

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - LICENCIATURA

Rebeca Ingrid dos Santos Barboza

**MICROBIOTA FÚNGICA EM SISTEMA DE AR CONDICIONADO DE
AUTOMÓVEIS**

Maceió - AL

2023

Rebeca Ingrid dos Santos Barboza

**MICROBIOTA FÚNGICA EM SISTEMA DE AR CONDICIONADO DE
AUTOMÓVEIS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do título de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Eurípedes Alves da Silva Filho

Maceió - AL

2023

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

B239m Barboza, Rebeca Ingrid dos Santos.
Microbiota fúngica em sistema de ar condicionado de automóveis /
Rebeca Ingrid dos Santos Barboza. – Maceió, 2023.
43 f. : il.

Orientador: Eurípedes Alves da Silva Filho.
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas:
licenciatura) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências
Biológicas e da Saúde. Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 36-43.

1. Metabólitos fúngicos. 2. Síndrome do edifício doente. 3. Poluição do ar em
ambientes fechados. 4. Alergias. I. Título.

CDU: 582.28

DEDICATÓRIA

Dedico

A Deus pela sua infinita misericórdia, aos meus pais Patricia Maria e Melquizedeque, às minhas tias Maria Cicera, Elenilda, a minha avó Maria José (in memorian) e a todos que estiveram ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus por estar sempre ao meu lado em todos os momentos.

Agradeço à Universidade Federal de Alagoas por me proporcionar essa vivência na academia.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Euripedes Alves pela oportunidade e suporte ao elaborar o TCC, e a todos que fazem parte do Laboratório de Ambientes Climatizados, em especial para Jean Phellipe, Daniela Evellin, Mirna Samille e Sandra.

Aos meus amigos da graduação Shirley, Renata, Henrique e Wesley por todos os momentos que passamos juntos e por tornar esse período mais divertido.

Aos meus pais Melquizedeque e Patricia por sempre estar ao meu lado me apoiando em todos os momentos, esse apoio foi fundamental para o término da minha graduação, obrigada por acreditarem sempre em mim.

Agradeço também à minha família, em especial às minhas tias Elenilda e Maria Cicera por sempre estar ao meu lado se preocupando com o meu desenvolvimento e me apoiando em todo momento, dando suporte sempre que necessário.

Agradeço ao meu namorado Wellson por estar ao meu lado me apoiando e sendo paciente.

Agradeço ao Instituto de Ciências Biológicas e Saúde e aos docentes nele presente.

EPÍGRAFE

“Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem sucedidos”.

Provérbios 16:3

RESUMO

Fungos são seres eucariontes, cosmopolitas podendo ser encontrados em ambientes externo e interno, podem ser propagados de diversas formas e uma delas é pelo ar denominados fungos anemófilos. Devido ao seu potencial patogênico, toxigênico e alergênico eles podem estar associados a doenças alérgicas como rinites, sinusites e câncer devido a presença de micotoxinas. Fatores que influenciam a dispersão dos bioaerossóis fúngicos são ar condicionado nos diversos ambientes, e um destes são veículos de passeio e utilitários que são utilizados diariamente, porém a falta de manutenção destes equipamentos pode causar problemas à saúde de seus ocupantes. O objetivo deste estudo foi avaliar a diversidade biológica dos fungos possivelmente patogênicos, toxigênicos e alergênicos em filtros de ar condicionado de automóveis. Para isso foram recolhidos 30 filtros de automóveis em concessionárias durante a manutenção do veículo de Maceió. Os filtros recolhidos dos automóveis foram medidos, cortados e colocados em tubo Falcon com água destilada, autoclavados, levados à centrífuga á 7000 rotação por minuto (rpm), plaqueada em meio ágar sabouraud dextrose e em seguida colocadas na estufa a 28°C por aproximadamente 7 dias. Após crescimento dos fungos, realizou-se a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC), seguido pelo isolamento das colônias de interesse, utilizando a técnica de cultura central. Para identificação taxonômica das espécies foram utilizadas chaves com base nas características morfológicas. Foram identificadas 11 espécies de fungos, podendo ser potencialmente patogênicas e toxigênicas, porém testes feitos com ágar coco deram negativos (100%) para a presença de micotoxinas Após as análises dos filtros os gêneros de fungos anemófilos mais frequentes foram *Paecilomyces* spp. (80%), *Acremonium* spp. (56,7%) e *Cladosporium* spp. (40%). Pelos resultados apresentados, foi possível concluir que é importante que sejam realizados manutenção periódica nos filtros dos ar condicionado pois serve de substrato para o crescimento fúngicos potencialmente patogênicos e toxigênicos.

Palavras-chave: Metabólitos Fúngicos, Síndrome do Edifício Doente, Qualidade do Ar Interior, Alergias.

ABSTRACT

Fungi are eukaryotic beings, cosmopolitan and can be found in external and internal environments, they can be propagated in several ways and one of them is called airborne fungi. Due to their pathogenic, toxigenic and allergenic potential, they may be associated with allergic diseases such as rhinitis, sinusitis and cancer due to the presence of mycotoxins. Factors that affect the dispersion of fungal bioaerosols are air conditioning in different environments, and one of these are passenger and utility vehicles that are used daily, but the lack of maintenance of this equipment can cause health problems for its occupants. The aim of this study was to evaluate the biological diversity of possibly pathogenic, toxigenic and allergenic fungi in car air conditioning filters. For this, 30 vehicle filters were collected from vehicles during the maintenance of the vehicle in Maceió. The filters collected from the engines were measured, cut and placed in a Falcon tube with distilled water, autoclaved, taken to a centrifuge at 7000 rotations per minute (rpm), plated in a medium of Sabouraud dextrose agar and then placed in an oven at 28°C for approximately 7 days. After the fungi had grown, the colony forming units (CFU) were counted, followed by the isolation of the colonies of interest, using the central culture technique. For taxonomic identification of species, keys based on morphological characteristics were used. Eleven species of fungi were identified, which could be potentially pathogenic and toxigenic, but the tests performed with coconut agar were negative (100%) for the presence of mycotoxins. (80%), *Aspergillus* spp. (56.7%) and *Cladosporium* spp. (40%). Based on the results presented, it was possible to conclude that it is important to carry out periodic maintenance on air conditioning filters, as they serve as substrates for the growth of potentially pathogenic and toxigenic fungi.

Keywords: Fungal Metabolites, Sick Building Syndrome, Indoor Air Quality, Allergies.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1 - Fontes de bioaerossóis em ambientes internos.....	19
Figura 2 - Filtros de cabine de automóveis.....	24
Figura 3 - Cultura central de <i>Paecilomyces lilacinus</i> em ágar Sabouraud dextrose.....	26
Figura 4 - Desenho esquemático da técnica de microcultivo.....	27
Figura 5 - Esquema das etapas da metodologia para identificação dos fungos filamentosos.....	28
Figura 6 - Fungos inoculados em ágar coco teste luz UV para analisar a presença de micotoxinas	30

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Espécies produtoras de micotoxinas.....	21
Quadro 2 - Gêneros fúngicos frequentemente associados a reações alérgicas.....	22
Quadro 3 - Meios de cultura.....	25
Quadro 4 - Soluções.....	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Gêneros e espécies identificadas e sua frequência em filtros de carro de passeio**29**

Tabela 2 - Detecção de fungos toxigênicos, patogênicos, alergênicos.....**31**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AVAC	Aquecimento, Ventilação e Ar Condicionado
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
COVs	Compostos Orgânicos Voláteis
OMS	Organização Mundial da Saúde
SED	Síndrome do Edifício Doente
QAI	Qualidade do Ar Interior

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo geral.....	16
2.2 Objetivos específicos.....	16
3 REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1 Caracterização geral dos fungos.....	17
3.2 Ambientes artificialmente climatizados e bioaerossóis fúngicos.....	18
3.3 Metabólitos fúngicos: micotoxinas, alérgenos e compostos orgânicos voláteis	20
3.4 Sistema de climatização automotivo	23
4 METODOLOGIA.....	24
4.1 Obtenção dos filtros e processamento das amostras	24
4.2 Preparo de soluções e meios de cultura	25
4.3 Inoculação das amostras.....	25
4.4 Determinação de unidades formadoras de colônias e purificação das amostras.....	26
4.5 Microcultivo e identificação das espécies.....	27
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5 CONCLUSÃO.....	34
REFERÊNCIAS.....	36

1 INTRODUÇÃO

Ambientes artificialmente climatizados fazem parte do dia a dia da nossa sociedade, sendo um local no qual a maioria das pessoas passam grande parte do seu tempo, como escritórios, bancos entre outros (SCHIRMER, *et al.*, 2011). Estes ambientes possuem algumas características e uma delas é a pouca circulação do ar que influencia no desenvolvimento do microecossistema interno, devido a presença de diferentes poluentes, podendo ser químicos, físicos e biológicos. (SANTANA; FORTUNA, 2012).

