ, ermC</i>	<i>icaD, icaR</i>
AB16	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ, ermC,</i>	<i>icaD, icaR</i>
AB31	<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>blaZ</i>	
AB32	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>blaZ, icaC,</i>	<i>icaD, icaR</i>
AB34	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaA, icaB, icaC, icaD, icaR</i>
AB36	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>mecA, blaZ, ermC</i>	<i>icaA, icaD, icaR</i>
AB41	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>mecA, blaZ, ermC</i>	<i>icaB, icaD, icaR</i>
AB44	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ, ermA</i>	<i>icaA, icaB, icaC, icaD, icaR</i>
AB54	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ,</i>	<i>icaA, icaB, icaC, icaD, icaR</i>
AB57	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>mecA, blaZ</i>	<i>icaR</i>
AB58	<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>mecA</i>	
AB59	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaR</i>
AB80	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>mecA, blaZ</i>	<i>icaD</i>
AB82	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>blaZ,</i>	<i>icaC, icaD</i>
AB83	<i>Staphylococcus cohnii subsp. urealyticus</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaD</i>
AB96*	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaD, icaR</i>
AB110	<i>Staphylococcus arlettae</i>	<i>blaZ, ermB,</i>	<i>icaB, icaR</i>
AB115	<i>Staphylococcus hominis subsp. novobiosepticus</i>	<i>blaZ, ermC</i>	<i>icaD, icaR</i>
AB116	<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>blaZ, ermA</i>	<i>icaA</i>
AB117	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ, icaR</i>	
AB123	<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>blaZ,</i>	
AB124	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>blaZ,</i>	
AB126	<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>blaZ, ermA</i>	
AB129	<i>Staphylococcus saprophyticus subsp. bovis</i>	<i>ermB</i>	
AB137	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaD</i>
AB138	<i>Staphylococcus cohnii subsp. urealyticus</i>	<i>icaA</i>	
AB139	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ, ermA</i>	<i>icaA, icaB, icaC, icaD, icaR</i>
AB148	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>mecA</i>	
AB149	<i>Staphylococcus saprophyticus subsp. bovis</i>	<i>blaZ, ermB,</i>	<i>icaD, icaR</i>
AB155	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaR</i>
AB156	<i>Staphylococcus cohnii subsp. ureolyticus</i>	<i>blaZ</i>	
AB158	<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaA, icaR</i>
AB160	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>blaZ, ermC</i>	
AB161	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ, ermA, ermC</i>	
AB163	<i>Staphylococcus cohnii subsp. urealyticus</i>	<i>blaZ, ermA, ermC</i>	
AB164	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>blaZ, ermA</i>	<i>icaD</i>
AB165	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>mecA, blaZ, ermA</i>	<i>icaD, icaR</i>
AB167	<i>Staphylococcus saprophyticus subsp. bovis</i>	<i>blaZ, ermC</i>	<i>icaR</i>

**Tabela 9 – Detecção de genes de resistência e genes para síntese de biofilmes entres as espécies identificadas.**

Código da amostra	Espécie	Gene de resistência	(continuação)
			Gene <i>ica</i> síntese de biofilmes
AB168*	<i>Staphylococcus capitis</i>		<i>icaA</i>
AB169	<i>Staphylococcus kloosii</i>	<i>blaZ, ermA</i>	
AB170	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>mecA, blaZ, ermA</i>	<i>icaC, icaR</i>
AB171	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>blaZ, ermA, ermC</i>	<i>icaD, icaR</i>
AB172	<i>Staphylococcus saprophyticus subsp. bovis</i>	<i>ermA</i>	<i>icaR</i>
AB173	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	<i>mecA, blaZ</i>	
AB176	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaR</i>
AB177	<i>Staphylococcus kloosii</i>	<i>blaZ</i>	
AB181	<i>Staphylococcus saprophyticus subsp. bovis</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaR</i>
AB220	<i>Staphylococcus kloosii</i>	<i>blaZ, ermC</i>	
AB221	<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>blaZ, ermC</i>	
AB222	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>blaZ, ermC</i>	
AB223	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>mecA, blaZ, ermC</i>	
AB225	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>ermA, blaZ</i>	
AB226	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ, ermC</i>	
AB227	<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>blaZ</i>	
AB229	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ, ermC</i>	
AB230	<i>Staphylococcus saprophyticus subsp. bovis</i>	<i>blaZ, ermC</i>	
AB231	<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>ermA, blaZ</i>	
AB232	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ</i>	
AB233	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ</i>	
AB234	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	<i>blaZ</i>	
AB236	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>ermA, blaZ</i>	
AB239	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>ermA, blaZ</i>	
AB250	<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>blaZ</i>	
AB300	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaA, icaR</i>
AB301	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ, ermC</i>	<i>icaA, icaB, icaD, icaR</i>
AB302	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>blaZ</i>	
AB303	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>blaZ,</i>	<i>icaA, icaR</i>
AB304	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ,</i>	
AB305	<i>Staphylococcus epidermidis</i>		<i>icaA, icaB, icaD, icaR</i>
AB306	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>ermC</i>	
AB307	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaA, icaD, icaR</i>
AB308	<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>ermC</i>	<i>icaR</i>
AB310	<i>Staphylococcus sp.</i>		<i>icaA</i>
AB311	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>ermC</i>	<i>icaR</i>
AB312	<i>Staphylococcus sp.</i>		<i>icaA, icaR</i>
AB313	<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>ermC</i>	<i>icaR</i>
AB315*	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaR</i>
AB316*	<i>Staphylococcus sp.</i>		<i>icaA, icaR</i>
AB317*	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>		<i>icaA</i>
AB318*	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaB, icaR</i>
AB319*	<i>Staphylococcus arlettae</i>		<i>icaA, icaR</i>
AB320*	<i>Staphylococcus sp.</i>		<i>icaB</i>
AB321	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ, ermC,</i>	<i>icaA, icaC, icaD, icaR</i>

**Tabela 9 – Detecção de genes de resistência e genes para síntese de biofilmes entres as espécies identificadas.**

(continuação)			
<b>Código da amostra</b>	<b>Espécie</b>	<b>Gene de resistência</b>	<b>Gene <i>ica</i> síntese de biofilmes</b>
AB322	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaA, icaB, icaC, icaD, icaR</i>
AB325	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ,</i>	<i>icaA</i>
AB328	<i>Staphylococcus capitis</i>		<i>icaA, icaR</i>
AB329	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>blaZ</i>	
AB330*	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>mecA, blaZ</i>	
AB332	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaA, icaB, icaC, icaD, icaR</i>
AB333	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>ermC</i>	
AB334	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>ermC</i>	
AB335	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>		<i>icaR</i>
AB336	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaB</i>
AB338	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>ermA, ermB</i>	
AB341*	<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaR</i>
AB342	<i>Staphylococcus saprophyticus subsp. saprophyticus</i>	<i>blaZ</i>	
AB343	<i>Staphylococcus saprophyticus subsp. saprophyticus</i>	<i>blaZ</i>	
AB345	<i>Staphylococcus sciuri</i>	<i>mecA, blaZ, ermC</i>	<i>icaD</i>
AB346	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>mecA, ermA</i>	
AB349	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>mecA</i>	<i>icaA, icaB, icaC, icaD, icaR</i>
AB350	<i>Staphylococcus epidermidis</i>		<i>icaA, icaB, icaC, icaD, icaR</i>
AB351	<i>Staphylococcus epidermidis</i>		<i>icaA, icaB, icaC, icaD, icaR</i>
AB352	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>blaZ</i>	
AB355	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ, ermA</i>	<i>icaD</i>
AB357	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>blaZ</i>	
AB359	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>mecA</i>	<i>icaA, icaB, icaC, icaD, icaR</i>
AB360	<i>Staphylococcus epidermidis</i>		<i>icaA, icaB, icaC, icaD, icaR</i>
AB362	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>mecA</i>	
AB363	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaA, icaB</i>
AB365	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>blaZ</i>	
AB366	<i>Staphylococcus hominis</i>		<i>icaA</i>
AB367*	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaA</i>
AB368	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>mecA, blaZ</i>	
AB369	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ</i>	
AB370	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>mecA, blaZ</i>	
AB371	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaA, icaB, icaR</i>
AB373	<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>blaZ, ermC</i>	
AB374	<i>Staphylococcus arlettae</i>	<i>ermC</i>	
AB375	<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>blaZ, ermA, ermC</i>	
AB376	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>ermA, ermC</i>	
AB377*	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>ermC</i>	
AB378*	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>blaZ</i>	
AB379*	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>blaZ</i>	
AB380	<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>ermB</i>	
AB382	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>blaZ, ermC</i>	
AB383	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>blaZ, ermC</i>	
AB385	<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>blaZ, ermC</i>	
AB386	<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>blaZ, ermB, ermC</i>	
AB387	<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>blaZ, ermB, ermC</i>	
AB388	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>mecA, ermC</i>	
AB391	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>mecA, blaZ</i>	

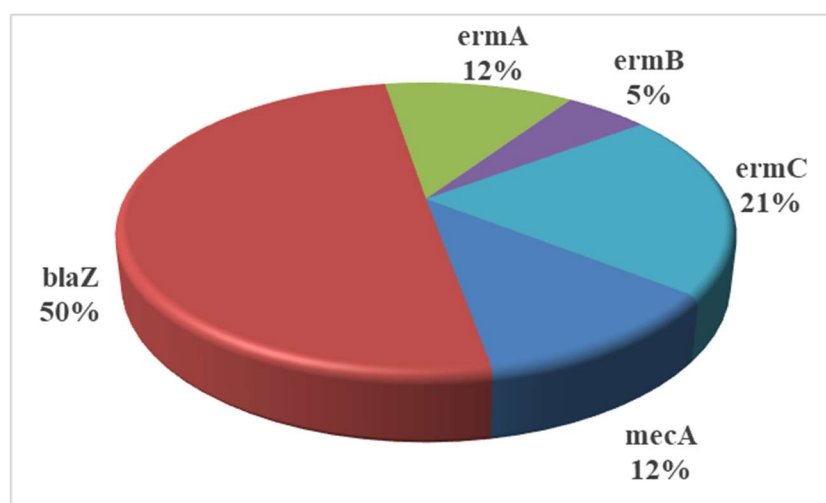
**Tabela 9 – Detecção de genes de resistência e genes para síntese de biofilmes entres as espécies identificadas.**

Código da amostra	Espécie	Gene de resistência	(conclusão)
			Gene <i>ica</i> síntese de biofilmes
AB392	<i>Staphylococcus</i> sp.	<i>mecA, blaZ, ermA</i>	
AB393	<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>mecA, blaZ, ermA</i>	
AB394	<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>blaZ, ermA</i>	
AB395	<i>Staphylococcus</i> sp.	<i>mecA</i>	
AB396*	<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>ermC</i>	
AB398*	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaR</i>
AB399*	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>blaZ, ermA</i>	<i>icaD, icaR</i>
AB400*	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>blaZ, ermB</i>	<i>icaD, icaR</i>
AB401	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>blaZ, ermB, ermC</i>	<i>icaD, icaR</i>
AB402	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>mecA, blaZ</i>	<i>icaR</i>
AB403	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaR</i>
AB404*	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>blaZ, ermC,</i>	<i>icaD, icaR</i>
AB405	<i>Staphylococcus</i> sp.	<i>blaZ, ermC</i>	<i>icaA</i>
AB406*	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>blaZ, icaR</i>	
AB407*	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>blaZ, ermB</i>	<i>icaD, icaR</i>
AB408	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>blaZ, ermB</i>	<i>icaD, icaR</i>
AB409	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>blaZ</i>	<i>icaD, icaR</i>
AB410	<i>Staphylococcus arlettae</i>	<i>blaZ</i>	
AB413	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>blaZ</i>	
AB414	<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>blaZ</i>	
AB417	<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>blaZ, ermC</i>	<i>icaA, icaR</i>
AB418	<i>Staphylococcus capitis</i>		<i>icaA, icaR</i>

AB -Airborne bacteria

\* Amostras proveniente de coletas de ar atmosférico, conforme recomendação da RE 09/2003 ANVISA.

**Figura 24 – Detecção individual dos genes de resistência a antibióticos em *Staphylococcus*.**



AUTOR, 2019.

Frequência individual dos genes de resistência detectados. *blaZ* – Gene de resistência a Penicilina; *ermA*, *ermB* e *ermC* – Genes de resistência cruzada aos Macrolídeos, Lincosamidas e Estreptogramina B; *mecA* - resistência à meticilina/oxacilina.

Em nossos resultados, metade dos isolados foram positivos para detecção do gene *blaZ*, que confere resistência a penicilina (figura 24). Em infecções por *Staphylococcus* suscetível à meticilina/oxacilina, o uso da penicilina é o recomendado, sobretudo pelas vantagens em relação a outras drogas de escolha como Glicopeptídeos e outros  $\beta$ -lactâmicos (CRANE et al., 2014). Por ser um antibiótico de espectro restrito, ela diminui a pressão de seleção para o desenvolvimento de isolados produtores de  $\beta$ -lactâmases, o que implica em maior sucesso no tratamento (CHABOT et al., 2015). Embora a utilização deste antibiótico seja recomendada, acredita-se que cerca de 90% dos isolados humanos de *Staphylococcus* spp. sejam resistentes (ZINN, 2000). Assim como verificado por nós (tabela 9), a ocorrência do gene *blaZ* é vista tanto em *S. aureus* como SCoN, e é possível que sua transmissão ocorra entre as próprias espécies deste gênero (UDO et al., 1997). Isto é particularmente importante pois, favorece o aumento da disseminação de isolados resistentes. Detecção de resistência a penicilina mediada pelo gene *blaZ* foi relatada em isolados de *Staphylococcus* obtidos de amostras clínicas (TAKAYAMA et al., 2018) e ambientais (KÜREKCI, 2016; RESCH et al., 2008).

No presente estudo, MRSA e MR-SCoN foram detectados nas amostras de ar interior climatizado coletados em aeronaves comerciais. Semelhante aos nossos resultados, *S. aureus* e SCoN resistentes à meticilina foram relatados em ambientes artificialmente climatizados como residências e hospitais (KUMAR; GOEL, 2016; PATHAK, 2016; LIS; PACHA; IDZIK, 2009). Atualmente, a depender da região, cerca de 25 a 50% dos isolados de *S. aureus* possuem fenótipo de resistência à meticilina/oxacilina (LEE et al., 2018), enquanto que em SCoN, a espécie *S. epidermidis* por exemplo, apresente um percentual ainda maior, chegando a 90% (MAY et al., 2014). Isto é importante pois, há evidência que corrobora com a hipótese de que SCoN atua como reservatório do gene *mecA* para *S. aureus*, favorecendo cada vez mais a emergência de MRSA (RACHMAN et al., 2017; TULINSKI et al., 2012).

A detecção do gene *mecA* tem grande importância devido ao fato de que este é um dos principais mecanismos de resistência visto em *Staphylococcus* causadores de um amplo espectro de infecções (PEACOCK; PATERSON, 2015; BECKER et al., 2014), e a resistência mediada por este gene pode também conferir diminuição da susceptibilidade a outras classes de antibióticos, limitando consideravelmente as opções terapêuticas (HENWOOD et al., 2000). A resistência à meticilina/oxacilina foi por muito tempo considerada um problema relacionado ao ambiente hospitalar, porém, graças a notável capacidade evolutiva destas espécies e um vasto

mecanismo de disseminação, surtos causados por MRSA foram descritos fora deste ambiente específico (KONG et al., 2016).

Neste contexto, o ar interior climatizado pode ter um papel determinante na disseminação de MRSA e MR-SCoN, favorecendo a ocorrência de surtos de infecções não apenas restrito ao ambiente hospitalar, mas também em outros ambientes artificialmente climatizados (SAADOUN et al., 2015; ZHOU; WANG, 2013). Considerando que neste estudo, não apenas *S. aureus*, mas também espécies de SCoN foram positivas para o gene *mecA* (tabela 10), esta evidência vem a constatar a importância que viagens aéreas possuem na disseminação de bactérias problemáticas e potencialmente prejudiciais à saúde humana. Zhou et al. (2014) atentaram para esta questão e verificaram que existe uma possibilidade real de que o transporte aéreo de passageiro possa trazer riscos no que diz respeito a disseminação de MRSA. A disseminação de MRSA e MR-SCoN dentro do ambiente de cabine pode acontecer pela presença de um indivíduo infectado (vetor de transmissão), mas também por meio do sistema de climatização de aeronaves que não tenham sofrido adequada manutenção ou por mal funcionamento deste (PAHWA, 1995). Embora muitos MR-SCoN já tenham sido encontrados no ar interior climatizado, este é o primeiro relato da ocorrência de *S. pasteurii* e *S. sciuri mecA* positivos no ar interior climatizado de aeronaves comerciais.

Genes envolvidos na resistência cruzada aos macrolídeos, lincosamidas e estreptogramina B (*ermA*, *ermB* e *ermC*) foram encontrados em nosso rastreamento (figura 24). Estes genes estão envolvidos nos fenótipos de resistência constitutiva e indutiva aos MLS<sub>B</sub>, e em ambos os casos, o resultado pode levar a falha na terapia clínica (PATEL; GANDHI, 2017). Aqui não realizamos o teste D para determinar qual o fenótipo exato expressado pelas nossas amostras. Essa resistência é preocupante pelo fato de que atualmente MLS<sub>B</sub> são utilizados como alternativa no combate a infecções causadas por MRSA e MR-SCoN (KAMAT et al., 2012). Entretanto, a utilização em grande escala levou ao aumento de casos em que *S. aureus* e SCoN apresentam fenótipo de resistência (KAVITHA et al., 2018; DA PAZ PEREIRA et al., 2016). Em nossos resultados, *ermA* e *ermC* foram os mais prevalentes nas amostras coletadas, o que foi observado também no estudo feito por Abbas et al. (2015). Goudarzi et al. (2016) também relataram alta frequência do gene *ermC* em *Staphylococcus* isolados de cavidade nasal, contudo, diferente da nossa observação, eles relataram *ermA* como o menos frequente. A detecção de *ermB* em menor frequência corrobora com a hipótese de que este gene é muito mais

encontrado em outros gram positivos resistentes aos MLS<sub>B</sub>, do que em *Staphylococcus* sp. (JENSEN et al., 1999).

A disseminação aérea de *Staphylococcus* carreando genes de resistência aos MLS<sub>B</sub> não tem sido frequentemente relatada. Lenart-Boroń et al. (2016) avaliaram a ocorrência de genes de resistência em bioaerossóis de SCoN, e eles relataram somente a presença do gene *ermB* nas amostras coletadas. Diferentemente dos resultados deste estudo, os autores não verificaram a presença de *ermA* e *ermC* em *Staphylococcus* spp. isolados do ar interior climatizado. Genes *ermA* e *ermB* foram detectados em *Enterococcus* spp. e *Streptococcus* spp. obtidos do ar interior climatizado de uma indústria alimentícia (SAPKOTA et al., 2006).

O papel do ar na disseminação de *Staphylococcus* resistentes aos MLS<sub>B</sub> precisa ser mais bem compreendido. Para o ambiente de cabine de aeronaves, estudos buscando investigar a contaminação aérea por *Staphylococcus* carreando genes de resistência ainda não foram relatados. O presente trabalho é pioneiro em utilizar esta abordagem. Petersen et al. (2015) avaliaram a presença de bactérias patogênicas e o possível carregamento de genes de resistência a partir de amostras de lixos do banheiro em voos de longa distância. Em seus resultados eles descreveram uma grande abundância de genes de resistência a antibióticos, inclusive os genes de resistência cruzada aos macrolídeos, lincosamidas e estreptogramina B, que também foram detectados aqui.

A resistência bacteriana a antibióticos aparece como um problema mundial, sobretudo pelos altos custos associados ao combate às infecções causadas por estes microrganismos. Este grave problema de saúde pública pode ser ampliado por meio do transporte aéreo de passageiros, disseminando bactérias para locais onde possivelmente a presença de algumas delas ainda não tenha sido registrada. Assim, os resultados aqui apresentados consistem em uma importante fonte de dados para que sejam elaboradas estratégias de controle de surtos e prevenir epidemias relacionadas a bactérias multidroga resistentes no Brasil.

#### 5.4.2 Detecção de genes de síntese de biofilmes em *Staphylococcus*

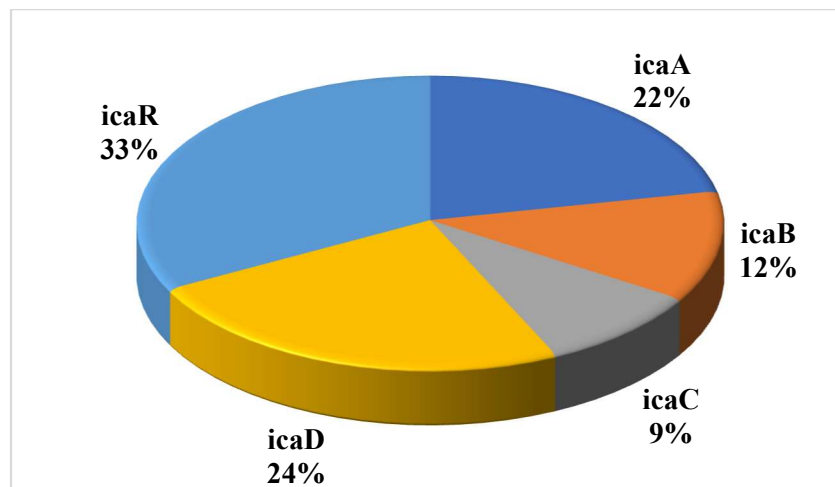
Com relação a síntese de biofilmes, todos aqueles elementos genéticos que compõem o locus *ica* (ADBC) mais a região promotora *icaR* foram detectados (tabela 9). A figura 25 exibe a frequência de carregamento dos genes individuais entre as amostras obtidas. Conforme observado, o gene *icaR* foi o mais frequente, seguido pelo *icaD* e *icaA* respectivamente. *icaB* e



*icaC* tiveram frequência de 11% e 8% respectivamente. A elevada frequência do gene *icaR* tem uma considerável importância, pois acredita-se que ele atua na regulação ambiental do locus *ica*, reprimindo a expressão dos genes envolvidos na síntese da adesina intercelular polissacarídica (PIA), responsável pela formação de biofilmes em *Staphylococcus* (CONLON et al., 2002a). Assim, ainda que um determinado isolado possua os genes para formação de biofilmes, a depender do estresse que a célula sofra em consequência de mudanças no ambiente, estes genes não serão transcritos (CONLON et al., 2002b). Uma vez no ambiente, incluindo sob a forma de aerossóis, bactérias podem ser submetidas a condições adversas que não permitam a formação de biofilme, entretanto, o contato com superfícies do corpo humano expostas (incluindo feridas na pele ou membranas mucosas) e a presença de condições adequadas, o gene *icaR* seria reprimido, e a transcrição do locus *ica* seria possível (JEFFERSON et al., 2004).

De todos os elementos genéticos do operon *ica*, os genes *icaA* e *icaD* são os principais em mediar a síntese do polissacarídeo da matriz do biofilme. Isso porque na expressão conjunta destes genes, esta matriz é sintetizada em quantidades elevadas, aumentando a capacidade de maturação do biofilme (KOKARE, 2009). Em nosso rastreamento, apenas 16 (9%) das amostras foram positivas para detecção conjunta de *icaA* e *icaD*, com esta ocorrência verificada somente em *S. epidermidis*. Este resultado corrobora com os resultados descritos por Gad et al. (2009), que relataram alta frequência de detecção conjunta destes genes também nesta espécie. Em outros estudos, diferente dos nossos resultados, a detecção conjunta destes genes foi descrita também em *S. aureus* e *S. haemolyticus* (NOURBAKHSI; NAMVAR, 2016; PINHEIRO et al., 2016). Contudo, ainda que um baixo percentual de amostras tenha exibido simultaneamente *icaAD*, não podemos descartar a formação de biofilmes pelos outros isolados aqui relatados, pois outros genes também são responsáveis por mediar este processo neste grupo de bactérias (GÖTZ, 2002). Esta síntese de biofilmes em um mecanismo independente do locus *ica* parece estar muito relacionado com a especificidade de cada isolado de *Staphylococcus* (ARCHER et al., 2011).

**Figura 25 – Frequência de detecção dos genes relacionados à síntese de biofilmes em *Staphylococcus*.**



AUTOR, 2019.

Poucos são os trabalhos que buscaram investigar a presença de genes para formação de biofilmes em *Staphylococcus* contaminantes do ar interior climatizado. Seguramente, este é o primeiro trabalho a verificar este fator de virulência em isolados obtidos a partir do ambiente de cabine de aeronaves. Seo et al. (2008) detectaram genes relacionados a formação de biofilmes em *S. epidermidis*, *S. aureus* e *S. hominis* obtidos vários ambientes públicos artificialmente climatizados. Corroborando com os nossos resultados, os autores também verificaram *S. epidermidis* como a espécie com maior frequência de detecção destes genes. Formação de biofilmes foi verificado também em *S. epidermidis* coletados do ar em hospitais e de aparelhos de ar condicionado de carros e residências (RAHMAN, 2019; BOTELHO et al., 2012).

Neste estudo, *S. epidermidis* com potencial para formação de biofilmes (expressão conjunta de *icaAD*) foi detectado em amostras de ar coletadas dentro de aeronaves comerciais (tabela 9). O ar interior climatizado em vários tipos de ambientes pode ser considerado um eficiente meio para dispersão de bactérias possivelmente patogênicas e multidroga resistentes (NAZ et al., 2019), e de acordo com nossos resultados, especificamente para o ambiente de cabine, passageiros e tripulação podem estar expostos a aerossóis contendo *S. epidermidis* formadores de biofilmes. Isto é relevante pelo fato desta espécie juntamente com *S. aureus* serem considerados importantes patógenos nosocomiais e estão entre os mais relacionados a infecções persistentes decorrente da utilização de dispositivos médicos comprometidos por biofilmes (JAN-ROBLERO et al., 2016). Problemas como osteomielite, periodontite, peri-

implantite, infecções relacionadas ao uso de dispositivos médicos, infecções oculares e de feridas, endocardite e rinossinusite crônica são algumas das doenças causadas por *Staphylococcus* spp. e que possui biofilmes como agravante (ARCHER et al., 2011). Embora seja uma das principais bactérias a colonizar a pele e membranas mucosas humana, *S. epidermidis* pode ser considerado um importante patógeno oportunista, envolvido em vários tipos de infecções e com um agravante impactante que são os biofilmes (VUONG; OTTO, 2002). Este fato pode ser considerado um ponto significativo no que diz respeito a detecção desta bactéria no ar interior climatizado de aeronaves comerciais, conforme verificado no presente estudo.

Uma vez instaurada uma infecção com presença de biofilmes, o quadro clínico tende a um gradual agravamento, isto porque *Staphylococcus* assim como outras bactérias formadoras de biofilmes, tendem a escapar dos mecanismos de defesas do hospedeiro (JAN-ROBLERO et al., 2016). Le et al. (2018) revisaram os mecanismos que permitem *S. epidermidis* evadir das respostas imune do hospedeiro utilizando componentes da estrutura dos biofilmes e verificaram que estas bactérias são capazes de modular múltiplos aspectos da resposta imune inata, permitindo assim que persistam no organismo, levando a infecção a um estado crônico.

Outra fascinante propriedade vista em *Staphylococcus* formadores de biofilmes é a capacidade de resistirem a terapia com antibióticos. Vários estudos descrevem os mecanismos pelo qual a formação de biofilmes ajuda na proteção bacteriana contra a ação de antibióticos (HØIBY et al., 2010; STEWART; COSTERTON, 2001). Acredita-se que a resistência a antibióticos em bactérias organizadas em biofilmes possa ser aumentada cerca de 1000 vezes (NEUPANE et al., 2016). Basicamente os mecanismos envolvidos nesta resistência são a incapacidade de as drogas difundirem-se através da matriz polissacarídica do biofilme e alcançar seu alvo na célula, bem como a redução na eficiência dos antibióticos por meio da atuação de moléculas presentes no biofilme (JAN-ROBLERO et al., 2016). Em nossos resultados, 3 (2%) das amostras foram positivas para expressão conjunta de *icaAD* mais o gene *mecA*, destacando a virulência e o provável sucesso destes isolados como patógenos humanos. Além de tudo o que já foi exposto, a formação de biofilmes em *Staphylococcus* pode contribuir para a disseminação de determinantes de resistência bacteriana, pois confere um ótimo ambiente para a transferência horizontal de genes (SOTO, 2014).

No presente estudo, foi demonstrada a contaminação microbiológica do ar interior climatizado por fungos e bactérias potencialmente patogênicos em aeronaves comerciais. Para

além desta contaminação, os microrganismos aqui reportados são possuidores de mecanismos altamente especializados (micotoxinas, alérgenos, COVM, genes de resistência e formação de biofilmes), o que confere uma maior preocupação quanto aos riscos de exposição a qual estamos suscetíveis neste tipo específico de ambiente. Estes resultados deverão, portanto, ser direcionados a fim de considerarmos as questões relativas à saúde humana no que diz respeito ao transporte aéreo de passageiros, o que para o Brasil ainda tem sido pouco estudado.

Segundo a literatura, a cabine das aeronaves atualmente utilizadas na aviação mundial tem sido considerada um ambiente com reduzida introdução de microrganismos nocivos a saúde humana, graças ao funcionamento de filtros de ar com alta eficiência na separação de partículas (filtro HEPA). Entretanto, não existe internacionalmente ou nacionalmente uma legislação que busque averiguar a eficiência, a periodicidade do funcionamento e manutenção adequada destes filtros, nem mesmo o monitoramento da qualidade do ar que está sendo oferecido a passageiros e tripulantes.

Como qualquer outro filtro, a não observação das devidas condições de funcionamento e manutenção adequada dos filtros HEPA instalados em aeronaves pode levar ao acúmulo e multiplicação de microrganismos, comprometendo a sua eficiência e resultando na eventual liberação de potenciais agentes infecciosos (JOE et al., 2014; PERRIER et al., 2008). Isto porque a multiplicação de microrganismos nestes filtros pode provocar avarias nos mesmos, e ao invés de atuarem na retenção destes poluentes, eles estarão servindo como fonte para o ambiente artificialmente climatizado (LIU et al., 2018). Assim, ao invés de atuarem promovendo um ambiente com riscos mínimos da presença de contaminantes microbianos no ar interior, acabam por auxiliar na disseminação de importantes doenças infecciosas, o que pode numa análise global ser importante no estabelecimento de surtos e epidemias.

Este trabalho apresenta uma limitação considerável quando comparado a realização de coletas e investigação durante o voo. Como não há no Brasil nenhuma norma regulamentadora que permita realizar este monitoramento durante o percurso de viagem, a avaliação em voo somente poderia acontecer em decorrência de permissão concedida pelas companhias aéreas. Haja vista o desconhecimento acerca das questões relativas à QAI por parte de muitos dos representantes destas empresas, aliado a todos os trâmites burocráticos e de segurança envolvidos, a permissão não foi alcançada durante o período da realização desta pesquisa. Assim, é possível que os resultados aqui relatados sejam parte de um todo que só poderá ser melhor compreendido após monitoramento a bordo das aeronaves. Infelizmente, não é possível

prever até que ponto houve a influência de alguns dos fatores relacionados às coletas em solo sobre os resultados aqui descritos. Contudo, ainda que essa influência seja significativa, este trabalho vem demonstrar a necessidade de serem consideradas questões relativas ao monitoramento da QAI na aviação comercial brasileira, à semelhança do que ocorre em outros ambientes artificialmente climatizados.