O ar condicionado é um equipamento que se tornou indispensável, inclusive em automóvel, principalmente no Brasil devido ao clima, porém é necessário cuidados específicos com esse equipamento para que não sirva de substrato para o crescimento de microrganismos (SUTIL *et al.*, 2019).

Os bioaerossóis são contaminantes do ar de ambientes internos de origem biológica podendo ser bactérias, fungos, vírus e pólenes que dependem de diversos fatores para permanecer no ambiente como umidade e temperatura (PANTOJA *et al.*, 2007). São comumente associados à síndrome do edifício doente (SED) e consequentemente a diversas reações alérgicas devido a alta taxa de concentração no ambiente (GONÇALVES *et al.*, 2019).

Os bioaerossóis fúngicos permanecem no ar através de suas estruturas como conídios ou esporos e também produzem metabólitos secundários como micotoxinas, alérgenos e compostos orgânicos voláteis (TAKAHASHI, LUCAS, 2008; GONÇALVES; PELEGRINI, 2017). Dentre os metabólitos secundários, as micotoxinas são estudadas com frequência devido a seus efeitos tóxicos relacionados diretamente ao desenvolvimento de câncer. Os alérgenos e compostos orgânicos voláteis estão associados ao aumento das reações alérgicas no quadro de pessoas asmáticas, rinite e sinusite (OLIVEIRA; PALUCH, 2015).

Há uma diversidade de gêneros e espécies fúngicas que estão associadas a micoses e doenças respiratórias como descritos em estudos realizados em hospitais com pessoas imunocomprometida, que podem desenvolver doenças mais severas devido aos esporos fúngicos que ficam dispersos no ar e uma dessas doenças é a aspergilose (NEUFELD, 2020).

Sendo assim, os bioaerossóis fúngicos são considerados indicadores que atestam a qualidade do ar interior, o que torna essencial estudos de identificação da

diversidade e frequência destes, além dos ambientes internos como residências e edificações com sistema de refrigeração além de automóveis utilizados por uma grande quantidade de pessoas, que podem estar expostas a bioaerossóis fúngicos no interior de seus veículos cuja falta de manutenção podem fazer com que os filtros sejam substrato para o crescimento destes microrganismos (MISKALO; SANTOS, 2018).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Identificar e analisar a diversidade de fungos filamentosos presente no sistema de ar condicionado de automóveis.

2.2 Objetivos específicos

- Isolar os fungos filamentosos dos filtros nos automóveis;
- Identificar os fungos isolados através da chave de identificação;
- Estimar a diversidade de fungos encontrados nos filtros de automóveis;
- Identificar espécies possivelmente patogênicas e toxigênicas para humanos.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Caracterização geral dos fungos

Os fungos são organismos eucariontes, heterotróficos em sua maioria saprófitos, obtendo nutrientes através de matéria orgânica em decomposição e parasitas. Sua parede celular é constituída por quitina e uma variedade de glucanos. (TAKAHASHI *et al.*, 2017). São considerados ubíquos por estarem amplamente distribuídos pela natureza podendo ser encontrados na água, no solo, no ar, nas plantas, entre outros ambientes. Estes organismos fazem parte do reino Fungi e são classificados através das características dos seus esporos ou conídios. (BERNARDI *et al.*, 2007; BENASSI; ALMEIDA, 2020).

Estes organismos apresentam duas unidades morfológicas básicas, as leveduras que são organismos unicelulares e os filamentosos multicelulares. Os fungos filamentosos apresentam filamentos densamente unidos conhecidos como hifas, e o seu conjunto ramificado pode ser chamado de micélio. (PELCZAR, *et al.*, 1997; LEITE *et al.*, 2005; TAKAHASHI *et al.*, 2017).

Os fungos filamentosos podem ser classificados através da sua reprodução sexuada, porém quando não é detectada a identificação é realizada através dos órgãos de reprodução assexuadas que ocorrem através da fragmentação das hifas ou esporos assexuais que são produzidos através da mitose pelas hifas e hifas especializadas (CRUZ *et al.*, 2007).

São classificados pela taxonomia clássica através da análise de suas características macroscópicas e microscópicas (TAKAHASHI *et al.*, 2017), sendo as características macroscópicas coloração, textura do micélio, tempo de crescimento e liberação de pigmentação no meio de cultura. As microscópicas são tamanho das hifas presença (septos) ou ausência (cenocíticas) de uma parede transversal e tamanho e forma dos conídios ou esporos (GUARRO *et al.*, 1999; LEITE *et al.*, 2005; TAKAHASHI *et al.*, 2017).

A dispersão dos fungos ocorre de diversas formas na natureza, podendo ser através do ar atmosférico, homem, animais, insetos, água entre outros. Os fungos que possuem uma dispersão aérea que tem o ar atmosférico como meio de propagação mais comum, são conhecidos como fungos anemófilos (PEREIRA, *et al.*, 2014). Os fungos anemófilos são dispersos com facilidade podendo facilmente contaminar ambientes internos como prédios, residências, escritórios, escolas e

hospitais. Alguns fatores como a umidade relativa do ar, temperatura e pH e materiais presentes que servem como substrato para esses microrganismos podem influenciar para permanência do mesmo no ambiente (LIMA, *et al.*, 2019).

Os fungos conseguem obter um bom crescimento no ambiente com temperaturas de 20°C a 30°C, umidade em 65%, comumente encontrados em ambientes fechados como hospitais, escolas, e escritórios (CORUJEIRA, 1973; LOBATO *et al.*, 2009). Os gêneros de fungos anemófilos que são frequentemente relatados na literatura são *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium* (LIMA *et al.*, 2019).

3.2 Ambientes artificialmente climatizados e bioaerossóis fúngicos

Os ambientes artificialmente climatizados trouxeram conforto térmico para as pessoas, no entanto são propícios para a proliferação de microorganismos que podem oferecer riscos à saúde de seus ocupantes (SOUSA; FORTUNA, 2011). A higienização incorreta dos filtros e dutos de ar condicionado dos ambientes artificialmente climatizados influencia no crescimento de fungos, bactérias e vírus (SANTANA; FORTUNA, 2012).

A preocupação com a qualidade do ar de interiores (QAI) é crescente em todo o mundo, pois é um fator de risco para a saúde pública e está associada ao crescimento de doenças respiratórias e desencadeamento de reações alérgicas entre outros sintomas (CALDEIRA *et al.*, 2012).

Os sintomas que são comumente relatados, podem ser: dores de cabeça, espirros, rinite, crises alérgicas entre outros e pode estar associado com a Síndrome do Edifício Doente (SED) (TEIXEIRA *et al.*, 2005; SCHIRMER *et al.*, 2011; PANTOJA *et al.*, 2016; SOARES; FERNANDES, 2020).