## 6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Após o monitoramento inédito da qualidade do ar interior em aeronaves comerciais que realiza o transporte aéreo de passageiros no Brasil, é possível concluir que:

- Fungos potencialmente patogênicos, toxigênicos e alergênicos estiveram presentes no ar em muitas das aeronaves avaliadas;
- Uma considerável diversidade de bactérias Gram negativas e positivas possivelmente patogênicas foram detectadas nas amostras analisadas;
- Para espécies gênero *Staphylococcus*, foram detectados genes que conferiam resistência a penicilina (*blaZ*), meticilina/oxacilina (*mecA*) e resistência cruzada aos macrolídeos, lincasamidas e estreptogramina B (*ermA*, *ermB* e *ermC*);
- Genes relacionados a síntese de biofilmes, foram detectados somente na espécie *S. epidermidis*.

Considerando que a detecção de microrganismos aéreos viáveis circulando no ambiente de cabine é de suma relevância para a saúde humana, a realização de avaliações exaustivas e precisas da diversidade e concentração microbiana relacionadas aos sistemas de ar de aeronaves comerciais torna-se de extrema valia a fim de compreendermos os riscos de exposição que ocorrem neste tipo específico de ambiente.

Os resultados aqui apresentados compõem parte das análises que foram realizadas, sendo prevista ainda a investigação da diversidade de fungos leveduriformes coletados nas amostras de ar interior climatizado, bem como a pesquisa de genes de resistência nas bactérias gram negativas de importância clínica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, Ameer; SRIVASTAVA, Preeti; NIRWAN, Prem Singh. Prevalence of MLSB resistance and observation of erm A & erm C genes at a Tertiary Care Hospital. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 9, n. 6, p. DC08, 2015.

ABBASI, Fariba; SAMAEI, Mohammad Reza. The effect of temperature on airborne filamentous fungi in the indoor and outdoor space of a hospital. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-9, 2018.

ABDALLAH, Marwan et al. Biofilm formation and persistence on abiotic surfaces in the context of food and medical environments. **Archives of microbiology**, v. 196, n. 7, p. 453-472, 2014.

ABUBAKAR, Ibrahim. Tuberculosis and air travel: a systematic review and analysis of policy. **The Lancet infectious diseases**, v. 10, n. 3, p. 176-183, 2010.

ADAMS, Rachel I. et al. Microbiota of the indoor environment: a meta-analysis. **Microbiome**, v. 3, n. 1, p. 49, 2015.

ADÉKAMBI, Toïdi; DRANCOURT, Michel; RAOULT, Didier. The rpoB gene as a tool for clinical microbiologists. **Trends in microbiology**, v. 17, n. 1, p. 37-45, 2009.

AGUILAR, Javier et al. Staphylococcus aureus meningitis: case series and literature review. **Medicine**, v. 89, n. 2, p. 117-125, 2010.

AIMANIANDA, Vishukumar et al. Surface hydrophobin prevents immune recognition of airborne fungal spores. **Nature**, v. 460, n. 7259, p. 1117, 2009.

AKANBI, Olufemi Emmanuel et al. Antimicrobial susceptibility of Staphylococcus aureus isolated from recreational waters and beach sand in eastern cape province of South Africa. **International journal of environmental research and public health**, v. 14, n. 9, p. 1001, 2017.

ALEKSIC, Brankica et al. Aerosolization of mycotoxins after growth of toxinogenic fungi on wallpaper. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 83, n. 16, p. e01001-17, 2017.

ALLEGRA, Séverine et al. Characterization of aerosols containing Legionella generated upon nebulization. **Scientific reports**, v. 6, p. 33998, 2016.

- ALMAGHRABI, Mohammed K. et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: an emerging health threat in Aseer Region, Kingdom of Saudi Arabia. **Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology**, v. 2018, 2018.
- ALÓS, Juan-Ignacio. Quinolonas. **Enfermedades infecciosas y microbiología clínica**, v. 27, n. 5, p. 290-297, 2009.
- ALTSCHUL, Stephen F. et al. Basic local alignment search tool. **Journal of molecular biology**, v. 215, n. 3, p. 403-410, 1990.
- ÁLVAREZ, L. García et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: A descriptive study. **Lancet**, v. 11, p. 595-603, 2011.
- ALVAREZ, Salvador et al. Systemic infection caused by *Penicillium decumbens* in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. **Journal of Infectious Diseases**, v. 162, n. 1, 1990.
- AMOUREUX, M. C. Pathophysiological role of endotoxins, a common denominator to various diseases. **Pathologie-biologie**, v. 52, n. 7, p. 415-422, 2004.
- AN DER HEIDEN, Maria et al. Contact investigation after a fatal case of extensively drug-resistant tuberculosis (XDR-TB) in an aircraft, Germany, July 2013. **Eurosurveillance**, v. 22, n. 12, 2017.
- ANDERSON, Peter D.; BOKOR, Gyula. Bioterrorism: pathogens as weapons. **Journal of pharmacy practice**, v. 25, n. 5, p. 521-529, 2012.
- ANDRETTA, I. et al. Meta-analytical study of productive and nutritional interactions of mycotoxins in broilers. **Poultry science**, v. 90, n. 9, p. 1934-1940, 2011.
- ANDUALEM, Zewudu et al. Indoor bacterial load and its correlation to physical indoor air quality parameters in public primary schools. **Multidisciplinary respiratory medicine**, v. 14, n. 1, p. 2, 2019.
- ANFOSSI, Laura; GIOVANNOLI, Cristina; BAGGIANI, Claudio. Mycotoxin detection. **Current opinion in biotechnology**, v. 37, p. 120-126, 2016.



ANSARI, Saham; LOTFI, Nazanin; HEDAYATI, Mohammad Taghi. A review on the relationship between fungal allergens with allergy and respiratory diseases. **Journal of Mazandaran University of Medical Sciences**, v. 25, n. 126, p. 159-183, 2015.

ANTONISSEN, Gunther et al. The impact of Fusarium mycotoxins on human and animal host susceptibility to infectious diseases. **Toxins**, v. 6, n. 2, p. 430-452, 2014.

ARAKI, Atsuko et al. Relationship between selected indoor volatile organic compounds, so-called microbial VOC, and the prevalence of mucous membrane symptoms in single family homes. **Science of the total environment**, v. 408, n. 10, p. 2208-2215, 2010.

ARCHER, Nathan K. et al. Staphylococcus aureus biofilms: properties, regulation, and roles in human disease. **Virulence**, v. 2, n. 5, p. 445-459, 2011.

ARCIOLA, Carla Renata et al. A multiplex PCR method for the detection of all five individual genes of ica locus in Staphylococcus epidermidis. A survey on 400 clinical isolates from prosthesis-associated infections. **Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials**, v. 75, n. 2, p. 408-413, 2005.

ARCIOLA, Carla Renata et al. Polysaccharide intercellular adhesin in biofilm: structural and regulatory aspects. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 5, p. 7, 2015.

ARIZA-MIGUEL, Jaime et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus harboring mecC in livestock in Spain. **Journal of clinical microbiology**, v. 52, n. 11, p. 4067-4069, 2014.

ASAI, Nobuhiro et al. Pantoea dispersa bacteremia in an immunocompetent patient: a case report and review of the literature. **Journal of medical case reports**, v. 13, n. 1, p. 33, 2019.

ASIF, Ayesha et al. Microbial quality assessment of indoor air in a large hospital building during winter and spring seasons. **Building and Environment**, v. 135, p. 68-73, 2018.

ATKINSSCHUIJS, Martijn J. et al. Farm dust and endotoxin protect against allergy through A20 induction in lung epithelial cells. **Science**, v. 349, n. 6252, p. 1106-1110, 2015.

AUDRAIN, Bianca et al. Role of bacterial volatile compounds in bacterial biology. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 39, n. 2, p. 222-233, 2015.

AZIMIAN, Amir et al. Genetic characterization of a vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from the respiratory tract of a patient in a university hospital in northeastern Iran. **Journal of clinical microbiology**, v. 50, n. 11, p. 3581-3585, 2012.

BALLHAUSEN, Britta et al. The *mecA* homolog *mecC* confers resistance against  $\beta$ -lactams in *Staphylococcus aureus* irrespective of the genetic strain background. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 58, n. 7, p. 3791-3798, 2014.

BARAC, Aleksandra. Mycotoxins and Human Disease. In: **Clinically Relevant Mycoses**. Springer, Cham, 2019. p. 213-225.

BARBER, Mary et al. Infection by Penicillin-Resistant *Staphylococci*. **Lancet**, p. 641-4, 1948.

BARBERÁN, Albert et al. Continental-scale distributions of dust-associated bacteria and fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 18, p. 5756-5761, 2015.

BARBIER, François et al. Methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci in the community: high homology of SCCmec IVa between *Staphylococcus epidermidis* and major clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **The Journal of infectious diseases**, v. 202, n. 2, p. 270-281, 2010.

BARBOSA, Lidiane Nunes et al. Molecular identification and phylogenetic analysis of *Bothriopsis insularis* bacterial and fungal microbiota. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 81, n. 6, p. 142-153, 2018.

BARKER, J.; JONES, M. V. The potential spread of infection caused by aerosol contamination of surfaces after flushing a domestic toilet. **Journal of applied microbiology**, v. 99, n. 2, p. 339-347, 2005.

BARRETT, Julia R. Liver cancer and aflatoxin: New information from the Kenyan outbreak. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, n. 12, p. A837-A838, 2005.

BARROS, Alexandre Hugo Cezar et al. Climatologia do estado de Alagoas. **Embrapa Solos-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2012.

BARTLETT, K. H. et al. Evaluating indoor air quality: Test standards for bioaerosols. Report to the Workers' Compensation Board of British Columbia Research Secretariat, no. 2003; 99FS-64.

BAUGHMAN, A. V; ARENS, E. A. Indoor Humidity and Human Health-Part I: Literature Review of Health Effects of Humidity-Influenced Indoor Pollutants. **ASHRAE Transactions**. 102, Part 1, 192 – 211, 1996.

BAXI, Sachin N. et al. Exposure and health effects of fungi on humans. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice**, v. 4, n. 3, p. 396-404, 2016.

BAYHAN, Gulsum Iclal et al. Bacteremia caused by *Pseudomonas luteola* in pediatric patients. **Japanese journal of infectious diseases**, v. 68, n. 1, p. 50-54, 2015.

BAYLIS, Chris et al. The Enterobacteriaceae and their significance to the food industry. **The Enterobacteriaceae and their significance to the food industry.**, 2011.

BAYRAKTAR, Banu et al. First Case of Bacteremia Caused by *Kytococcus schroeteri* in a Child With Congenital Adrenal Hyperplasia. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 37, n. 12, p. e304-e305, 2018.

BECKER, Karsten et al. Detection of *mecA*-and *mecC*-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates by the new Xpert MRSA Gen 3 PCR assay. **Journal of clinical microbiology**, v. 54, n. 1, p. 180-184, 2016.

BECKER, Karsten et al. Plasmid-encoded transferable *mecB*-mediated methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. **Emerging infectious diseases**, v. 24, n. 2, p. 242, 2018.

BECKER, Karsten; HEILMANN, Christine; PETERS, Georg. Coagulase-negative staphylococci. **Clinical microbiology reviews**, v. 27, n. 4, p. 870-926, 2014.

BELLANGER, A. P. et al. *Paecilomyces variotii* fungemia in a patient with lymphoma needing liver transplant. **Mycopathologia**, v. 182, n. 7-8, p. 761-765, 2017.

BENGTSSON-PALME, Johan et al. Elucidating selection processes for antibiotic resistance in sewage treatment plants using metagenomics. **Science of the Total Environment**, v. 572, p. 697-712, 2016.

BERARDI, B. M. et al. Indoor climate and air quality in new offices: effects of a reduced air-exchange rate. **International archives of occupational and environmental health**, v. 63, n. 4, p. 233-239, 1991.

BERGERON, Marie et al. Species identification of staphylococci by amplification and sequencing of the *tuf* gene compared to the *gap* gene and by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases**, v. 30, n. 3, p. 343-354, 2011.

BERTOLINI, Valentina et al. Temporal variability and effect of environmental variables on airborne bacterial communities in an urban area of Northern Italy. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 97, n. 14, p. 6561-6570, 2013.

BIXLER, Gregory D.; BHUSHAN, Bharat. Biofouling: lessons from nature. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 370, n. 1967, p. 2381-2417, 2012.

BOAMAH, Vivian Etsiapa et al. Prevalence and antibiotic resistance of coagulase-negative Staphylococci isolated from poultry farms in three regions of Ghana. **Infection and drug resistance**, v. 10, p. 175, 2017.

BORNEHAG, Carl-Gustaf et al. Dampness in buildings and health (DBH): Report from an ongoing epidemiological investigation on the association between indoor environmental factors and health effects among children in Sweden. **Indoor Air**, v. 14, n. 7, p. 59-66, 2004.

BORREGO, Sofia et al. Determination of indoor air quality in archives and biodeterioration of the documentary heritage. **ISRN microbiology**, v. 2012, 2012.

BOTELHO, Ana Maria Nunes et al. Characterization of coagulase-negative staphylococci isolated from hospital indoor air and a comparative analysis between airborne and inpatient isolates of *Staphylococcus epidermidis*. **Journal of medical microbiology**, v. 61, n. 8, p. 1136-1145, 2012.

BOUILLARD, Lucette et al. Bacterial contamination of indoor air, surfaces, and settled dust, and related dust endotoxin concentrations in healthy office buildings. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 12, n. 2, p. 187-192, 2005.

BOURNE, Christina. Utility of the biosynthetic folate pathway for targets in antimicrobial discovery. **Antibiotics**, v. 3, n. 1, p. 1-28, 2014.

BRAĞOSZEWSKA, Ewa; BIEDROŃ, Izabela. Indoor Air Quality and Potential Health Risk Impacts of Exposure to Antibiotic Resistant Bacteria in an Office Rooms in Southern Poland. **International journal of environmental research and public health**, v. 15, n. 11, p. 2604, 2018.

BRANDA, Steven S. et al. Biofilms: the matrix revisited. **Trends in microbiology**, v. 13, n. 1, p. 20-26, 2005.

BRASEL, T. L. et al. Detection of airborne *Stachybotrys chartarum* macrocyclic trichothecene mycotoxins in the indoor environment. **Applied and environmental microbiology**, v. 71, n. 11, p. 7376-7388, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº09 de 16 de janeiro de 2003. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 20 jan. 2003. Disponível em: <[http://www.saude.mg.gov.br/images/documentos/RES\\_RE\\_09.pdf](http://www.saude.mg.gov.br/images/documentos/RES_RE_09.pdf)>. Acesso em 13 Jan. 2019.

BREVES, Angela et al. Methicillin-and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in health care workers and medical devices. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 51, n. 3, p. 143-152, 2015.

BRUNETTE, Gary W. et al. CDC Yellow Book 2018: health information for international travel. Oxford University Press, 2017.

BRUNI, Maurilio; STEFFEN, Robert. Impact of travel-related health impairments. **Journal of travel medicine**, v. 4, n. 2, p. 61-64, 1997.

CAAMAÑO-ANTELO, S. et al. Genetic discrimination of foodborne pathogenic and spoilage *Bacillus* spp. based on three housekeeping genes. **Food microbiology**, v. 46, p. 288-298, 2015.

CAFISO, V. et al. Presence of the *ica* operon in clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis* and its role in biofilm production. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 10, n. 12, p. 1081-1088, 2004.

CAILLAUD, Denis et al. Indoor mould exposure, asthma and rhinitis: findings from systematic reviews and recent longitudinal studies. **European Respiratory Review**, v. 27, n. 148, p. 170137, 2018.

CAO, Xiaodong et al. The on-board carbon dioxide concentrations and ventilation performance in passenger cabins of US domestic flights. **Indoor and Built Environment**, p. 1420326X18793997, 2018.

CAREY, Stephan A. et al. Satratoxin-G from the black mold *Stachybotrys chartarum* induces rhinitis and apoptosis of olfactory sensory neurons in the nasal airways of rhesus monkeys. **Toxicologic pathology**, v. 40, n. 6, p. 887-898, 2012.

CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 42, p. 225-6, 1939.

CERCA, Nuno; BROOKS, Jamie L.; JEFFERSON, Kimberly K. Regulation of the intercellular adhesin locus regulator (*icaR*) by *SarA*,  $\sigma B$ , and *IcaR* in *Staphylococcus aureus*. **Journal of bacteriology**, v. 190, n. 19, p. 6530-6533, 2008.

CHABOT, Matthew R. et al. Reappearance and treatment of penicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in a tertiary medical centre. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 12, p. 3353-3356, 2015.

CHALLA, Sundaram. Pathogenesis and Pathology of Invasive Aspergillosis. **Current Fungal Infection Reports**, v. 12, n. 1, p. 23-32, 2018.

CHANG, Soju et al. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the *vanA* resistance gene. **New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 14, p. 1342-1347, 2003.

CHEN, A. J. et al. New *Talaromyces* species from indoor environments in China. **Studies in mycology**, v. 84, p. 119-144, 2016.

CHEN, Te-Li et al. Rapid identification of *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter nosocomialis* and *Acinetobacter pittii* with a multiplex PCR assay. **Journal of medical microbiology**, v. 63, n. 9, p. 1154-1159, 2014.

CHO, JINKYUN; WOO, KYUNGHUN; KIM, S. Removal of Airborne Contamination in Airborne Infectious Isolation Rooms. **ASHRAE Journal**, v. 61, n. 2, 2019.

CHOI, Hyunok; SCHMIDBAUER, Norbert; BORNEHAG, Carl-Gustaf. Volatile organic compounds of possible microbial origin and their risks on childhood asthma and allergies within damp homes. **Environment international**, v. 98, p. 143-151, 2017.

COIMBRA, Daniel G. et al. Wound infection by multiresistant *Staphylococcus sciuri* identified by molecular methods. **New Microbiologica**, v. 34, n. 4, p. 425-427, 2011.

COLLINS, Samuel et al. Occurrence of *Legionella* in UK household showers. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 220, n. 2, p. 401-406, 2017.

CONLON, Kevin M.; HUMPHREYS, Hilary; O'GARA, James P. *icaR* encodes a transcriptional repressor involved in environmental regulation of *ica* operon expression and biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis*. **Journal of bacteriology**, v. 184, n. 16, p. 4400-4408, 2002a.

CONLON, Kevin M.; HUMPHREYS, Hilary; O'GARA, James P. Regulation of *icaR* gene expression in *Staphylococcus epidermidis*. **FEMS microbiology letters**, v. 216, n. 2, p. 171-177, 2002b.

CRAMTON, Sarah E. et al. The intercellular adhesion (*ica*) locus is present in *Staphylococcus aureus* and is required for biofilm formation. **Infection and immunity**, v. 67, n. 10, p. 5427-5433, 1999.

CRANE, John K. Resurgence of penicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* at a hospital in New York State, USA. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 69, n. 1, p. 280-281, 2013.

CRAWFORD, J. A. et al. Indicators of airborne fungal concentrations in urban homes: Understanding the conditions that affect indoor fungal exposures. **Science of The Total Environment**, v. 517, p. 113–124, 2015.

CUI, Longzhu et al. Contribution of a thickened cell wall and its glutamine nonamidated component to the vancomycin resistance expressed by *Staphylococcus aureus* Mu50. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 44, n. 9, p. 2276-2285, 2000.

CUI, W. et al. Passenger thermal comfort and behavior: a field investigation in commercial aircraft cabins. **Indoor air**, v. 27, n. 1, p. 94-103, 2017.

DA PAZ PEREIRA, Jussyêgles Niedja et al. Phenotypic and molecular characterization of resistance to macrolides, lincosamides and type B streptogramin of clinical isolates of *Staphylococcus* spp. of a university hospital in Recife, Pernambuco, Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 20, n. 3, p. 276-281, 2016.

DANNEMILLER, Karen C.; WESCHLER, Charles J.; PECCIA, Jordan. Fungal and bacterial growth in floor dust at elevated relative humidity levels. **Indoor Air**, v. 27, n. 2, p. 354-363, 2017.

DASHTI, Ali A. et al. Heat treatment of bacteria: a simple method of DNA extraction for molecular techniques. **Kuwait Med J**, v. 41, n. 2, p. 117-122, 2009.

DE HOOG, G. S. et al. **Atlas of Clinical Fungi**, 2 edn. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Universitat Rovira i Vigilli, Utrecht/Reus, 2000.

DE ROOIJ, Myrna MT et al. Detection of *Coxiella burnetii* in ambient air after a large Q fever outbreak. **PLoS One**, v. 11, n. 3, p. e0151281, 2016.

DE SOUZA, Marcus Vinicius Nora. Rifampicina, um importante fármaco no combate à tuberculose. **Rev. Bras. Farm**, v. 86, n. 3, p. 92-94, 2005.

DECHOW, M.; SOHN, H.; STEINHANSES, J. Concentrations of selected contaminants in cabin air of airbus aircrafts. **Chemosphere**, v. 35, n. 1-2, p. 21-31, 1997.

DELHAYE, David et al. The MERMOSE project: Characterization of particulate matter emissions of a commercial aircraft engine. **Journal of Aerosol Science**, v. 105, p. 48-63, 2017.

DENNIS, D. P.; THRASHER, J. D. Nasal fungal pathology and trichothecenes associated with water-damaged school and home. **Austin J Otolaryngol**, v. 3, n. 1, p. 1072-7, 2016.

DIETZE, B. et al. Survival of MRSA on sterile goods packaging. **Journal of Hospital Infection**, v. 49, n. 4, p. 255-261, 2001.

DIRIBA, L.; KASSAYE, A.; YARED, M. Antibiotics susceptibility pattern of hospital indoor airborne bacteria in Hawassa University Teaching and Referral Hospital, South Ethiopia. **International Journal of Modern Chemistry and Applied Science**, v. 3, n. 1, p. 287-292, 2016.

DONDERO JR, Timothy J. et al. An outbreak of Legionnaires' disease associated with a contaminated air-conditioning cooling tower. **New England Journal of Medicine**, v. 302, n. 7, p. 365-370, 1980.

DOUGLAS, S. I.; ROBINSON, V. K. Fungal Pollution of Indoor Air of Some Health Facilities in Rivers State. **International Journal of Tropical Disease & Health**, 32(2): 1-7, 2018.



DOURAGHI, Masoumeh et al. Molecular identification of *Pseudomonas aeruginosa* recovered from cystic fibrosis patients. **Journal of preventive medicine and hygiene**, v. 55, n. 2, p. 50, 2014.

DOUWES, J. et al. Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects. **The Annals of occupational hygiene**, v. 47, n. 3, p. 187-200, 2003.

DRIVER, Cynthia R. et al. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* associated with air travel. **Jama**, v. 272, n. 13, p. 1031-1035, 1994.

DUONG, Theresa N.; WALDMAN, Sarah E. Importance of a Travel History in Evaluation of Respiratory Infections. **Current Emergency and Hospital Medicine Reports**, v. 4, n. 3, p. 141-152, 2016.

DURAN, Nizami et al. Antibiotic resistance genes & susceptibility patterns in staphylococci. **The Indian journal of medical research**, v. 135, n. 3, p. 389, 2012.

EBERHART-PHILLIPS, J. et al. An outbreak of cholera from food served on an international aircraft. **Epidemiology & Infection**, v. 116, n. 1, p. 9-13, 1996.

EDUARD, W. Fungal spores: A critical review of the toxicological and epidemiological evidence as a basis for occupational exposure limit setting. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 39, n. 10, p. 799–864, 28 nov. 2009.

EKHAISE, Fredrick Osaro; EKHOSUEHI, Amen. Mycological Quality of Indoor Air Environment in Undergraduate Female Student Hostels, University of Benin, Benin City, Nigeria. **NISEB Journal**, v. 14, n. 1, 2018.

EMUREN, Kenneth et al. Microbiological assessment of indoor air quality at different sites of a tertiary hospital in South-South Nigeria. **Port Harcourt Medical Journal**, v. 10, n. 2, p. 79, 2016.

FAIA, A. M. Isolamento e identificação de fungos filamentosos e leveduras em alguns pontos de uma rede de distribuição de água. **Dissertação (Mestrado), UNIVERSIDADE DE LISBOA**, p. 52, 2011.

FAN, Huifeng et al. Study of *Penicillium marneffei* Infection in Pediatric Patients Without Human Immunodeficiency Virus Infection in China. **Pediatric Allergy, Immunology, and Pulmonology**, v. 30, n. 1, p. 53-59, 2017.

FANG, Zhiguo et al. Characteristic and concentration distribution of culturable airborne bacteria in residential environments in Beijing, China. **Aerosol Air Qual Res**, v. 14, n. 3, p. 943-53, 2014.

FAROKHI, Azadèh; HEEDERIK, Dick; SMIT, Lidwien AM. Respiratory health effects of exposure to low levels of airborne endotoxin—a systematic review. **Environmental Health**, v. 17, n. 1, p. 14, 2018.

FEDERAL AVIATION ADMINISTRATION (FAA). **Federal Aviation Regulations/Aeronautical Information Manual 2014**. Skyhorse Publishing, 2013.

FELDMAN, Ryan et al. Treatment of *Paecilomyces variotii* pneumonia with posaconazole: case report and literature review. **Mycoses**, v. 59, n. 12, p. 746-750, 2016.

FERNÁNDEZ, Luis Carazo et al. Indoor air contaminants and their impact on respiratory pathologies. **Archivos de Bronconeumología (English Edition)**, v. 49, n. 1, p. 22-27, 2013.

FERNANDO, G. A.; COLLIGNON, Peter J.; BELL, Jan M. A risk for returned travellers: the “post-antibiotic era”. **Med J Aust**, v. 193, n. 1, p. 59, 2010.

FERNSTROM, Aaron; GOLDBLATT, Michael. Aerobiology and its role in the transmission of infectious diseases. **Journal of pathogens**, v. 2013, 2013.

FOX, George E.; WISOTZKEY, Jeffrey D.; JURTSCHUK JR, Peter. How close is close: 16S rRNA sequence identity may not be sufficient to guarantee species identity. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 42, n. 1, p. 166-170, 1992.

FOX, Karen et al. MALDI-TOF mass spectrometry speciation of staphylococci and their discrimination from micrococci isolated from indoor air of schoolrooms. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 12, n. 4, p. 917-923, 2010.

FRANK, Kristi L.; PATEL, Robin. Poly-N-acetylglucosamine is not a major component of the extracellular matrix in biofilms formed by *icaADBC*-positive *Staphylococcus lugdunensis* isolates. **Infection and immunity**, v. 75, n. 10, p. 4728-4742, 2007.

FRANKEL, Mika et al. Seasonal variation of indoor microbial exposures and their relations to temperature, relative humidity and air exchange rates. **Applied and environmental microbiology**, p. AEM. 02069-12, 2012.

FRÍAS-DE LEÓN, María Guadalupe et al. Diversity and characterization of airborne bacteria at two health institutions. **Aerobiologia**, v. 32, n. 2, p. 187-198, 2016.

FU, Xi et al. Furry pet allergens, fungal DNA and microbial volatile organic compounds (MVOCs) in the commercial aircraft cabin environment. *Environmental Science: Processes & Impacts*, v. 15, n. 6, p. 1228-1234, 2013.

FUJIYOSHI, So; TANAKA, Daisuke; MARUYAMA, Fumito. Transmission of Airborne Bacteria across Built Environments and Its Measurement Standards: A Review. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 2336, 2017.

FUKUTOMI, Yuma; TANIGUCHI, Masami. Sensitization to fungal allergens: resolved and unresolved issues. **Allergy International**, v. 64, n. 4, p. 321-331, 2015.

FURUNO, Minako et al. A Japanese trial to monitor methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in imported swine during the quarantine period. **Journal of global antimicrobial resistance**, v. 14, p. 182-184, 2018.

FYKSE, Else Marie et al. Identification of airborne bacteria by 16S rDNA sequencing, MALDI-TOF MS and the MIDI microbial identification system. **Aerobiologia**, v. 31, n. 3, p. 271-281, 2015.

GAD, Gamal Fadi Mahmoud et al. Detection of *icaA*, *icaD* genes and biofilm production by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from urinary tract catheterized patients. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 3, n. 05, p. 342-351, 2009.

GAO, Min et al. The abundance and diversity of antibiotic resistance genes in the atmospheric environment of composting plants. **Environment international**, v. 116, p. 229-238, 2018.

GARG, Anurag et al. Chronic postoperative fungal endophthalmitis caused by *Penicillium citrinum* after cataract surgery. **Journal of Cataract & Refractive Surgery**, v. 42, n. 9, p. 1380-1382, 2016.

- GAYNOR, Kate et al. International foodborne outbreak of *Shigella sonnei* infection in airline passengers. **Epidemiology & Infection**, v. 137, n. 3, p. 335-341, 2009.
- GERKE, Christiane et al. Characterization of the N-Acetylglucosaminyltransferase Activity Involved in the Biosynthesis of the *Staphylococcus epidermidis* Polysaccharide Intercellular Adhesin. **Journal of Biological Chemistry**, v. 273, n. 29, p. 18586-18593, 1998.
- GIACONIA, Carlo; ORIOLI, Aldo; DI GANGI, Alessandra. Air quality and relative humidity in commercial aircrafts: An experimental investigation on short-haul domestic flights. **Building and Environment**, v. 67, p. 69-81, 2013.
- GIOFFRÈ, Angela; MARRAMAIO, Antonella; IANNÒ, Antonino. Airborne microorganisms, endotoxin, and dust concentration in wood factories in Italy. **Annals of occupational hygiene**, v. 56, n. 2, p. 161-169, 2011.
- GIZAW, Zemichael; GEBREHIWOT, Mulat; YENEW, Chalachew. High bacterial load of indoor air in hospital wards: the case of University of Gondar teaching hospital, Northwest Ethiopia. **Multidisciplinary respiratory medicine**, v. 11, n. 1, p. 24, 2016.
- GÖTZ, Friedrich. *Staphylococcus* and biofilms. **Molecular microbiology**, v. 43, n. 6, p. 1367-1378, 2002.
- GOUDARZI, Gholamreza et al. Distribution of genes encoding resistance to macrolides among staphylococci isolated from the nasal cavity of hospital employees in Khorramabad, Iran. **Iranian Red Crescent Medical Journal**, v. 18, n. 2, 2016.
- GOUY, Manolo; GUINDON, Stéphane; GASCUEL, Olivier. SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. **Molecular biology and evolution**, v. 27, n. 2, p. 221-224, 2009.
- GRÜN, Gunnar; TRIMMEL, Michael; HOLM, Andreas. Low humidity in the aircraft cabin environment and its impact on well-being—Results from a laboratory study. **Building and Environment**, v. 47, p. 23-31, 2012.
- GÜN, İ. et al. Biofilms: microbial life on surfaces. **GIDA-Journal of Food**, v. 34, n. 3, p. 165-173, 2009.

GUPTA, Aman et al. Correlation between fungal sensitisation in childhood persistent asthma and disease severity. **Mycoses**, v. 61, n. 3, p. 195-200, 2018.

GUPTA, Jitendra K.; LIN, Chao-Hsin; CHEN, Qingyan. Risk assessment of airborne infectious diseases in aircraft cabins. **Indoor air**, v. 22, n. 5, p. 388-395, 2012.

HAGIWARA, Daisuke et al. Temperature during conidiation affects stress tolerance, pigmentation, and trypacidin accumulation in the conidia of the airborne pathogen *Aspergillus fumigatus*. **PloS one**, v. 12, n. 5, p. e0177050, 2017.

HALABI, Zeina et al. *Pseudomonas stutzeri* prosthetic valve endocarditis: A case report and review of the literature. **Journal of infection and public health**, 2018.

HAMEED, AA Abdel et al. Airborne fungal pollution at waste application facilities. **Aerobiologia**, v. 31, n. 3, p. 283-293, 2015.

HAMID, Abdu Selim et al. Aflatoxin B1-induced hepatocellular carcinoma in developing countries: Geographical distribution, mechanism of action and prevention. **Oncology letters**, v. 5, n. 4, p. 1087-1092, 2013.

HAMILTON, Kerry A. et al. Health risks from exposure to *Legionella* in reclaimed water aerosols: Toilet flushing, spray irrigation, and cooling towers. **Water research**, v. 134, p. 261-279, 2018.