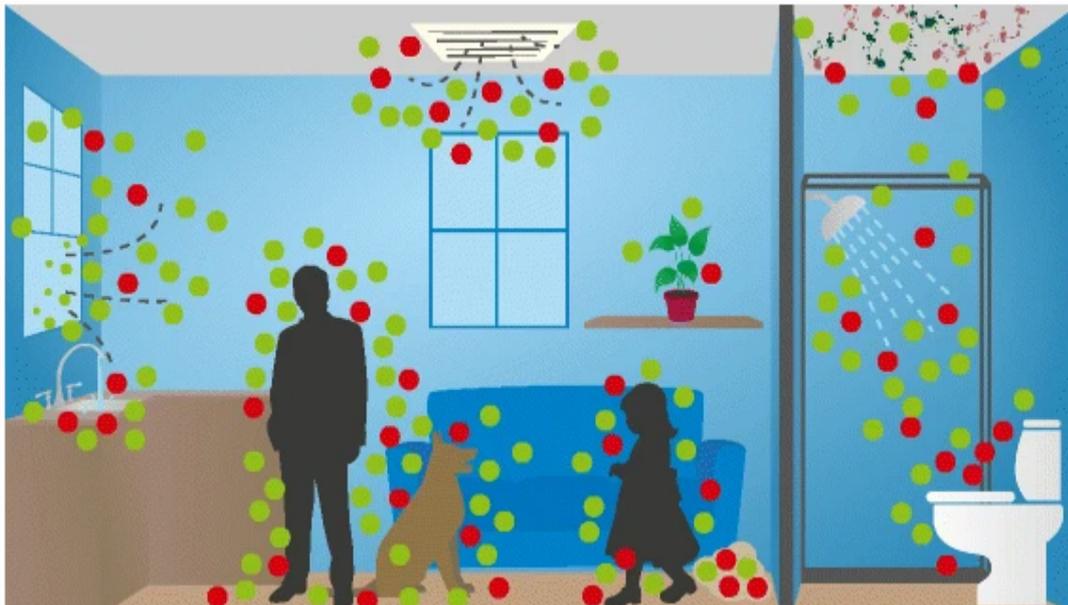
A SED é definida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como um prédio específico onde os ocupantes apresentam sintomas sem origem determinada, não conseguindo identificar a causa, com sintomas de algo desconhecido sem diagnóstico definido (KAVGIC *et al.*, 2008; SCHIRMER *et al.*, 2011; SOARES; FERNANDES, 2020).

Para um determinado prédio ser considerado como SED, seus ocupantes devem estar com sintomas característicos, que perdurem mais de duas semanas, e desaparecem quando as pessoas não estão no edifício (GIODA; NETO, 2003; SCHIRMER *et al.*, 2011; MARTINS; BERTOTTI, 2019).

Os principais fatores que influenciam a SED são aerodispersóides como poeira, bioaerossóis como fungos, bactérias e vírus, e compostos orgânicos voláteis (COVs) que são gerados pelo metabolismo humano e por microrganismos, e a má higienização dos climatizadores de ar (SCHIRMER *et al.*, 2011).

Os bioaerossóis fúngicos são encontrados no ar atmosférico e nos ambientes internos climatizados artificialmente pois são transportados por pessoas e animais que estejam neste ambiente, como mostrado na figura 1 (PRUSSIN; MARR, 2015). Nestes ambientes há maior proliferação destes microrganismos devido a falta de renovação no ar associado à limpeza inadequada dos equipamentos e fluxo constante de pessoas e animais propiciando o crescimento de diversos microrganismos como fungos, vírus e bactérias (PANTOJA *et al.*, 2012; OLIVEIRA; BORGES, 2015).

Figura 1. Fontes de bioaerossóis em ambientes internos



Fonte: Prussin; Marr (2015)

Os fungos anemófilos são frequentemente encontrados em ambientes internos que possuem climatização artificial com características específicas que favorecem o seu crescimento servindo como substrato para a nutrição deste organismo. (CALUMBY *et al.*, 2019).

Algumas das espécies de fungos anemófilos que são encontrados em ambientes climatizados são aeroalérgenos e estão associados a rinites alérgicas e

asma (MARTINS *et al.*, 2005; FLORES; ONOFRE, 2010). Os fungos anemófilos que podem oferecer risco à saúde das pessoas e que são comumente encontrados em ambientes artificiais são do gênero *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. *Cladosporium* sp. (VENCESLAU *et al.*, 2012).

3.3 Metabólitos fúngicos: micotoxinas, alérgenos e compostos orgânicos voláteis

Os metabólitos fúngicos fazem parte do metabolismo secundário dos fungos, podendo ter diversas utilizações nas indústrias e serem estudados devido ao seu potencial carcinogênico (TAKAHASHI; LUCAS, 2008; GONÇALVES; PELEGRINI, 2017).

As micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por algumas espécies de fungos filamentosos e os principais gêneros produtores de micotoxinas são *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (FREIRE *et al.*, 2007; GONÇALVES; PELEGRINI, 2017; PRESTES *et al.*, 2019). Estes compostos são produzidos no final da fase exponencial dos fungos filamentosos e a ocorrência dos fungos toxigênicos depende de vários fatores como substrato, temperatura, pH e umidade (MAZIERO; BERSOT, 2010; ARRUDA; BERRETA, 2019). São conhecidas pelos seus efeitos deletérios em humanos e animais pois possui características cumulativas, estando relacionadas a uma variedade de doenças capazes de induzir efeitos carcinogênicos, mutagênicos e hepatotóxicos (FREIRE *et al.*, 2007; PEREIRA; SANTOS, 2011; SOARES *et al.*, 2013).

A aflatoxina é uma das micotoxinas mais conhecidas, podendo estar presente em grãos de amendoim e podendo ser produzida por *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, conferindo a estes um potencial toxigênico (PEREIRA; SANTOS, 2011). As micotoxinas podem causar efeitos tóxicos à saúde podendo causar câncer e problemas hepáticos.(IAMANAKA, OLIVEIRA; TANIWAKI, 2010). São diversas espécies de fungos que são produtores de micotoxinas (Quadro 1).

Quadro 1. Espécies produtoras de micotoxinas

Micotoxinas	Espécies
Aflatoxina	<i>Aspergillus flavus</i>
Ocratoxina	<i>Penicillium</i> spp. e <i>Aspergillus</i> spp.
Zearalenona	<i>Fusarium graminearum</i> e <i>Fusarium culmorum</i>
Fumonisina	<i>Fusarium verticillioides</i> e <i>Fusarium proliferatum</i>
Tricotecenos	<i>Fusarium</i> spp.
Patulina	<i>Aspergillus</i> spp.; <i>Penicillium</i> spp. e <i>Byssochlamys</i> spp.

Fonte: Adaptado de Gonçalves;Pelegri (2017).

A resposta do organismo e reações pela contaminação por micotoxinas dependerá da quantidade de toxina fúngica que esse indivíduo foi exposto atrelado a sua saúde. A maior parte dos relatos de contaminação de indivíduos a micotoxinas fúngicas é a ingestão de alimentos, porém estudos apontam a contaminação através da inalação dessas micotoxinas que podem estar presente no ambiente mesmo sem a presença dos fungos (SANTOS *et al.*, 2016).

Os compostos orgânicos voláteis (COVs) fazem parte do metabolismo secundário dos fungos e são compostos de baixo peso molecular que podem ser vaporizados. Possuem baixa solubilidade em água e um odor característico, popularmente conhecido como cheiro de mofo. (MORAES *et al.*, 2020). Uma espécie de fungos pode liberar diversos tipos de COVs, dependendo do substrato e dos fatores ambientais disponíveis. Estão relacionados a sintomas de SED como fadiga, espirros, dores de cabeça entre outros (SCHIRMER *et al.*, 2011).

Os alérgenos fúngicos são em sua maioria proteínas e polissacarídeos que geram uma resposta imunológica que desencadeia a formação de IgE específica induzindo reações alérgicas. (CROCE *et al.*, 2003; BEZERRA *et al.*, 2011; BARROS *et al.*, 2014).

Os fungos alergênicos estão presentes nos ambientes sendo responsáveis por diversas manifestações respiratórias alérgicas podendo causar rinites, sinusites

fúngicas alérgicas, asma e alveolite. (OLIVEIRA; BORGES, 2015). Os indivíduos que possuem sensibilização aos fungos podem possuir um agravamento na asma e aparecimento de doenças alérgicas.(CROCE *et al.*, 2003).

Existe uma grande diversidade de alérgenos fúngicos que são encontrados na parede celular dos fungos que estão dispersos no ar através de seus conídios, hifas, esporos etc (LOPEZ-RIBOT *et al.*, 1991). Há diversos gêneros fúngicos que possuem espécies com potencial alergênico, assim como mostrado no quadro 2.

Quadro 2. Gêneros frequentemente associados a reações alérgicas

Gêneros		
<i>Alternaria</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Fonsecaea</i>
<i>Aspergillus</i>	<i>Curvularia</i>	<i>Helminthosporium</i>
<i>Aureobasidium</i>	<i>Drechslera</i>	<i>Mucor</i>
<i>Bipolaris</i>	<i>Epicoccum</i>	<i>Paecilomyces</i>
<i>Botrytis</i>	<i>Exserohilum</i>	<i>Penicillium</i>
<i>Candida</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Scedosporium</i>

Fonte: adaptado OLIVEIRA; BORGES, (2015).

Os fungos que são comumente encontrados como alérgenos em ambientes intradomiciliares são *Aspergillus* e *Penicillium*; gêneros como *Cladosporium*, *Fusarium*, *Bipolaris* etc são encontrados em ambientes internos e externos (MEZZARI *et al.*, 2003; SILVA, 2004).

Estes gêneros fúngicos que são comumente citados na literatura estão associados a diversos tipos de reações alérgicas de indivíduos que estão presentes em grande parte do seu dia em ambientes fechados podendo causar uma resposta ao sistema imune devido a inalação dos esporos ou conídios fúngicos (MENEZES *et al.*, 2004).

3.4 Sistema de climatização automotivo

No Brasil há um regulamento conhecido como Resolução RE nº 9, de 16 de janeiro de 2003, elaborado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) com orientações para os “Padrões Referenciais da Qualidade do Ar de Interiores em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo”, que estabelece fundamentos a respeito da QAI em ambientes climatizados.

Um sistema de climatização deve controlar a umidade relativa, a temperatura e pressão interna do ambiente, propiciar um ambiente limpo, sem odores e poluentes para seus ocupantes, filtrando ou diluindo o ar em níveis aceitáveis. (OLIVEIRA, *et al.*, 2019).

Com isso o sistema de climatização utilizado nos ambientes é de Aquecimento, Ventilação e Ar Condicionado (AVAC) ou conhecido como sistema AVAC, utilizado para manter uma boa qualidade do ar interior (GOMES, 2002).

O sistema de refrigeração automotiva é um sistema AVAC e o uso de ar condicionado vem crescendo ao longo dos anos nos veículos automotivos devido a facilidade e disponibilidade. Este equipamento tornou-se um item indispensável nos automóveis brasileiros devido ao clima no país e ao conforto que o mesmo proporciona para os passageiros (SUTIL *et al.*, 2019). Apesar do conforto é necessário serem feitas manutenções recorrentes no sistema de ar condicionado veicular. (MISKALO; SANTOS, 2018). Doenças respiratórias são adquiridas devido a presença de bioaerossóis que podem se instalar no sistema de refrigeração podendo ser inalados (MOURA *et al.*, 2020).

4 METODOLOGIA

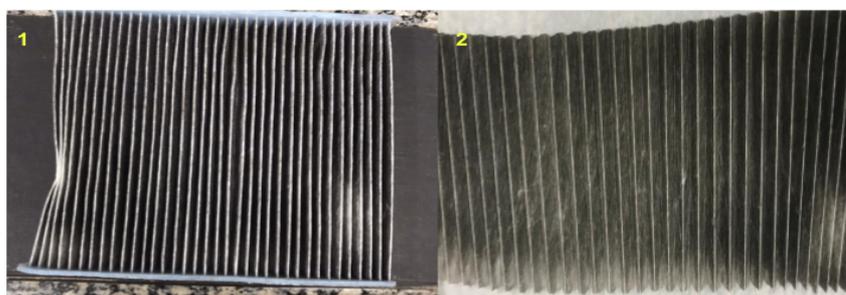
4.1 Obtenção dos filtros e processamento das amostras

Foram realizadas coletas de filtros de ar condicionado de automóveis de passeio em concessionárias de automóveis em Maceió, no período de junho de 2019 a fevereiro de 2020, correspondente ao período chuvoso e seco do ano, respectivamente. O material obtido através das concessionária por ocasião da manutenção dos veículos, foi transportado, armazenado e processado no Laboratório de Genética e Microbiologia Aplicada (BIOGEN) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

De maneira geral, os filtros de carros apresentam um formato sanfonado nos quais foram medidos largura e comprimento (Figura 2), de maneira distendida e não distendida. Logo após, retirou-se 1/5 cm do comprimento total do filtro estendido para realizar o processamento da amostra. Após o recorte, as amostras foram cortadas e armazenadas em um tubo falcon de 50 mL contendo solução salina, e submetidas ao vórtex durante 5 minutos para decantação do máximo de material suspenso possível dos filtros.

Após a agitação, as amostras foram distribuídas em dois tubos Falcons de 15 mL, sendo posteriormente submetidos à centrifugação durante 10 minutos a 7000 rpm sendo o sobrenadante descartado e o material centrifugado dos dois tubos foi colocado em um único tubo falcon de 15 mL totalizando 10 mL do cebtrifugado. Este conteúdo foi disposto novamente na centrífuga por 10 minutos a 7000 rpm. Após esse processo, obteve-se a amostra resultante dos filtros para seguimento dos procedimentos de inoculação e crescimento microbiano.

Figura 2. Filtros de cabine de automóveis.



1 - Filtro não distendido; 2 - Filtro distendido

Fonte. Autora, 2023

4.2 Preparo de soluções e meios de cultura

As soluções e os meios de cultura utilizados neste trabalho foram preparados e esterilizados por 15 minutos a 121 °C em autoclave. Pode-se observar os materiais utilizados no quadro 3 e 4.

Quadro 3. Meios de cultura

Meios de Cultura	Componentes	Utilização
Ágar Sabouraud Dextrose	Dextrose.....40 g Peptona.....10 g Ágar.....15 g Água destilada.....1000 mL Ampicilina.....10µL	Plaqueamento das amostras para crescimento microbiano e isolamento de espécies fúngicas.
Ágar Lactrimel	Farinha de trigo.....20 g Leite.....200 mL Ágar.....20 g Mel de Abelha.....7g Água destilada.....800 mL	Preparo de lâminas de identificação fúngica através da técnica de microcultivo.
Ágar Coco	Leite de Coco.....200 mL Ágar.....20 g Água Destilada.....600 mL	Detecção presuntiva de fungos micotoxigênicos.