HAMILTON, Kerry A. et al. Risk-based critical levels of *Legionella pneumophila* for indoor water uses. **Environmental science & technology**, 2019.

HAN, Yunping et al. Bacterial population and chemicals in bioaerosols from indoor environment: Sludge dewatering houses in nine municipal wastewater treatment plants. **Science of The Total Environment**, v. 618, p. 469-478, 2018.

HAN, Zhuyang et al. Effect of human movement on airborne disease transmission in an airplane cabin: study using numerical modeling and quantitative risk analysis. **BMC infectious diseases**, v. 14, n. 1, p. 434, 2014.

HÄNNINEN, Otto O. WHO guidelines for indoor air quality: dampness and mold. **In: Fundamentals of mold growth in indoor environments and strategies for healthy living**. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, 2011. p. 277-302.

HARTMAN, BARRY J.; TOMASZ, ALEXANDER. Low-affinity penicillin-binding protein associated with beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. **Journal of bacteriology**, v. 158, n. 2, p. 513-516, 1984.

HATAKKA, Maija. Microbiological quality of hot meals served by airlines. **Journal of food protection**, v. 61, n. 8, p. 1052-1056, 1998.

HATO, Takashi et al. The macrophage mediates the renoprotective effects of endotoxin preconditioning. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 26, n. 6, p. 1347-1362, 2015.

HEILMANN, Christine et al. Molecular basis of intercellular adhesion in the biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. **Molecular microbiology**, v. 20, n. 5, p. 1083-1091, 1996.

HENDRY, Karen M.; COLE, Eugene C. A review of mycotoxins in indoor air. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues**, v. 38, n. 2, p. 183-198, 1993.

HENWOOD, C. J. et al. Susceptibility of Gram-positive cocci from 25 UK hospitals to antimicrobial agents including linezolid. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 46, n. 6, p. 931-940, 2000.

HERTZBERG, Vicki Stover et al. Behaviors, movements, and transmission of droplet-mediated respiratory diseases during transcontinental airline flights. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 14, p. 3623-3627, 2018.

HESELTINE, Elisabeth; ROSEN, Jerome. **WHO guidelines for indoor air quality: dampness and mould**. WHO Regional Office Europe, 2009.

HEUTTE, Natacha et al. Assessment of multi-contaminant exposure in a cancer treatment center: a 2-year monitoring of molds, mycotoxins, endotoxins, and glucans in bioaerosols. **Environmental monitoring and assessment**, v. 189, n. 1, p. 31, 2017.

HINNINGHOFEN, H.; ENCK, P. Passenger well-being in airplanes. **Autonomic Neuroscience**, v. 129, n. 1-2, p. 80-85, 2006.

HIRAMATSU, K. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 40, n. 1, p. 135-136, 1997.

HIROTAKI, Shintaro et al. Rapid and accurate identification of human-associated staphylococci by use of multiplex PCR. **Journal of clinical microbiology**, v. 49, n. 10, p. 3627-3631, 2011.

HOAD, Veronica C. et al. Risk of measles transmission on aeroplanes: Australian experience 2007–2011. **Medical Journal of Australia**, v. 198, n. 6, p. 320-323, 2013.

HØIBY, Niels et al. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. **International journal of antimicrobial agents**, v. 35, n. 4, p. 322-332, 2010.

HOLT, J. G. et al. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9 ed. Baltimore: Willians & Wilkins, 1994. 787 p.

HOSKINS, Richard et al. Multiple cases of measles after exposure during air travel-Australia and New Zealand, January 2011. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 60, n. 25, p. 851, 2011.

HOSPODSKY, D. et al. Characterizing airborne fungal and bacterial concentrations and emission rates in six occupied children's classrooms. **Indoor air**, v. 25, n. 6, p. 641-652, 2015.

HOSPODSKY, Denina et al. Human occupancy as a source of indoor airborne bacteria. **PLoS one**, v. 7, n. 4, p. e34867, 2012.

HU, Jialin et al. Metagenomic profiling of ARGs in airborne particulate matters during a severe smog event. **Science of the Total Environment**, v. 615, p. 1332-1340, 2018.

HUIJBERS, Patricia MC et al. Role of the environment in the transmission of antimicrobial resistance to humans: a review. **Environmental science & technology**, v. 49, n. 20, p. 11993-12004, 2015.

HUNT, Elwood H.; SPACE, David R. The airplane cabin environment: Issues pertaining to flight attendant comfort. **The Boeing Company**, 1994.

HUR, Jaehyung et al. Staphylococcus saprophyticus bacteremia originating from urinary tract infections: a case report and literature review. **Infection & chemotherapy**, v. 48, n. 2, p. 136-139, 2016.

HURRASS, Julia et al. Medical diagnostics for indoor mold exposure. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 220, n. 2, p. 305-328, 2017.

HWANG, Grace M.; DICARLO, Anthony A.; LIN, Gene C. An analysis on the detection of biological contaminants aboard aircraft. **PloS one**, v. 6, n. 1, p. e14520, 2011.

HWANG, S. H.; YOON, C. S. Main environmental factors affecting concentrations of culturable airborne Bacteria in indoor laboratories over a period of one year. **Appl Ecol Environ Res**, v. 15, p. 321-33, 2017.

HWANG, Sung Ho et al. Relationship between culturable airborne bacteria concentrations and ventilation systems in underground subway stations in Seoul, South Korea. **Air Quality, Atmosphere & Health**, v. 9, n. 2, p. 173-178, 2016.

HYVÄRINEN, Anne et al. Fungi and actinobacteria in moisture-damaged building materials—concentrations and diversity. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 49, n. 1, p. 27-37, 2002.

IAMANAKA, B. T.; OLIVEIRA, I. S.; TANIWAKI, M. H. Micotoxinas em alimentos. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, vol. 7, p.138-161, 2010.

IMAD, Sarah; AL-ANI, Sarab Fawzi; AL-JANABI, Abbas Obaid Farhan. Biofilms Formation on Contact Lenses: Clinical and Bacteriological Study. **Diyala Journal of Medicine**, v. 5, n. 2, p. 11-18, 2013.

INCANI, Renzo Nino et al. Staphylococcus warneri meningite em paciente com hiperinfecção com Strongyloides stercoralis e linfoma: primeiro relato de caso. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 52, n. 3, p. 169-170, 2010.

INSTITUT FÜR ARBEITSSCHUTZ DER DEUTSCHEN GESETZLICHEN UNFALLVERSICHERUNG (IFA). Verfahren zur Bestimmung der Bakterienkonzentration in der Luft am Arbeitsplatz (#9430). Berlin, Germany, Erich Schmidt Verlag, 2004.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 82:1–556, 2002.



INTERNATIONAL WORKING GROUP ON THE CLASSIFICATION OF STAPHYLOCOCCAL CASSETTE CHROMOSOME ELEMENTS - IWG-SCC et al. Classification of staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec): guidelines for reporting novel SCCmec elements. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 53, n. 12, p. 4961-4967, 2009.

ITO, Teruyo et al. Structural comparison of three types of staphylococcal cassette chromosome mec integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 45, n. 5, p. 1323-1336, 2001.

JAIN, S. et al. *Escherichia vulneris*: an unusual cause of complicated diarrhoea and sepsis in an infant. A case report and review of literature. **New microbes and new infections**, v. 13, p. 83-86, 2016.

JAN-ROBLERO, Janet et al. *Staphylococcus* biofilms. In: **Microbial Biofilms-Importance and Applications**. IntechOpen, 2016.

JANSEN, Hugo-Jan et al. Biological warfare, bioterrorism, and biocrime. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 6, p. 488-496, 2014.

JARVIS, Bruce B.; MILLER, J. David. Mycotoxins as harmful indoor air contaminants. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 66, n. 4, p. 367-372, 2005.

JEFFERSON, Kimberly K. et al. The teicoplanin-associated locus regulator (TcaR) and the intercellular adhesin locus regulator (IcaR) are transcriptional inhibitors of the *ica* locus in *Staphylococcus aureus*. **Journal of bacteriology**, v. 186, n. 8, p. 2449-2456, 2004.

JEFREMOVA, Marie et al. Rapid diagnostic testing of toxigenic microfungi isolated from foodstuffs. **Acta Veterinaria Brno**, v. 85, n. 2, p. 151-156, 2016.

JENSEN, Lars Bogø; FRIMODT-MØLLER, Niels; AARESTRUP, Frank M. Presence of *erm* gene classes in gram-positive bacteria of animal and human origin in Denmark. **FEMS Microbiology Letters**, v. 170, n. 1, p. 151-158, 1999.

JEONG, Eui-Suk et al. Rapid identification of *Klebsiella pneumoniae*, *Corynebacterium kutscheri*, and *Streptococcus pneumoniae* using triplex polymerase chain reaction in rodents. **Experimental animals**, v. 62, n. 1, p. 35-40, 2013.

JOE, Yun Haeng; YOON, Ki Young; HWANG, Jungho. Methodology for modeling the microbial contamination of air filters. **PloS one**, v. 9, n. 2, p. e88514, 2014.

JOHANSSON, P. et al. Microbiological growth on building materials – critical moisture levels. State of the art. Borås, SP Swedish National Testing and Research Institute, 2005. <http://www.kuleuven.be/bwf/projects/annex41/protected/data/SP%20Oct%202005%20Paper%20A41-T4-S-05-3.pdf>

JOSTETZENBACH, Linda D. Airborne Bacteria in Indoor Environments. **Sampling and Analysis of Indoor Microorganisms**, p. 123-32, 2007.

JÜRGENSEN, Claudia Würtz; MADSEN, Anne Mette. Influence of everyday activities and presence of people in common indoor environments on exposure to airborne fungi. **AIMS Environ. Sci**, v. 3, p. 77-95, 2016.

JUYAL, D. et al. The prevalence of inducible clindamycin resistance among Staphylococci in a tertiary care hospital - A study from the Garhwal Hills of Uttarakhand, India. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 7, n. 1, p. 61-65, 2013.

KAI, Marco et al. Bacterial volatiles and their action potential. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 81, n. 6, p. 1001-1012, 2009.

KAMAT, Madhumati; VAGARALI, M.; KARADESAI, S. Inducible clindamycin resistance in Staphylococci: Should clinicians and microbiologists be concerned?. **Journal of the scientific society**, v. 39, n. 1, p. 7-7, 2012.

KANTARCIOĞLU, A. S.; YÜCEL, A.; DE HOOG, G. S. Case report. Isolation of *Cladosporium cladosporioides* from cerebrospinal fluid. **Mycoses**, v. 45, n. 11-12, p. 500-503, 2002.

KAPOOR, Garima; SAIGAL, Saurabh; ELONGAVAN, Ashok. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. **Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology**, v. 33, n. 3, p. 300, 2017.

KAREEM, Sawsan M. et al. Prevalence of erm Genes among Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* MRSA Iraqi Isolates. **International Journal Current Microbiology Applied Science**, v. 4, n. 5, p. 575-585, 2015.

KAVITHA, E.; SRIKUMAR, R.; MUTHU, G. Inducible Clindamycin Resistance among Clinical Isolates from a Tertiary Care Hospital. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 11, n. 11, p. 5008-5012, 2018.

KEMBEL, Steven W. et al. Architectural design drives the biogeography of indoor bacterial communities. **PloS one**, v. 9, n. 1, p. e87093, 2014.

KENYON, Thomas A. et al. Transmission of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis during a long airplane flight. **New England Journal of Medicine**, v. 334, n. 15, p. 933-938, 1996.

KERSCHNER, Heidrun et al. First report of mecC MRSA in human samples from Austria: molecular characteristics and clinical data. **New microbes and new infections**, v. 3, p. 4-9, 2015.

KHALILI, Roxana et al. Early-life exposure to PM 2.5 and risk of acute asthma clinical encounters among children in Massachusetts: A case-crossover analysis. **Environmental Health**, v. 17, n. 1, p. 20, 2018.

KHANNA, Ashish; KHANNA, MenKA; AGGARWAL, ArunA. Serratia marcescens-a rare opportunistic nosocomial pathogen and measures to limit its spread in hospitalized patients. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 7, n. 2, p. 243, 2013

KHATAB, Nabil E. et al. Prevalence of sensitization to mould and yeast allergens in Egyptian patients with respiratory allergy. **Benha Medical Journal**, v. 34, n. 2, p. 98, 2017.

KIM, Chung-Jong et al. The burden of nosocomial staphylococcus aureus bloodstream infection in South Korea: a prospective hospital-based nationwide study. **BMC infectious diseases**, v. 14, n. 1, p. 590, 2014.

KINROSS, Pete et al. Livestock-associated meticillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) among human MRSA isolates, European Union/European Economic Area countries, 2013. **Eurosurveillance**, v. 22, n. 44, 2017.

KIRKING, Hannah L. et al. Likely transmission of norovirus on an airplane, October 2008. **Clinical infectious diseases**, v. 50, n. 9, p. 1216-1221, 2010.

KLARIĆ, Maja Šegvić. Adverse effects of combined mycotoxins/štetni učinci kombiniranih mikotoksina. **Archives of Industrial Hygiene and Toxicology**, v. 63, n. 4, p. 519-530, 2012.

KLEIN, G; GOULART, L. S. **Prevalência de Staphylococcus aureus multirresistentes em amostras biológicas do Laboratório Osvaldo Cruz, Uruguaiana-RS**. Rev. Bras. Farm. v.89, n.2, p.121-124, 2008.

KNOWLTON, Samantha D. et al. Bioaerosol concentrations generated from toilet flushing in a hospital-based patient care setting. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 7, n. 1, p. 16, 2018.

KOKARE, C. R. et al. Biofilm: Importance and applications. **Indian Journal of Biotechnology**, v. 8, p. 159-168, 2009.

KONG, Eric F.; JOHNSON, Jennifer K.; JABRA-RIZK, Mary Ann. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an enemy amidst us. **PLoS pathogens**, v. 12, n. 10, p. e1005837, 2016.

KOOKEN, Jennifer M.; FOX, Karen F.; FOX, Alvin. Characterization of *Micrococcus* strains isolated from indoor air. **Molecular and cellular probes**, v. 26, n. 1, p. 1-5, 2012.

KORPI, Anne; JÄRNBERG, Jill; PASANEN, Anna-Liisa. Microbial volatile organic compounds. **Critical reviews in toxicology**, v. 39, n. 2, p. 139-193, 2009.

KORVES, T. M. et al. Bacterial communities in commercial aircraft high-efficiency particulate air (HEPA) filters assessed by PhyloChip analysis. **Indoor air**, v. 23, n. 1, p. 50-61, 2013.

KORVES, T. M. et al. Detection of respiratory viruses on air filters from aircraft. **Letters in applied microbiology**, v. 53, n. 3, p. 306-312, 2011.

KRÜGER, Eduardo Leite; DRACH, Patricia Regina Chaves. Impacts of air conditioning use on thermal perception in open spaces in downtown Rio de Janeiro. **Ambiente Construído**, v. 16, n. 2, p. 133-148, 2016.

KUENZLI, Esther et al. High colonization rates of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* in Swiss travellers to South Asia—a prospective observational multicentre cohort study looking at epidemiology, microbiology and risk factors. **BMC infectious diseases**, v. 14, n. 1, p. 528, 2014.