Quadro 4. Soluções

Solução	Componentes	Utilização
Corante Lactofenol Azul	Ácido láctico.....10 g Ácido fênico.....10 g Glicerina.....20 g Água destilada.....10 mL	Coloração das lâminas fúngicas para a visualização no microscópio óptico.
Ampicilina	Águas destilada.....10mL 1 Cápsula 500mg...100mL	Antibacteriano

4.3 Inoculação das amostras

Antes da inoculação, 60 µL das amostras foram diluídas 140µL de H₂O destilada e autoclavada. Em seguida, aliquotadas 100 µL foram espalhadas em placas de Petri descartáveis (90x15mm) contendo o meio sólido Sabouraud

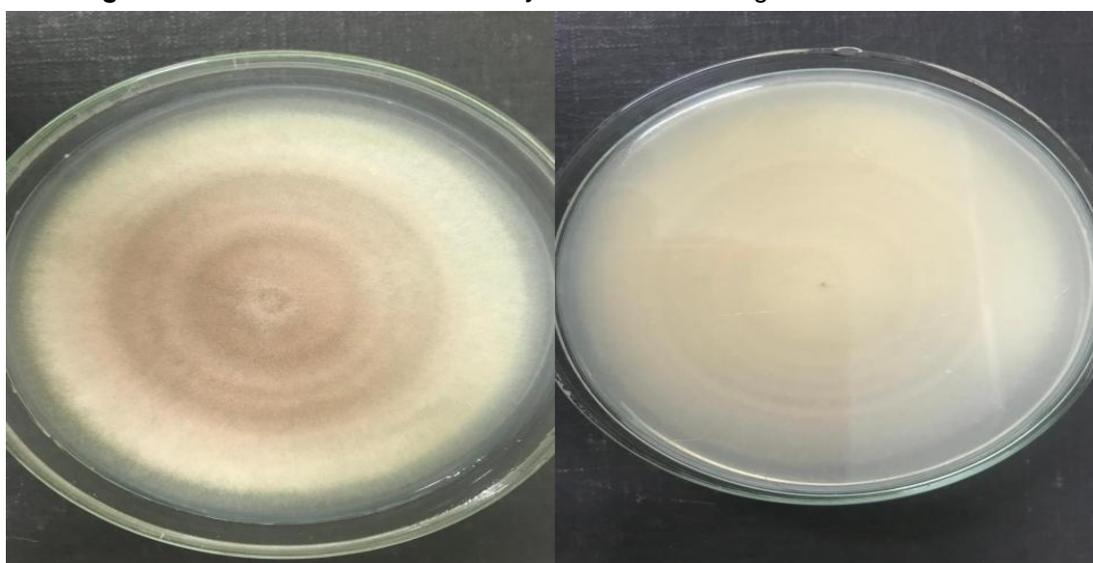
Dextrose com Ampicilina para obter-se apenas o crescimento de cepas fúngicas. Para um melhor esgotamento do sobrenadante das amostras, utilizou-se uma alça de Drigalski de vidro. Posteriormente a esse procedimento, as placas foram mantidas na estufa a 28 °C por um período de sete dias. Após o crescimento fúngico, realizou-se registros fotográficos das colônias.

4.4 Determinação de unidades formadoras de colônias e purificação de isolados fúngicos

Após o período de crescimento microbiano, ocorreu a contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC). Em seguida, as colônias fúngicas foram selecionadas através de suas características macroscópicas e inoculadas em placas de Petri contendo o meio de cultura Sabouraud através da técnica de cultura central. Essa técnica consiste na captura de uma porção do fungo com uma alça de platina e inserção no centro da placa de Petri contendo o meio nutritivo, seguido de incubação em estufa a 28 °C por sete dias.

O objetivo da cultura central é o crescimento de colônias fúngicas puras, facilitando assim a identificação posterior da espécie fúngica. Com essa técnica podemos analisar o tempo de crescimento do fungo, além de características do micélio, coloração do verso e reverso da colônia, entre outras (figura 3).

Figura 3. Cultura central de *Paecilomyces lilacinus* em Ágar Sabouraud Dextrose



Fonte: Autora, 2022

4.5 - Microcultivo e identificação das espécies fúngicas

O preparo das lâminas para observação microscópica dos fungos foi realizada com a técnica de microcultivo de RIDDELL (1950), que consiste na inoculação de um fragmento de micélio do fungo de interesse ao redor de um bloco retangular de meio de cultura Ágar Lactrimel em placas de Petri com um filtro úmido internamente. Sobre os blocos de meio de cultura foram adicionadas lamínulas e, em seguida, as placas foram incubadas em estufa à 28 °C por aproximadamente 7 sete dias.

A determinação dos epítetos específicos dos fungos foi feita através da chave de identificação para espécies de fungos (HOOG et al., 2000). A identificação macroscópica foi realizada através das características morfológicas dos isolados, tais como o tempo de crescimento e tamanho da colônia durante esse período e a coloração do verso e reverso das colônias. Após o período de incubação, as lamínulas foram retiradas e as lâminas preparadas através coloração com Azul de Lactofenol para análise morfológica em microscopia óptica (Figura 4 e 5).

Figura 4. Desenho esquemático da técnica de microcultivo

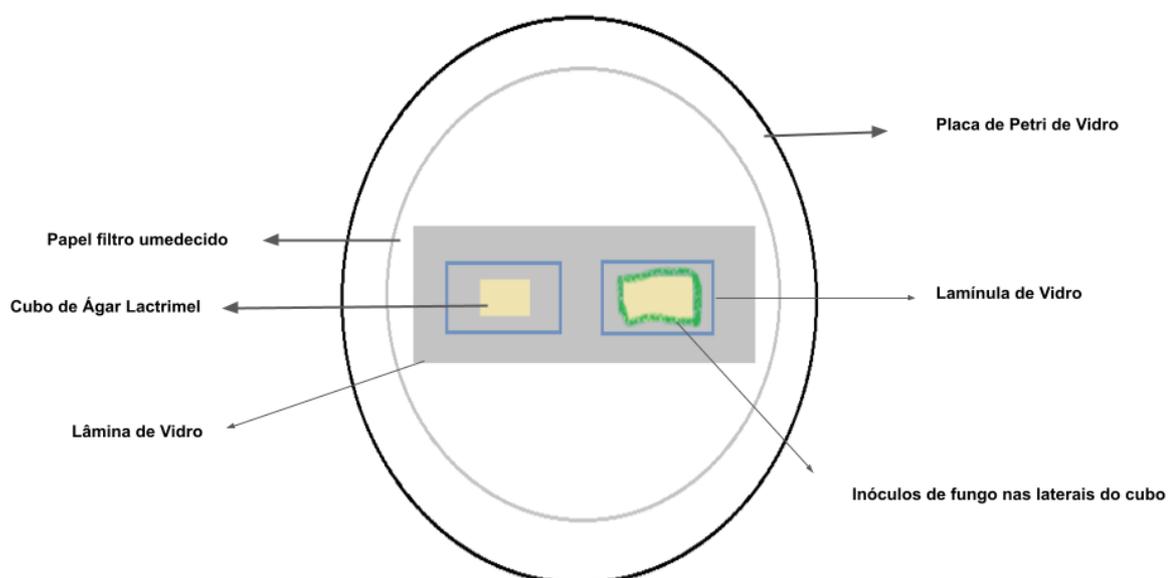
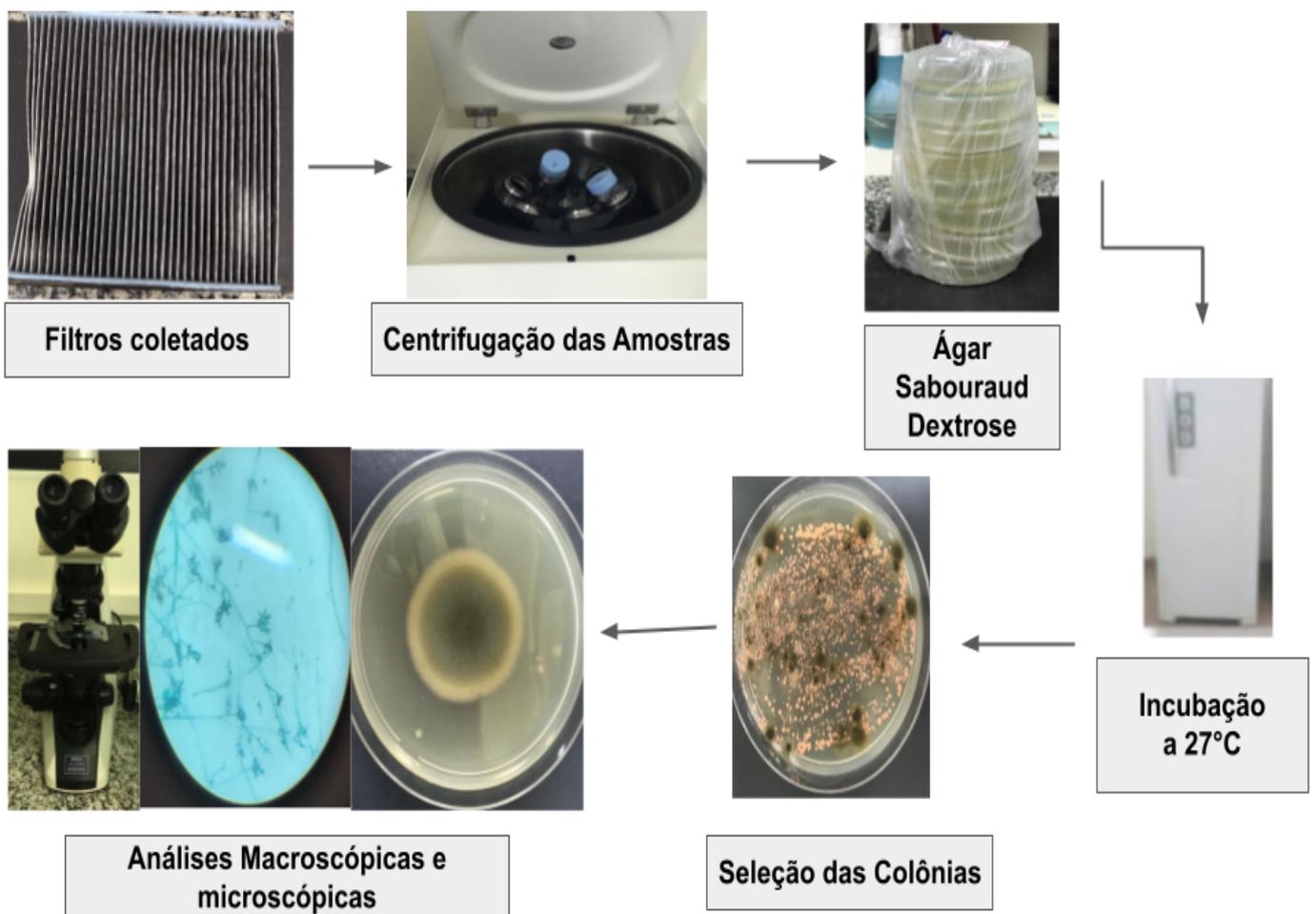


Figura 5. Esquema das etapas da metodologia para identificação dos fungos filamentosos



Fonte: Autora, 2023.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho foi detectada a presença de uma variedade de carga fúngica nos filtros de automóveis analisados e pode-se observar que nos 30 (100%) filtros coletados houve contaminação por fungos. Ao todo foram identificadas 10 espécies conforme descrito na tabela 1.

No total foram isolados e identificados seis gêneros fúngicos, sendo eles *Acremonium* spp., *Cladosporium* spp., *Fonsecaea* sp., *Paecilomyces* spp., *Penicillium* spp. e *Trichoderma* sp. Os gêneros fúngicos com maior frequência neste estudo foram *Paecilomyces* spp. estando presente em 24 filtros (80%), *Acremonium* spp. 17 filtros (56,7%) seguido de *Cladosporium* spp. em 12 filtros (40%).

As espécies mais frequentes foram *Paecilomyces viridis* (53,3%), seguido de *Paecilomyces variotii* (16,7%), *Cladosporium cladosporioides* (16,7%) e espécies não identificadas de *Acremonium* spp. (33,3%).

Tabela 1. Gêneros e espécies fúngicas identificadas e sua frequência em filtros de carro de passeio

Gêneros / Espécies	Frequência (N) Filtros
<i>Acremonium</i>	33,3%
<i>Acremonium kiliense</i>	13,4%
<i>Acremonium strictum</i>	10%
<i>Cladosporium</i>	13,3%
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	16,7%
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	10%
<i>Fonsecaea compacta</i>	6,7%
<i>Mycelia sterilia</i>	13,3%
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	10%

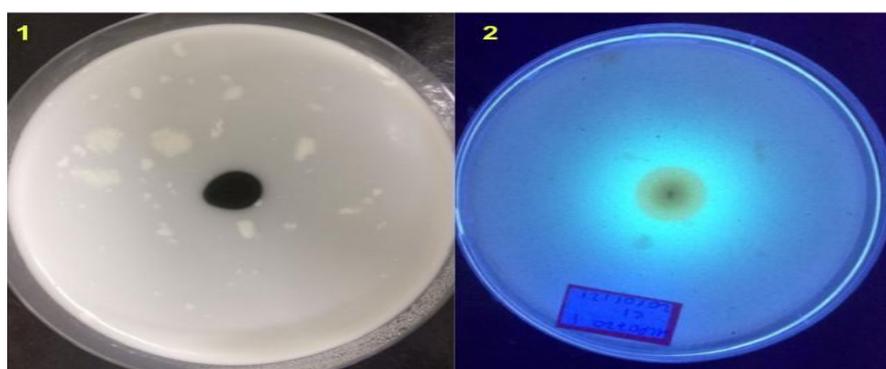
Gêneros / Espécies	Frequência (N) Filtros
<i>Paecilomyces variotii</i>	16,7%
<i>Paecilomyces viridis</i>	53,3%
<i>Penicillium commune</i>	10%
<i>Penicillium expansum</i>	3,3%
<i>Trichoderma</i>	3,3%

N= número de filtros 30.

Fonte: Autora, 2023.

Das 11 espécies fúngicas nove são consideradas potencialmente patogênicas de acordo com a NR32 do ministério do trabalho (2005). Todas as cepas de fungos filamentosos identificadas e que passaram pelo teste de fluorescência no meio de cultura ágar coco e luz UV deram negativas para a presença de micotoxinas, como descrito na tabela 2. Cepas fúngicas que produzem micotoxinas quando colocado na luz UV apresenta um halo fluorescente como pode ser visto na figura 5. As micotoxinas estão associadas a diversos tipos de doenças, associadas a fungos presentes na alimentação, mas estudos recentes estão associando efeitos tóxicos das micotoxinas através da inalação (FREIRE *et al.*, 2007; PEREIRA; SANTOS, 2011).

Figura 5. Fungos inoculados em ágar coco e teste luz UV para analisar presença de micotoxinas.



1 - Espécie fúngica negativa para micotoxina; 2 - Espécie fúngica positivo para micotoxinas

Fonte. Autora, 2022

Tabela 2. Detecção de fungos toxigênicos, patogênico e alergênico

Gêneros/Espécies	Toxigênicos	Patogênico	Alergênico
<i>Acremonium</i>	–	+	+
<i>Acremonium kiliense</i>	–	+	+
<i>Acremonium strictum</i>	–	–	+
<i>Cladosporium</i>	–	–	+
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	–	+	+
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	–	–	+
<i>Fonsecaea compacta</i>	–	+	+
<i>Mycelia sterilia</i>	–	+	+
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	–	+	+
<i>Paecilomyces variotti</i>	–	+	+
<i>Paecilomyces viridis</i>	–	+	+
<i>Penicillium commune</i>	–	+	+
<i>Penicillium expansum</i>	–	+	+
<i>Trichoderma</i>	–	–	+

Negativo = (-) Positivo = (+)

Fonte. Autora, 2023

Os ambientes artificialmente climatizados podem trazer um conforto térmico para seus ocupantes, mas estudos comprovam que os aparelhos de refrigeração são um dos principais motivos para contaminação destes ambientes, contribuindo para diversos relatos de reações alérgicas em ambientes fechados (NUNES *et al.*, 2008; SOUSDALEFF, 2016; SILVA *et al.*, 2021).