- KULCZYŃSKI, Marcin et al. Air transport and the spread of infectious diseases. **World Scientific News**, v. 76, p. 123-135, 2017.
- KUMAR, P.; GOEL, A. K. Prevalence of methicillin resistant staphylococcal bioaerosols in and around residential houses in an urban area in Central India. **Journal of pathogens**, v. 2016, 2016.
- KÜREKCI, Cemil. Prevalence, antimicrobial resistance, and resistant traits of coagulase-negative staphylococci isolated from cheese samples in Turkey. **Journal of dairy science**, v. 99, n. 4, p. 2675-2679, 2016.
- LA ROSA, Giuseppina et al. Viral infections acquired indoors through airborne, droplet or contact transmission. **Annali dell'Istituto superiore di sanita**, v. 49, p. 124-132, 2013.
- LACEY, R. W. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* and streptococci. *Br Med Bull*, 40: 77–83, 1984.
- LAI, A. C. K. et al. Emission strength of airborne pathogens during toilet flushing. **Indoor air**, v. 28, n. 1, p. 73-79, 2018.
- LANDRY, Kengne Gounmadje et al. Assessment of Indoor Microbial Quality of Library's Premise: Case of Central Library of the University of Yaoundé I. **Open Journal of Preventive Medicine**, v. 8, n. 04, p. 109, 2018.
- LAVERTY, Garry; GORMAN, Sean P.; GILMORE, Brendan F. Biomolecular mechanisms of staphylococcal biofilm formation. **Future microbiology**, v. 8, n. 4, p. 509-524, 2013.
- LAX, Simon et al. Longitudinal analysis of microbial interaction between humans and the indoor environment. **Science**, v. 345, n. 6200, p. 1048-1052, 2014.
- LE, Katherine Y.; PARK, Matthew D.; OTTO, Michael. Immune evasion mechanisms of *Staphylococcus epidermidis* biofilm infection. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 359, 2018.
- LEDER, Karin et al. GeoSentinel surveillance of illness in returned travelers, 2007–2011. **Annals of internal medicine**, v. 158, n. 6, p. 456-468, 2013.
- LEE, Andie S. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, p. 18033, 2018.

- LEE, S. C. et al. Air quality measurements on sixteen commercial aircraft. In: **Air Quality and Comfort in Airliner Cabins**. ASTM International, 2000.
- LEHTONEM, M.; REPONEM, T. Everyday Activities and Variation of Fungal Spore Concentrations in Indoor Air. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 31, p. 25–39, 1993.
- LEI, H.; TANG, J. W.; LI, Y. Transmission routes of influenza A (H1N1) pdm09: analyses of inflight outbreaks. **Epidemiology & Infection**, v. 146, n. 13, p. 1731-1739, 2018.
- LEITE, G. B. **Análise dos Portadores Assintomáticos de *Staphylococcus aureus* no Hospital Universitário de Brasília**. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Brasília, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Patologia Molecular. Brasília, 2008.
- LEITMEYER, Katrin; ADLHOCH, Cornelia. Influenza transmission on aircraft: a systematic literature review. **Epidemiology (Cambridge, Mass.)**, v. 27, n. 5, p. 743, 2016.
- LEMFACK, Marie C. et al. mVOC 2.0: a database of microbial volatiles. **Nucleic acids research**, v. 46, n. D1, p. D1261-D1265, 2017.
- LENART-BOROŃ, Anna et al. Phenotypic and molecular antibiotic resistance determination of airborne coagulase negative *Staphylococcus* spp. strains from healthcare facilities in Southern Poland. **Microbial Drug Resistance**, v. 22, n. 7, p. 515-522, 2016.
- LENART-BOROŃ, Anna et al. Phenotypic and molecular assessment of antimicrobial resistance profile of airborne *Staphylococcus* spp. isolated from flats in Kraków. **Aerobiologia**, v. 33, n. 3, p. 435-444, 2017.
- LEPPÄNEN, Hanna K. et al. Quantitative assessment of microbes from samples of indoor air and dust. **Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology**, v. 28, n. 3, p. 231, 2018.
- LEVETIN, Estelle et al. Taxonomy of allergenic fungi. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice**, v. 4, n. 3, p. 375-385. e1, 2016.
- LI, J.; YAO, M. S. State-of-the-art status on airborne antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes. **Zhonghua yu fang yi xue za zhi [Chinese journal of preventive medicine]**, v. 52, n. 4, p. 440-445, 2018.

- LI, Jing et al. Bioaerosol emissions and detection of airborne antibiotic resistance genes from a wastewater treatment plant. **Atmospheric Environment**, v. 124, p. 404-412, 2016.
- LI, Jing et al. Global survey of antibiotic resistance genes in air. **Environmental science & technology**, v. 52, n. 19, p. 10975-10984, 2018.
- LIEBERMAN, Allan; CURTIS, Luke; CAMPBELL, Andrew. Development of New-Onset Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy Following Exposure to a Water-Damaged Home With High Airborne Mold Levels: A Report of Two Cases and a Review of the Literature. **Journal of Neurology Research**, v. 7, n. 3, p. 59-62, 2017.
- LIEBERS, V.; RAULF-HEIMSOTH, M.; BRÜNING, T. Health effects due to endotoxin inhalation. **Archives of toxicology**, v. 82, n. 4, p. 203-210, 2008.
- LIN, M. T.; DIANESE, J. C. A coconut-agar medium for rapid detection of aflatoxin production by *Aspergillus* spp. **Phytopathology**, v. 66, n. 12, p. 1466-1469, 1976.
- LIS, Danuta O.; PACHA, Jerzy Z.; IDZIK, Danuta. Methicillin resistance of airborne coagulase-negative staphylococci in homes of persons having contact with a hospital environment. *American journal of infection control*, v. 37, n. 3, p. 177-182, 2009.
- LIU, Chunping et al. Oral administration of aflatoxin G1 induces chronic alveolar inflammation associated with lung tumorigenesis. **Toxicology letters**, v. 232, n. 3, p. 547-556, 2015.
- LIU, Li et al. Short-range airborne transmission of expiratory droplets between two people. **Indoor Air**, v. 27, n. 2, p. 452-462, 2017.
- LIU, Zhijian et al. Distribution characteristics, growth, reproduction and transmission modes and control strategies for microbial contamination in HVAC systems: A literature review. **Energy and Buildings**, 2018.
- LIVERMORE, David M. Antibiotic resistance in staphylococci. **International journal of antimicrobial agents**, v. 16, p. 3-10, 2000.
- LONCARIC, Igor et al. Characterization of *mecC* gene-carrying coagulase-negative *Staphylococcus* spp. isolated from various animals. **Veterinary Microbiology**, v. 230, p. 138-144, 2019.

LUDWIG, Shanna et al. Analysis of home dust for *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxin genes using quantitative PCR. **Science of the Total Environment**, v. 581, p. 750-755, 2017.

ŁUKASZUK, C. et al. Indoor air studies of fungi contamination in two kindergartens in Kavala, Greece. **Progress in Health Sciences**, v. 6, n. 1, p. 123-129, 2016.

MACHADO, Isidro et al. Granulomatosis intraabdominal por *Cladosporium cladosporioides*. **Revista Española de Patología**, v. 45, n. 1, p. 40-44, 2012.

MADSEN, Anne Mette et al. Concentrations of *Staphylococcus* species in indoor air as associated with other bacteria, season, relative humidity, air change rate, and *S. aureus*-positive occupants. **Environmental research**, v. 160, p. 282-291, 2018.

MALACHOWA, Natalia; DELEO, Frank R. Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. **Cellular and molecular life sciences**, v. 67, n. 18, p. 3057-3071, 2010.

MANDAL, J.; BRANDL, H. Bioaerosols in Indoor Environment - A Review with Special Reference to Residential and Occupational Locations. **The Open Environmental and Biological Monitoring Journal**, v. 41, n. 1, p. 83–96, 2011.

MANGA, S. S.; DAVID, E.; BAZATA, A. Y. Bacteriological quality of indoor environment: a case study of Kebbi state university of science and technology, Aliero, Nigeria. **Equity Journal of Science and Technology**, v. 5, n. 1, p. 72-77, 2018.

MANGILI, Alexandra; GENDREAU, Mark A. Transmission of infectious diseases during commercial air travel. **The Lancet**, v. 365, n. 9463, p. 989-996, 2005.

MANGILI, Alexandra; VINDENES, Tine; GENDREAU, Mark. Infectious risks of air travel. In: **Infections of Leisure, Fifth Edition**. American Society of Microbiology, 2016. p. 333-344.

MARIN, S. et al. Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. **Food and Chemical Toxicology**, v. 60, p. 218-237, 2013.

MARINHO, Daniel Savignon et al. The study of vancomycin use and its adverse reactions associated to patients of a brazilian university hospital. **BMC research notes**, v. 4, n. 1, p. 236, 2011.



MARUYAMA, Yuta et al. Bacteremia due to *Moraxella osloensis*: a case report and literature review. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 22, n. 1, p. 60-62, 2018.

MASHALY, Ghada El-Saeed; EL-MAHDY, Rasha Hassan. Vancomycin heteroresistance in coagulase negative *Staphylococcus* blood stream infections from patients of intensive care units in Mansoura University Hospitals, Egypt. **Annals of clinical microbiology and antimicrobials**, v. 16, n. 1, p. 63, 2017.

MAY, Larissa et al. Trends in antibiotic resistance in coagulase-negative staphylococci in the United States, 1999 to 2012. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 58, n. 3, p. 1404-1409, 2014.

MCEACHRAN, Andrew D. et al. Antibiotics, bacteria, and antibiotic resistance genes: aerial transport from cattle feed yards via particulate matter. **Environmental health perspectives**, v. 123, n. 4, p. 337-343, 2015.

MCGINNIS, Michael R. Pathogenesis of indoor fungal diseases. **Medical mycology**, v. 42, n. 2, p. 107-117, 2004.

MCGUINNESS, Will A.; MALACHOWA, Natalia; DELEO, Frank R. Focus: infectious diseases: vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. **The Yale journal of biology and medicine**, v. 90, n. 2, p. 269, 2017.

MCKERNAN, Lauralynn Taylor et al. Assessing total fungal concentrations on commercial passenger aircraft using mixed-effects modeling. **Journal of occupational and environmental hygiene**, v. 5, n. 1, p. 48-58, 2007a.

MCKERNAN, LAURALYNN TAYLOR et al. Evaluating fungal populations by genera/species on wide body commercial passenger aircraft and in airport terminals. **The Annals of occupational hygiene**, v. 51, n. 3, p. 281-291, 2007b.

MCKERNAN, Lauralynn Taylor et al. Monitoring microbial populations on wide-body commercial passenger aircraft. **Annals of Occupational Hygiene**, v. 52, n. 2, p. 139-149, 2008.

MCMULLAN, R. et al. Food-poisoning and commercial air travel. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 5, n. 5, p. 276-286, 2007.

MEADOW, James F. et al. Indoor airborne bacterial communities are influenced by ventilation, occupancy, and outdoor air source. **Indoor Air**, v. 24, n. 1, p. 41-48, 2014.

MENDELL, Mark J. et al. Respiratory and allergic health effects of dampness, mold, and dampness-related agents: a review of the epidemiologic evidence. **Environmental health perspectives**, v. 119, n. 6, p. 748-756, 2011.

MENZIES, Dick. Microbial Contamination in Airplane Cabins: Health Effects and Remediation. In: **Air Quality in Airplane Cabins and Similar Enclosed Spaces**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2005. p. 151-167.

MESSI, Patrizia et al. Prevalence of multi-drug-resistant (MDR) bacteria in air samples from indoor and outdoor environments. **Aerobiologia**, v. 31, n. 3, p. 381-387, 2015.

MIRHOSEINI, Seyed Hamed et al. Assessment of airborne particles in indoor environments: Applicability of particle counting for prediction of bioaerosol concentrations. **Aerosol and Air Quality Research**, v. 16, n. 8, p. 1903-1910, 2016b.

MIRHOSEINI, Seyed Hamed et al. Hospital air: A potential route for transmission of infections caused by  $\beta$ -lactam-resistant bacteria. **American journal of infection control**, v. 44, n. 8, p. 898-904, 2016a.

MITTAL, Himanshu et al. Survival of microorganisms on HEPA filters. **Applied Biosafety**, v. 16, n. 3, p. 163-166, 2011.

MOHAN, Balvinder et al. *Aerococcus viridans*: a rare pathogen causing urinary tract infection. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 11, n. 1, p. DR01, 2017.

MØLLER, Eva B. et al. Conditions for mould growth on typical interior surfaces. **Energy Procedia**, v. 132, p. 171-176, 2017.

MONTAGNA, Maria Teresa et al. Evaluation of Legionella air contamination in healthcare facilities by different sampling methods: An Italian multicenter study. **International journal of environmental research and public health**, v. 14, n. 7, p. 670, 2017b.

MONTAGNA, Maria Teresa et al. Legionella Indoor Air Contamination in Healthcare Environments. In: **Indoor Air Quality in Healthcare Facilities**. Springer, Cham, 2017a. p. 63-71.

MORADIGARAVAND, Danesh et al. Recent independent emergence of multiple multidrug-resistant *Serratia marcescens* clones within the United Kingdom and Ireland. **Genome research**, v. 26, n. 8, p. 1101-1109, 2016.

MORAES, R. N. R. et al. First report of *Tritirachium oryzae* infection of human scalp. **Mycopathologia**, v. 169, n. 4, p. 257-259, 2010.

MORAWSKA, L. et al. Airborne particles in indoor environment of homes, schools, offices and aged care facilities: The main routes of exposure. *Environment international*, v. 108, p. 75-83, 2017.

MOUSAVI, Bita et al. *Aspergillus* species in indoor environments and their possible occupational and public health hazards. **Current medical mycology**, v. 2, n. 1, p. 36, 2016.

MUHIRE, Breynev et al. A genome-wide pairwise-identity-based proposal for the classification of viruses in the genus *Mastrevirus* (family *Geminiviridae*). **Archives of virology**, v. 158, n. 6, p. 1411-1424, 2013.

MUTIUS, Von et al. Exposure to endotoxin or other bacterial components might protect against the development of atopy. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 30, n. 9, p. 1230-1234, 2000.

MYHRVOLD, A. N.; OLSEN, E.; LAURIDSEN, O. Indoor environment in schools—pupils health and performance in regard to CO<sub>2</sub> concentrations. **Indoor Air**, v. 96, n. 4, p. 369-371, 1996.

NAGDA, N.L., et al. *Airliner Cabin Environment: Contaminant Measurements, Health Risks, and Mitigation Options* (DOT-P-15-89-5, NTIS/PB91-159384). Washington, D.C.: Department of Transportation, 1989

NAGDA, Niren Laxmichand. Air quality and comfort in airliner cabins. ASTM, 2000.

NARDELL, Edward A. Transmission and institutional infection control of tuberculosis. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 6, n. 2, p. a018192, 2016.

NASCIMENTO, J. P. M et al. Airborne Fungi in Indoor Hospital Environments. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 8, n. 1, p. 2749-2772, 2019.

NAZ, Nusrat et al. Prevalence of Antibiotic-Resistant Airborne Bacteria along Roadsides in Rahim Yar Khan, Pakistan. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 28, n. 3, 2019.

NEATHERLIN, John et al. Influenza A (H1N1) pdm09 during air travel. **Travel medicine and infectious disease**, v. 11, n. 2, p. 110-118, 2013.

NEUPANE, Sanjeev et al. Correlation between biofilm formation and resistance toward different commonly used antibiotics along with extended spectrum beta lactamase production in uropathogenic Escherichia coli isolated from the patients suspected of urinary tract infections visiting Shree Birendra Hospital, Chhauni, Kathmandu, Nepal. **Antimicrobial resistance and infection control**, v. 5, n. 1, p. 5, 2016.

NEVALAINEN, A.; TÄUBEL, M.; HYVÄRINEN, A. Indoor fungi: Companions and contaminants. **Indoor Air**, v. 25, n. 2, p. 125–156, 2015.

NICAS, Mark; NAZAROFF, William W.; HUBBARD, Alan. Toward understanding the risk of secondary airborne infection: emission of respirable pathogens. **Journal of occupational and environmental hygiene**, v. 2, n. 3, p. 143-154, 2005.

NIELSEN, K. F. et al. Mould growth on building materials under low water activities. Influence of humidity and temperature on fungal growth and secondary metabolism. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 54, n. 4, p. 325–336, 2004.

NIELSEN, Kristian Fog. Mycotoxin production by indoor molds. **Fungal genetics and biology**, v. 39, n. 2, p. 103-117, 2003.

NIELSEN, Peter V. Control of airborne infectious diseases in ventilated spaces. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 6, n. Suppl 6, p. S747-S755, 2009.

NIKAIDO, Hiroshi. Multidrug resistance in bacteria. **Annual review of biochemistry**, v. 78, p. 119-146, 2009.