Os principais ambientes de estudos sobre a qualidade do ar interior são prédios, escolas e hospitais (SILVA *et al.*, 2016; MARTINS *et al.*, 2022). Pesquisas

realizadas em ambientes internos com um sistema de refrigeração que não permite a renovação do ar é relevante devido ao tempo que as pessoas vivem nestes ambientes. (FRAGA *et al.*, 2008; ALMEIDA; NUNES, 2010; FAKHOURY, 2017). A presença das espécies fúngicas e diversidade depende da época da coleta e do clima (FRANCO, 2008).

Resultados semelhantes foram encontrados no estudo realizado em bibliotecas de instituições de ensino da Região Nordeste do Brasil onde foi possível identificar fungos do gênero *Cladosporium.*, *Acremonium.*, *Penicillium.* em altas taxas de concentrações (SILVA *et al.*, 2021). Estes gêneros fúngicos são relatados na literatura e comumente encontrados nos ambientes internos de residências e escritórios, sendo associados a diversos tipos de reações alérgicas (MAGESTE *et al.*, 2012; PEREIRA *et al.*, 2014; LIBÓRIO; SIMI, 2020).

O gênero fúngico mais frequente neste estudo foi *Paecilomyces* spp. com três espécies encontradas: *P. viridis*, *P. variotii* e *P. lilacinus* as quais fazem parte da NR32, denominados patógenos de classe de risco 2 significa que pode causar doenças em seres humanos porém a meios eficazes de profilaxia e tratamento e agente emergente oportunista. Estes fungos principalmente em ambientes hospitalares estão associados a infecções da corrente sanguínea, podendo causar pneumonia, endocardite, sinusite fúngica alérgica e onicomicoses e e até mesmo infecções sistêmicas em pacientes imunocomprometidos (BERNARDI; NASCIMENTO, 2007; PEIXOTO *et al.*, 2010; PEIXOTO, 2012; OLIVEIRA; BORGES, 2015). Em diversos trabalhos sobre qualidade do ar interior foram identificadas espécies de *Paecilomyces* como encontradas em clínicas e centros cirúrgicos em diferentes estações do ano (SALES *et al.*, 2011; ROLAND *et al.*, 2021).

O segundo gênero mais frequente identificado foi o *Acremonium*. De acordo com a NR32 que algumas espécies deste gênero fazem parte do nível de risco 2, são consideradas oportunistas e emergentes (ARAÚJO *et al.*, 2003; MOBIN *et al.*, 2017; AQUINO, 2018). A literatura descreve fungos do gênero *Acremonium*, associados em hifomicoses subcutâneas e onicomicoses (ZAITZ *et al.*, 1995; ARAÚJO *et al.*, 2003).

O terceiro gênero fúngico mais frequente é *Cladosporium.*, comumente encontrados na literatura relacionados a qualidade do ar interior, podendo ser encontrados tanto em ambientes internos como externos, com uma alta taxa de concentração e frequência (ROLAND *et al.*, 2021; CALUMBY *et al.*, 2022).

Cladosporium são relatados como um fungo cosmopolita e com maior concentração na atmosfera, podendo ser encontrados facilmente em ambientes internos e externos (MENEZES et al., 2017). O *Cladosporium* possui características únicas é um fungo demácio (escuro), sendo resistente a fatores ambientais, Suas espécies como *Cladosporium cladosporioides* e *Cladosporium sphaerospermum* são comumente relacionadas a alergias do trato respiratório (MENEZES et al.,2017).

No presente estudo, *Penicillium* spp. possuiu uma menor frequência diferente do que foi encontrado na literatura pois é um fungo que possui maior ocorrência, com espécies sendo associadas frequentemente a reações alérgicas (BEZERRA et al., 2011; PEREIRA, et al. 2014).

Outro gênero de fungo identificado neste estudo com menor frequência e com pouca associação a alérgenos e micotoxinas, não estando presente na NR32 é *Trichoderma* sp., porém a literatura descreve que produzem metabólitos secundários utilizados como controle biológico para outras espécies fúngicas patogênicas em plantas e no solo. Além de serem utilizados para crescimento vegetal, as pesquisas desses metabólitos podem ser aprofundadas e testadas para usos em humanos e animais. (BENÍTEZ, et al., 2004; POMELLA; RIBEIRO, 2009; CHAGAS et al., 2017).

Em um estudo sobre a qualidade do ar de interior dos veículos de pequeno porte detectaram a presença de COVs, podendo estar relacionado a presença de microorganismo que metaboliza essas substâncias no ambiente. (OLIVEIRA, 2019). Um trabalho realizado com filtros de táxis e veículos pessoais foram encontrados fungos dos gêneros *Penicillium*, *Cladosporium*, *Acremonium* em altas concentrações, o crescimento fúngico foi maior em veículos de uso pessoal do que nos táxis, corroborando com com este estudo não foi encontrado fungos toxigênicos. (VIEGAS et al., 2018).

Ao analisar filtros de automóveis foi detectada uma alta concentração de fungos do gênero *Penicillium*. (BADER, et al., 2021). Ao analisar possíveis exposição das pessoas a microrganismos no deslocamento nos interiores de carros de passeio e ônibus foi possível encontrar altas concentrações de *Cladosporium* e *Penicillium* (LEE; JO, 2005). Em um estudo realizado para detecção de fungos em filtros de automóveis na cidade de São Paulo, foram encontrados fungos do gênero *Penicillium*, *Fusarium* e *Aspergillus*. (AQUINO et al., 2018).

As concentrações fúngicas encontradas em filtros de condicionadores de ar de automóveis são altas, sendo importante analisar como a exposição diária a esses

microorganismos pode influenciar a longo prazo na saúde dos motoristas e passageiros desses veículos. (AQUINO et al., 2018; VIEGAS et al., 2018).

6 CONCLUSÃO

- Neste estudo foi possível analisar que filtros dos ar condicionados de automóveis são ambientes propícios para acumulação de fungos de diversas espécies podendo servir de alérgenos para condutores e passageiros.
- Foi possível detectar a presença de fungos patogênicos e alergênicos que podem causar doenças respiratórias.
- Foram identificados fungos possivelmente toxigênicos apesar das cepas coletadas neste trabalho terem obtido resultados negativos para o teste de micotoxinas.
- É necessário uma atenção maior para os condicionadores de ar de automóveis e uma legislação mais rigorosa para manutenção do mesmo pois o sistema de refrigeração está presente na maioria dos automóveis que podem ser utilizados para trabalho, uso pessoal, viagens entre outros e sem os cuidados e higienização necessários podem ser prejudicial a saúde de seus ocupantes.