NOGUEIRA, Hadison Santos et al. Antibacterianos: principais classes, mecanismos de ação e resistência. **Unimontes Científica**, v. 18, n. 2, p. 96-108, 2017.

NOURBAKHS, Fahimeh; NAMVAR, Amirmorteza Ebrahimzadeh. Detection of genes involved in biofilm formation in Staphylococcus aureus isolates. **GMS hygiene and infection control**, v. 11, 2016.

NUNES, Z. G. et al. Indoor air microbiological evaluation of offices, hospitals, industries, and shopping centers. **Mem Inst Oswaldo Cruz Rio de Janeiro**, v. 351, n. 1004, p. 351–351, 2005.

OBBARD, Jeffrey Philip; FANG, Lim Su. Airborne concentrations of bacteria in a hospital environment in Singapore. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 144, n. 1-4, p. 333-341, 2003.

OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH ADMINISTRATION (OSHA). Indoor air quality investigation. Technical Manual (OTM), Sect. II, chapter 2, 2008.

OKPALANOZIE, Ogechukwu E. et al. Assessment of indoor air environment of a Nigerian museum library and its biodeteriorated books using culture-dependent and-independent techniques. **International biodeterioration & biodegradation**, v. 132, p. 139-149, 2018.

OPPLIGER, A. et al. Assessment of Bioaerosols and Inhalable Dust Exposure in Swiss Sawmills. **Annals of Occupational Hygiene**, v. 49, n. 5, p. 385–391, 13 jan. 2005.

OSMAN, Kamelia M. et al. Coagulase-Negative Staphylococci Collected from Bovine Milk: Species and Antimicrobial Gene Diversity. **Journal of Food Safety**, v. 36, n. 1, p. 89-99, 2016.

OSMAN, Shariff et al. Microbial burden and diversity of commercial airline cabin air during short and long durations of travel. **The ISME journal**, v. 2, n. 5, p. 482, 2008.

OTA, Masaki; KATO, Seiya. Risk of tuberculosis among air passengers estimated by interferon gamma release assay: survey of contact investigations, Japan, 2012 to 2015. **Eurosurveillance**, v. 22, n. 12, 2017.

OTTO, Michael. Coagulase-negative staphylococci as reservoirs of genes facilitating MRSA infection. **Bioessays**, v. 35, n. 1, p. 4-11, 2013a.

OTTO, Michael. Staphylococcal infections: mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinants of pathogenicity. *Annual review of medicine*, v. 64, p. 175-188, 2013b.

OTTO, Michael. Staphylococcus colonization of the skin and antimicrobial peptides. **Expert review of dermatology**, v. 5, n. 2, p. 183-195, 2010.

PABA, Emilia et al. Indoor exposure to airborne endotoxin: a review of the literature on sampling and analysis methods. **Industrial health**, p. MS1325, 2013.

PAGEL, Erica Coelho et al. Impact of human activities on the concentration of indoor air particles in an antarctic research station. **Ambiente Construído**, v. 18, n. 1, p. 463-477, 2018.

PAHWA, Deepak. HEALTH AND INDOOR AIR QUALITY—A GROWING CONCERN. **Meditech, Bombay**, 1995.

PAJIĆ, Marija J. et al. The prevalence of methicillin resistance and Panton-Valentine leukocidin synthesis genes in *Staphylococcus aureus* isolates of bovine and human origin. **Vet arhiv**, v. 84, p. 205-14, 2014.

PAKPOUR, Sepideh; LI, De-Wei; KLIRONOMOS, John. Relationships of fungal spore concentrations in the air and meteorological factors. **Fungal Ecology**, v. 13, p. 130-134, 2015.

PARSEK, Matthew R.; SINGH, Pradeep K. Bacterial biofilms: an emerging link to disease pathogenesis. **Annual Reviews in Microbiology**, v. 57, n. 1, p. 677-701, 2003.

PASTOR, F. J.; GUARRO, J. Clinical manifestations, treatment and outcome of *Paecilomyces lilacinus* infections. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 12, n. 10, p. 948-960, 2006.

PATEL, Mehul; GANDHI, Vicky. Inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples at tertiary care hospital Ahmedabad. **International Journal of Medical Microbiology and Tropical Diseases**, v. 3, n. 2, p. 74-78, 2017.

PATHAK, Apurva K. AIRBORNE TRANSMISSION OF ANTIMICROBIAL-RESISTANT BACTERIA: A REVIEW. **Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences**, v. 6, n. 1, p. 33-42, 2016.

PATTI, Joseph M. et al. MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. **Annual Reviews in Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 585-617, 1994.

PAULUSSEN, Caroline et al. Ecology of aspergillosis: insights into the pathogenic potency of *Aspergillus fumigatus* and some other *Aspergillus* species. **Microbial biotechnology**, v. 10, n. 2, p. 296-322, 2017.

PAVIA, Andrew T. Germs on a plane: aircraft, international travel, and the global spread of disease. 2007.

PEACOCK, Sharon J.; PATERSON, Gavin K. Mechanisms of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. **Annual review of biochemistry**, v. 84, p. 577-601, 2015.

PECK, Jay et al. Measurement of volatile particulate matter emissions from aircraft engines using a simulated plume aging system. **Journal of Engineering for Gas Turbines and Power**, v. 134, n. 6, p. 061503, 2012.

PEER, M. A. et al. Sepsis due to linezolid resistant *Staphylococcus cohnii* and *Staphylococcus kloosii*: First reports of linezolid resistance in coagulase negative staphylococci from India. **Indian journal of medical microbiology**, v. 29, n. 1, p. 60, 2011.

PEGAS, P. N. et al. Outdoor/indoor air quality in primary schools in Lisbon: a preliminary study. **Química Nova**, v. 33, n. 5, p. 1145–1149, 2010.

PERCIVAL, Steven L. et al. Healthcare-associated infections, medical devices and biofilms: risk, tolerance and control. **Journal of medical microbiology**, v. 64, n. 4, p. 323-334, 2015.

PEREIRA, C. G.; SILVA, JRO; BATISTA, L. R. Isolation and identification of toxigenic and non-toxigenic fungi in samples of medicinal plants from the market. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 2, p. 262-266, 2015.

PEREIRA, Eliezer M. et al. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus haemolyticus*: methicillin-resistant isolates are detected directly in blood cultures by multiplex PCR. **Microbiological research**, v. 165, n. 3, p. 243-249, 2010.

PERKINS, Sarah D. et al. Potentially pathogenic bacteria in shower water and air of a stem cell transplant unit. **Applied and environmental microbiology**, v. 75, n. 16, p. 5363-5372, 2009.

PERMENTIER, Kris et al. Carbon dioxide poisoning: a literature review of an often forgotten cause of intoxication in the emergency department. **International journal of emergency medicine**, v. 10, n. 1, p. 14, 2017.

PERRIER, Jean Christophe Bonnevie et al. SFGP 2007-Microbial growth onto filter media used in air treatment devices. **International Journal of Chemical Reactor Engineering**, v. 6, n. 1, 2008.

PESTKA, James J. et al. Cellular and molecular mechanisms for immune modulation by deoxynivalenol and other trichothecenes: unraveling a paradox. **Toxicology letters**, v. 153, n. 1, p. 61-73, 2004.

PETERSEN, Eskild; CHEN, Lin Hwei; SCHLAGENHAUF-LAWLOR, Patricia (Ed.). **Infectious diseases: a geographic guide**. John Wiley & Sons, 2017.

PETERSEN, Thomas Nordahl et al. Meta-genomic analysis of toilet waste from long distance flights; a step towards global surveillance of infectious diseases and antimicrobial resistance. **Scientific reports**, v. 5, p. 11444, 2015.

PETINAKI, Efthimia; PAPAGIANNITSIS, Konstantinos. Resistance of staphylococci to macrolides-lincosamides-streptogramins B (MLSB): epidemiology and mechanisms of resistance. In: **Staphylococcus aureus**. IntechOpen, 2018.

PIEKARSKA, Katarzyna; TRUSZ, Agnieszka; SZCZEŚNIAK, Sylwia. Bacteria and fungi in two air handling units with air recirculating module. **Energy and Buildings**, v. 178, p. 154-164, 2018.

PIERCE, W. Mark et al. Air quality on commercial aircraft. **ASHRAE journal**, v. 41, n. 9, p. 26, 1999.

PINHEIRO, Luiza et al. Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus haemolyticus: detection of biofilm genes and biofilm formation in blood culture isolates from patients in a Brazilian teaching hospital. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 86, n. 1, p. 11-14, 2016.

PIRES, L. L. S. Epidemiologia molecular de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) e carbapenemase KPC produzidas por enterobactérias isoladas de pacientes de Alagoas. **Dissertação (Mestrado)**, UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS, 2011.

PITKARANTA, M. et al. Analysis of Fungal Flora in Indoor Dust by Ribosomal DNA Sequence Analysis, Quantitative PCR, and Culture. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 1, p. 233–244, 1 jan. 2008.

POLIZZI, Viviana et al. Influence of various growth parameters on fungal growth and volatile metabolite production by indoor molds. **Science of the Total Environment**, v. 414, p. 277-286, 2012.

POMÉS, Anna; CHAPMAN, Martin D.; WÜNSCHMANN, Sabina. Indoor allergens and allergic respiratory disease. **Current allergy and asthma reports**, v. 16, n. 6, p. 43, 2016.

POTTIER, Didier et al. Airborne molds and mycotoxins in Serpula lacrymans–damaged homes. **Atmospheric Pollution Research**, v. 5, n. 2, p. 325-334, 2014.

PRUDEN, Amy. Balancing water sustainability and public health goals in the face of growing concerns about antibiotic resistance. **Environ. Sci. Technol.**, v. 48, n. 1, pp 5–14, 2014.



PRUSSIN, Aaron J.; MARR, Linsey C. Sources of airborne microorganisms in the built environment. **Microbiome**, v. 3, n. 1, p. 78, 2015.

RACHMAN, Abdul Rahim Abdul; SUHAILI, Zarizal; DESA, Mohd Nasir Mohd. The evolution and dissemination of methicillin resistance determinant in *Staphylococcus aureus*. In: **The Rise of Virulence and Antibiotic Resistance in Staphylococcus aureus**. IntechOpen, 2017.

RAHMAN, Sanaa. Detection of Bacterial Population in Air Conditioner and Determine the Ability to Produce Biofilm. **Iraqi Journal of Science**, v. 60, n. 3, p. 432-437, 2019.

RAO, Carol Y.; BURGE, Harriet A.; CHANG, John CS. Review of quantitative standards and guidelines for fungi in indoor air. **Journal of the Air & Waste Management Association**, v. 46, n. 9, p. 899-908, 1996.

REDDY, M. Kiranmai; SRINIVAS, T. Mold Allergens in Indoor Play School Environment. **Energy Procedia**, v. 109, p. 27-33, 2017.

REFFUVEILLE, Fany et al. *Staphylococcus aureus* Biofilms and their Impact on the Medical Field. In: **The Rise of Virulence and Antibiotic Resistance in Staphylococcus aureus**. IntechOpen, 2017.

RENDON, Rhoshela Vi C.; GARCIA, Bea Clarise B.; VITAL, Pierangeli G. Assessment of airborne bacteria in selected occupational environments in Quezon City, Philippines. **Archives of environmental & occupational health**, v. 72, n. 3, p. 178-183, 2017.

RESCH, Marion; NAGEL, Verena; HERTEL, Christian. Antibiotic resistance of coagulase-negative staphylococci associated with food and used in starter cultures. **International journal of food microbiology**, v. 127, n. 1-2, p. 99-104, 2008.

RICHTER, Sandra S. et al. Pneumococcal serotypes before and after introduction of conjugate vaccines, United States, 1999–2011. **Emerging infectious diseases**, v. 19, n. 7, p. 1074, 2013.

RICK, Eva-Maria et al. Allergic Fungal Airway Disease. **Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology**, v. 26, p. 344-354, 2016.

RIDELL, R.W. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. **Mycologia**, v.42, n.2. 265-270. 1950.

- ROBBINS, Coreen A. et al. Health effects of mycotoxins in indoor air: a critical review. **Applied occupational and environmental hygiene**, v. 15, n. 10, p. 773-784, 2000.
- ROBERT, Hervé et al. Impact of mycotoxins on the intestine: are mucus and microbiota new targets?. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 20, n. 5, p. 249-275, 2017.
- ROBERTS, Marilyn C. et al. Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 43, n. 12, p. 2823-2830, 1999.
- ROBLES, Bruno F. et al. Beta-lactamase detection in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus* isolated from bovine mastitis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 325-328, 2014.
- ROLAIN, Jean-Marc. Food and human gut as reservoirs of transferable antibiotic resistance encoding genes. **Frontiers in microbiology**, v. 4, p. 173, 2013.
- ROWAN, N. J. et al. Prediction of toxigenic fungal growth in buildings by using a novel modelling system. **Applied and environmental microbiology**, v. 65, n. 11, p. 4814-21, nov. 1999.
- SAADOUN, Ismail et al. Airborne methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the indoor environment of King Abdullah University Hospital, Jordan. **Indoor and Built Environment**, v. 24, n. 3, p. 315-323, 2015.
- SABER, Huda et al. A review of Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) types in coagulase-negative staphylococci (CoNS) species. **The Malaysian journal of medical sciences: MJMS**, v. 24, n. 5, p. 7, 2017.
- SAGINUR, Raphael et al. Multiple combination bactericidal testing of staphylococcal biofilms from implant-associated infections. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 50, n. 1, p. 55-61, 2006.
- SAHA, B. et al. Restrictive lung disease secondary to *Paecilomyces lilacinus* infection: case report. **Reactions**, v. 1632, p. 198-17, 2016.

SAHLBERG, Bo et al. Airborne molds and bacteria, microbial volatile organic compounds (MVOC), plasticizers and formaldehyde in dwellings in three North European cities in relation to sick building syndrome (SBS). **Science of the total environment**, v. 444, p. 433-440, 2013.

SALONEN, Heidi et al. Airborne viable fungi in school environments in different climatic regions—A review. **Atmospheric Environment**, v. 104, p. 186-194, 2015.

SANYAL, D. et al. Peritonitis due to vancomycin-resistant Staphylococcus epidermidis. **The Lancet**, v. 337, n. 8732, p. 54, 1991.

SAPKOTA, A. R. et al. Antibiotic resistance genes in multidrug-resistant Enterococcus spp. and Streptococcus spp. recovered from the indoor air of a large-scale swine-feeding operation. **Letters in applied microbiology**, v. 43, n. 5, p. 534-540, 2006.

SAVINI, V. et al. Staphylococcus pasteurii bacteraemia in a patient with leukaemia. **Journal of clinical pathology**, v. 62, n. 10, p. 957-958, 2009.

SCHINS, Roel PF et al. Inflammatory effects of coarse and fine particulate matter in relation to chemical and biological constituents. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 195, n. 1, p. 1-11, 2004.

SCHWARTZ, Kevin L.; MORRIS, Shaun K. Travel and the spread of drug-resistant bacteria. **Current infectious disease reports**, v. 20, n. 9, p. 29, 2018.

SCHWARTZ, Michael D.; MACIAS-MORIARITY, Lilia Z.; SCHELLING, Joerg. Professional aircrews' attitudes toward infectious diseases and aviation medical issues. **Aviation, space, and environmental medicine**, v. 83, n. 12, p. 1167-1170, 2012.

SEO, Yeon-Soo et al. Biofilm-forming associated genotypic and phenotypic characteristics of Staphylococcus spp. isolated from animals and air. **Research in Veterinary Science**, v. 85, n. 3, p. 433-438, 2008.

SEPAHVAND, Asghar et al. General hospitals indoor air quality in Lorestan, Iran. **Journal of Air Pollution and Health**, v. 2, n. 1, 2017.

SHAMIN, Ara. Airborne bioaerosols and their impact on human health. **Journal of Environmental Sciences**, v. 67, p. 23-35, 2018.

SHAMS-GHAHFAROKHI, Masoomeh et al. Investigation on distribution of airborne fungi in outdoor environment in Tehran, Iran. **Journal of Environmental Health Science and Engineering**, v. 12, n. 1, p. 54, 2014.

SHARPE, Richard A. et al. Indoor fungal diversity and asthma: a meta-analysis and systematic review of risk factors. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 135, n. 1, p. 110-122, 2015.

SHIOMORI, Teruo; MIYAMOTO, Hiroshi; MAKISHIMA, Kazumi. Significance of airborne transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an otolaryngology–head and neck surgery unit. **Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery**, v. 127, n. 6, p. 644-648, 2001.

SIMMONS, R. B. et al. Fungal colonization of air filters from hospitals. **American Industrial Hygiene Association Journal**, v. 58, n. 12, p. 900-904, 1997.

SKOWRONSKI, Danuta M. et al. Avian influenza A (H7N9) virus infection in 2 travelers returning from China to Canada, January 2015. **Emerging infectious diseases**, v. 22, n. 1, p. 71, 2016.

SMETS, Wenke et al. Airborne bacteria in the atmosphere: Presence, purpose, and potential. **Atmospheric Environment**, v. 139, p. 214-221, 2016.

SMOKE, White. Study on microbial and fungal contamination of air and wooden surfaces inside of a historical Church from Romania. **Journal of Environmental Biology**, 2018.

SOBRAL, M. Madalena C. et al. Toxicological interactions between mycotoxins from ubiquitous fungi: Impact on hepatic and intestinal human epithelial cells. **Chemosphere**, v. 202, p. 538-548, 2018.

SOLLID, J. U. E. et al. *Staphylococcus aureus*: determinants of human carriage. **Infection, genetics and evolution**, v. 21, p. 531-541, 2014.

SOLOMON, Fithamlak Bisetegen et al. Antibiotic resistant airborne bacteria and their multidrug resistance pattern at University teaching referral Hospital in South Ethiopia. **Annals of clinical microbiology and antimicrobials**, v. 16, n. 1, p. 29, 2017.

SOTO, Sara M. Importance of biofilms in urinary tract infections: new therapeutic approaches. **Advances in biology**, v. 2014, 2014.

SOUMYA, K. R. et al. Virulence factors associated with Coagulase Negative Staphylococci isolated from human infections. **3 Biotech**, v. 7, n. 2, p. 140, 2017.

SPACE, David R. et al. The airplane cabin environment: past, present and future research. In: Air quality and comfort in airliner cabins. **ASTM International**, 2000.

SPENGLER, J. D.; WILSON, D. G. Air quality in aircraft. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part E: Journal of Process Mechanical Engineering**, v. 217, n. 4, p. 323-335, 2003.

SREDNIK, Mariela E. et al. Biofilm formation and antimicrobial resistance genes of coagulase-negative staphylococci isolated from cows with mastitis in Argentina. **FEMS microbiology letters**, v. 364, n. 8, p. fnx001, 2017.

SREY, Sokunrotanak; JAHID, Iqbal Kabir; HA, Sang-Do. Biofilm formation in food industries: a food safety concern. **Food control**, v. 31, n. 2, p. 572-585, 2013.

SRINIVASAN, Arjun; DICK, James D.; PERL, Trish M. Vancomycin resistance in staphylococci. **Clinical microbiology reviews**, v. 15, n. 3, p. 430-438, 2002.

STADEN, Rodger; JUDGE, David P.; BONFIELD, James K. Analyzing sequences using the Staden package and EMBOSS. In: **Introduction to bioinformatics**. Humana Press, Totowa, NJ, 2003. p. 393-410.

Stephen M. The Role of the Traveler in Translocation of Disease. **CDC Health Information for International Travel**, 2016.

STETZENBACH, Linda D.; BUTTNER, Mark P.; CRUZ, Patricia. Detection and enumeration of airborne biocontaminants. **Current opinion in biotechnology**, v. 15, n. 3, p. 170-174, 2004.

STEWART, Philip S.; COSTERTON, J. William. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. **The lancet**, v. 358, n. 9276, p. 135-138, 2001.

STIBOROVÁ, Marie; ARLT, Volker M.; SCHMEISER, Heinz H. Balkan endemic nephropathy: an update on its aetiology. **Archives of toxicology**, v. 90, n. 11, p. 2595-2615, 2016.

SUN, Xiang et al. Biofilm formation in erythromycin-resistant *Staphylococcus aureus* and the relationship with antimicrobial susceptibility and molecular characteristics. **Microbial pathogenesis**, v. 124, p. 47-53, 2018.

SUN, Yi et al. Microbial community structure and succession of airborne microbes in closed artificial ecosystem. **Ecological Engineering**, v. 88, p. 165-176, 2016.

TAKAYAMA, Yoshiko et al. Prevalence of blaZ gene and performance of phenotypic tests to detect penicillinase in *Staphylococcus aureus* isolates from Japan. **Annals of laboratory medicine**, v. 38, n. 2, p. 155-159, 2018.

TAMURA, Koichiro et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. **Molecular biology and evolution**, v. 28, n. 10, p. 2731-2739, 2011.

TANG, Julian W. The effect of environmental parameters on the survival of airborne infectious agents. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 6, n. suppl\_6, p. S737-S746, 2009.

TANG, W.; KUEHN, T. H.; SIMCIK, M. F. Effects of Temperature, Humidity and Air Flow on Fungal Growth Rate on Loaded Ventilation Filters. **Journal of Occupational and Environmental Hygiene**, v. 12, n. 8, p. 525–537, 3 ago. 2015.

TÄNGDÉN, Thomas et al. Foreign travel is a major risk factor for colonization with *Escherichia coli* producing CTX-M-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a prospective study with Swedish volunteers. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 54, n. 9, p. 3564-3568, 2010.

TÄUBEL, Martin; HYVÄRINEN, Anne. Occurrence of mycotoxins in indoor environments. In: **Environmental mycology in public health**. Academic Press, 2016. p. 299-323.

TEIXEIRA, Juliana V. et al. Assessment of indoor airborne contamination in a wastewater treatment plant. **Environmental monitoring and assessment**, v. 185, n. 1, p. 59-72, 2013.

TELLIER, Raymond et al. Recognition of aerosol transmission of infectious agents: a commentary. **BMC infectious diseases**, v. 19, n. 1, p. 101, 2019.

THEUNISSEN, H. J. et al. Influence of temperature and relative humidity on the survival of *Chlamydia pneumoniae* in aerosols. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 59, n. 8, p. 2589-2593,

1993.

THORN, Robin Michael Statham; GREENMAN, John. Microbial volatile compounds in health and disease conditions. **Journal of Breath Research**, v. 6, n. 2, p. 024001, 2012.

THORNLEY, Craig N. et al. Recurring norovirus transmission on an airplane. **Clinical infectious diseases**, v. 53, n. 6, p. 515-520, 2011.

THRASHER, Jack Dwayne. Fungi, bacteria, nano-particulates, mycotoxins and human health in water-damaged indoor environments. **J Comm Pub Health Nurs**, v. 2, n. 115, p. 2, 2016.

TULINSKI, Pawel et al. Methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci on pig farms as a reservoir of heterogeneous staphylococcal cassette chromosome mec elements. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 78, n. 2, p. 299-304, 2012.

TURNER, Nicholas A. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. **Nature Reviews Microbiology**, p. 1, 2019.

UDO, E. E.; JACOB, L. E.; MOKADAS, E. M. Conjugative transfer of high-level mupirocin resistance from *Staphylococcus haemolyticus* to other staphylococci. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 41, n. 3, p. 693-695, 1997.

UWINGABIYE, Jean et al. Intensive care unit-acquired *Acinetobacter baumannii* infections in a Moroccan teaching hospital: epidemiology, risk factors and outcome. **Germs**, v. 7, n. 4, p. 193, 2017.

VACHER, Gaëlle; NICULITA-HIRZEL, Hélène; ROGER, Thierry. Immune responses to airborne fungi and non-invasive airway diseases. In: **Seminars in immunopathology**. Springer Berlin Heidelberg, 2015. p. 83-96.

VAN DUIN, David; PATERSON, David L. Multidrug-resistant bacteria in the community: trends and lessons learned. **Infectious Disease Clinics**, v. 30, n. 2, p. 377-390, 2016.

VAN LOENHOUT, J. A. F. et al. The effect of high indoor temperatures on self-perceived health of elderly persons. **Environmental research**, v. 146, p. 27-34, 2016.

VANAM, Hari Pankaj et al. Distal Lateral Subungual Onychomycosis Owing to *Tritirachium oryzae*: A Bystander or Invader?. **Mycopathologia**, v. 183, n. 2, p. 459-463, 2018.

- VIDAL, J. C. et al. Use of polyclonal antibodies to ochratoxin A with a quartz–crystal microbalance for developing real-time mycotoxin piezoelectric immunosensors. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 394, n. 2, p. 575-582, 2009.
- VIEIRA, M. R.; MILHEIRO, A.; PACHECO, F. A. Phaeohyphomycosis due to *Cladosporium cladosporioides*. **Sabouraudia**, v. 39, n. 1, p. 135-137, 2001.
- VOSS, K. A.; GELINEAU-VAN WAES, J. B.; RILEY, R. T. Fumonisin: current research trends in developmental toxicology. **Mycotoxin research**, v. 22, n. 1, p. 61-69, 2006.
- VUONG, Cuong et al. Polysaccharide intercellular adhesin (PIA) protects *Staphylococcus epidermidis* against major components of the human innate immune system. **Cellular microbiology**, v. 6, n. 3, p. 269-275, 2004.
- VUONG, Cuong; OTTO, Michael. *Staphylococcus epidermidis* infections. **Microbes and infection**, v. 4, n. 4, p. 481-489, 2002.
- WAMBACQ, Eva et al. Occurrence, prevention and remediation of toxigenic fungi and mycotoxins in silage: A review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 7, p. 2284-2302, 2016.
- WANG, Jing et al. Antibiotic Resistance of Coagulase-Negative *Staphylococci* and Lactic Acid Bacteria Isolated from Naturally Fermented Chinese Cured Beef. **Journal of food protection**, v. 81, n. 12, p. 2054-2063, 2018.
- WANG, X. W. et al. Diversity and taxonomy of *Chaetomium* and *chaetomium*-like fungi from indoor environments. **Studies in mycology**, v. 84, p. 145-224, 2016.
- WANNER, H. U. et al. Biological particles in indoor environments. European Collaborative Action “Indoor air quality and its impact on man”. Commission of the European Communities, Report no. 12. Luxembourg, 1994.
- WARFEL, Jason M.; BEREN, Joel; MERKEL, Tod J. Airborne transmission of *Bordetella pertussis*. **The Journal of infectious diseases**, v. 206, n. 6, p. 902-906, 2012.
- WATERS, M. A. et al. Measurements of indoor air quality on commercial transport aircraft. **Proceedings Indoor Air**, 2002.



WEI, Jianjian; LI, Yuguo. Airborne spread of infectious agents in the indoor environment. **American Journal of Infection Control**, v. 44, n. 9, p. S102-S108, 2016.

WEI, Jianjian; LI, Yuguo. Airborne spread of infectious agents in the indoor environment. **American journal of infection control**, v. 44, n. 9, p. S102-S108, 2016.

WEIKL, Fabian et al. Fungal and bacterial communities in indoor dust follow different environmental determinants. **PLoS One**, v. 11, n. 4, p. e0154131, 2016.

WEINSTOCK, David M.; BROWN, Arthur E. Rhodococcus equi: an emerging pathogen. **Clinical Infectious Diseases**, v. 34, n. 10, p. 1379-1385, 2002.

WEISS, Howard et al. The Airplane Cabin Microbiome. **Microbial ecology**, v. 77, n. 1, p. 87-95, 2019.

WICK, Jr RL; IRVINE, L. A. The microbiological composition of airliner cabin air. **Aviation, space, and environmental medicine**, v. 66, n. 3, p. 220-224, 1995.

WIELAND, Katja; CHHATWAL, Patrick; VONBERG, Ralf-Peter. Nosocomial outbreaks caused by Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa: Results of a systematic review. **American journal of infection control**, v. 46, n. 6, p. 643-648, 2018.

WILKINS, David; LEUNG, Marcus HY; LEE, Patrick KH. Indoor air bacterial communities in Hong Kong households assemble independently of occupant skin microbiomes. **Environmental microbiology**, v. 18, n. 6, p. 1754-1763, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Tuberculosis and air travel: guidelines for prevention and control**. World Health Organization, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Containing antimicrobial resistance. Geneva, Switzerland: WHO; 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global health risk: mortality and burden of disease attributable to select major risk**. Geneva: WHO, 2009  
[www.who.int/healthinfo/global\\_burden\\_disease/globalhealthrisk\\_report\\_front.pdf](http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/globalhealthrisk_report_front.pdf).

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Indoor air quality: Biological contaminants. Copenhagen, Denmark: World Health Organization, 1988.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Legionella and the Prevention of Legionellosis; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **The World Health Report 2002: reducing risks, promoting healthy life**. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2002.

WOS-OXLEY, Melissa L. et al. A poke into the diversity and associations within human anterior nares microbial communities. **The ISME journal**, v. 4, n. 7, p. 839, 2010.

WOUDENBERG, J. H. C. et al. Scopulariopsis and scopulariopsis-like species from indoor environments. **Studies in mycology**, v. 88, p. 1-35, 2017.

WU, Weidong; JIN, Yuefei; CARLSTEN, Chris. Inflammatory health effects of indoor and outdoor particulate matter. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 141, n. 3, p. 833-844, 2018.

XIE, Jiawen et al. Bacteria and Antibiotic Resistance Genes (ARGs) in PM 2.5 from China: Implications for Human Exposure. **Environmental science & technology**, v. 53, n. 2, p. 963-972, 2018.

YANG, W. et al. Detection and analysis of fine particulate matter and microbial aerosol in chicken houses in Shandong Province, China. **Poultry science**, v. 97, n. 3, p. 995-1005, 2017.

YANG, Ying et al. Characterization of airborne antibiotic resistance genes from typical bioaerosol emission sources in the urban environment using metagenomic approach. **Chemosphere**, v. 213, p. 463-471, 2018.

YONEYAMA, Hiroshi; KATSUMATA, Ryoichi. Antibiotic resistance in bacteria and its future for novel antibiotic development. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 70, n. 5, p. 1060-1075, 2006.

YOUNG, Nicholas et al. International flight-related transmission of pandemic influenza A (H1N1) pdm09: an historical cohort study of the first identified cases in the United Kingdom. **Influenza and other respiratory viruses**, v. 8, n. 1, p. 66-73, 2014.

YU, Daojun et al. Staphylococcus gallinarum bacteremia in a patient with chronic hepatitis B virus infection. **Annals of Clinical & Laboratory Science**, v. 38, n. 4, p. 401-404, 2008.

YU, Zhenhong et al. Identification of lubrication oil in the particulate matter emissions from engine exhaust of in-service commercial aircraft. **Environmental science & technology**, v. 46, n. 17, p. 9630-9637, 2012.

ZAIN, Mohamed E. Impact of mycotoxins on humans and animals. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 15, n. 2, p. 129-144, 2011.

ZAMAN, Sojib Bin et al. A review on antibiotic resistance: alarm bells are ringing. **Cureus**, v. 9, n. 6, 2017.

ZHAO, Bin et al. Microorganisms@ materials surfaces in aircraft: Potential risks for public health?—A systematic review. **Travel medicine and infectious disease**, 2018.

ZHOU, Feng; WANG, Yuyan. Characteristics of antibiotic resistance of airborne Staphylococcus isolated from metro stations. **International journal of environmental research and public health**, v. 10, n. 6, p. 2412-2426, 2013.

ZHOU, Yvonne P.; WILDER-SMITH, Annelies; HSU, Li-Yang. The role of international travel in the spread of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. **Journal of travel medicine**, v. 21, n. 4, p. 272-281, 2014.

ZINN, C. E. Annual Report on Staphylococcus aureus 1999. **Denmark: Staphylococcus Laboratory, Statens Serum Institut**, 2000.

ŻUKIEWICZ-SOBCZAK, Wioletta A. The role of fungi in allergic diseases. **Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii I Alergologii**, v. 30, n. 1, p. 42, 2013.