Referências

- AQUINO, S. et al. Analysis of fungal contamination in vehicle air filters and their impact as a bioaccumulator on indoor air quality. **Air quality, atmosphere & health**, v. 11, p. 1143-1153, 2018.
- ALMEIDA, M. M.; LOPES, I.; NUNES, C. Caracterização da qualidade do ar interior em Portugal—Estudo HabitAR. **Rev Port Imunoalergologia**, v. 18, n. 1, p. 21-38, 2010.
- AQUINO, S. R. S. M.. **Onicomicoses: Perfil de fungos não dermatófitos em pacientes ambulatoriais da Fundação Alfredo da Matta - Manaus/Amazonas**. 2004. 64 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Tropical) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2018.
- ARAÚJO, A. J. G.; BASTOS, O. M. P.; SOUZA, M. A. J.; OLIVEIRA, J. C. Onicomicoses por fungos emergentes: análise clínica, diagnóstico laboratorial e revisão. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 78, p. 445-455, 2003.
- ARRUDA, A. D.; BERETTA, A. L. R. Z. Micotoxinas e seus efeitos à saúde humana: revisão de literatura. **RBAC**, v. 51, n. 4, p. 286-9, 2019.
- BADER, S. M. A. et al. Antifungal Activity of Essential Oils Vapors Against Fungi Isolated from Car Air-Conditioner Filters. **Medico-legal Update**, v. 21, n. 4, 2021.
- BENASSI, V. M.; ALMEIDA, A.. Prospecção de fungos filamentosos termotolerantes e termofílicos de distintos materiais coletados no estado de Minas Gerais e análise de potenciais produtores de amilases. **Revista Unimontes Científica**, v. 20, n. 1, p. 150-169, 2018.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International microbiology**, v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004.
- BERNARDI, E.; COSTA, E. L. G.; NASCIMENTO, J. S. Fungos anemófilos e suas relações com fatores abióticos, na praia do Laranjal, Pelotas, RS. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 7, n. 2, p. 0, 2007.
- BEZERRA, G. F. B.; NASCIMENTO, M. D. S. B.; COSTA, M. R. S. R.; VIANA, V. M. C.; SOUSA, M. D. C. Avaliação ambiental de um programa de educação em asma: relação dos fungos do ar e os níveis de IgE em crianças e adultos. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 37, p. 281-282, 2011.
- BEZERRA, G. F. B. et al. Avaliação da resposta IgE para o entendimento do papel de fungos do ar na alergia respiratória em crianças. **Arquivos de Asma, Alergia e Imunologia**, v. 2, n. 3, p. 119-124, 2014.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 9, de 16 de janeiro de 2003. Orientação técnica sobre padrões referenciais de

qualidade do ar interior em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo. Brasília (DF): **Diário Oficial da União**; 20 jan. 2003.

CALUMBY, R. J. N. et al. Isolamento e identificação da microbiota fúngica anemófila em Unidade de Terapia Intensiva. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 10, p. 19708-19722, 2019.

CALUMBY, R. J. N. et al. Microbiota fúngica dos filtros do condicionador de ar e de superfícies em uma Unidade de Terapia Intensiva. **Revista Principia-Divulgação Científica e Tecnológica do IFPB**, v. 59, n. 1, p. 10-19, 2022.

CARVALHO, R. A. et al. Incidência de fungos toxigênicos e aflatoxinas em arroz. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, p. 946-952, 2010.

CHAGAS, L. F. B. et al. Trichoderma na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 4, n. 3, p. 97-102, 2017.

CHOE, Y. et al. Inadequacy of air purifier for indoor air quality improvement in classrooms without external ventilation. **Building and Environment**, v. 207, p. 108450, 2022.

COSTA, R. F. W. et al. A qualidade do ar em ambientes comerciais fechados: Prevenindo patologias associadas à permanência diária em espaços com climatização artificial. **Revista Científica Doctum Multidisciplinar**, v. 1, n. 2, 2019.

CORUJEIRA, L. A. Métodos de prevenção e eliminação de fungos em materiais bibliográficos. **Revista de Biblioteconomia de Brasília**, v. 1, n. 1, p. 59-65, 1973.

CROCE, J. et al. Estudo dos fungos anemófilos da cidade de Botucatu e sua correlação com sensibilização em pacientes com doenças alérgicas respiratórias. **Rev. bras. alergia imunopatol**, p. 95-109, 2003.

CRUZ, A. C. R.; MARQUES, M. F. O.; GUSMÃO, L. F. P. Fungos anamórficos (Hyphomycetes) da Chapada Diamantina: novos registros para o Estado da Bahia e Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, p. 847-855, 2007.

DINIZ, J. N. et al. Monitoramento de fungos anemófilos e de leveduras em unidade hospitalar. **Revista de saúde pública**, v. 39, p. 398-405, 2005.

FAKHOURY, N. A. **Estudo da qualidade do ar interior em ambientes educacionais**. 2017. 196 f. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2017

FLORES, L. H.; ONOFRE, S. B. Determinação da presença de fungos anemófilos e leveduras em unidade de saúde da cidade de Francisco Beltrão-PR. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 5, n. 2, 2010.

FRAGA, S. et al. Qualidade do ar interior e sintomas respiratórios em escolas do Porto. **Revista Portuguesa de Pneumologia**, v. 14, n. 4, p. 487-507, 2008.

FREIRE, F. C. O. et al. Micotoxinas: importância na alimentação e na saúde humana e animal. **Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical**, v. 48, 2007.

GIODA, A.;NETO, F. R. A. Considerações sobre estudos de ambientes industriais e não industriais no Brasil: uma abordagem comparativa. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, p. 1389-1397, 2003.

GOMES, J. F. P. Contaminação do ar interior por bioaerossóis. **Revista Portuguesa de Pneumologia**, v. 8, n. 6, p. 689-694, 2002.

GONÇALVES, B.; SANTANA, L.; PELEGRINI, P.. Micotoxinas: Uma revisão sobre as principais doenças desencadeadas no organismo humano e animal. **Revista de Saúde-RSF**, v. 4, n. 1, 2017.

GONÇALVES, C. L. et al. Avaliação antifúngica de uma solução à base de glucoprotamina e do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* em leveduras de ambiente hospitalar. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 78, p. 1-6, 2019.

GRAUDENZ, G. S. et al. Exposição alergênica e sintomas respiratórios em ambientes climatizados. **Rev Bras Alerg Immunopatol**, v. 27, p. 94-102, 2004.

GUARRO, J.; GENÉ, J.; STCHIGEL, A. M. Developments in fungal taxonomy. **Clinical microbiology reviews**, v. 12, n. 3, p. 454-500, 1999.

HOOG, G. S. et al. Atlas of clinical fungi, 2 edn. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Universitat Rovira i Vigilli, Utrecht/Reus, 2000.

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

KAVGIC, M. et al. Analysis of thermal comfort and indoor air quality in a mechanically ventilated theatre. **Energy and Buildings**, v. 40, n. 7, p. 1334-1343, 2008.

LIBÓRIO, G. M. V.; SIMI, W. B. Identificação de fungos anemófilos de potencial patogênico, encontrados em transportes públicos de Cuiabá e Várzea Grande—MT. **Seminário Transdisciplinar da Saúde**, n. 07, 2020.

LIMA, M. L. F.;LIMA, J. S.;SILVA, M. T.. Fungos Anemófilos: Avaliação da microbiota do ar em ambientes interno e externo. **Essentia-Revista de Cultura, Ciência e Tecnologia da UVA**, 2019

LOBATO, R. C.; VARGAS, V. S.; SILVEIRA, E. S. Sazonalidade e prevalência de fungos anemófilos em ambiente hospitalar na sul do Rio Grande do Sul, Brasil. 2009.

LEE, J. H.; JO, W. K.. Exposure to airborne fungi and bacteria while commuting in passenger cars and public buses. **Atmospheric environment**, v. 39, n. 38, p. 7342-7350, 2005.

LEITE, C. L. et al. A particularidade de ser um fungo—I. Constituintes celulares. **Biotemas**, v. 19, n. 2, p. 17-27, 2006.

MAGESTE, J. O. et al. Estudo da microbiota fúngica anemófila de uma indústria farmacêutica de juiz de fora—MG. **FACIDER-Revista Científica**, v. 1, n. 1, 2012.

MARTINS, C. C.; BERTOTTI, J. L. F.. A necessidade da proteção ao meio ambiente do trabalho frente a desregulamentação da onda neoliberalista mundial: o caso da síndrome do edifício doente. **Anais de Constitucionalismo, Transnacionalidade e Sustentabilidade**, v. 9, n. 2, p. 85-106, 2019.

MARTINS, A. A. et al. Indoor Air Quality: A Review of Cleaning Technologies. 2022.

MAZIERO, M. T.; BERSOT, L. S. Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. **Revista brasileira de produtos agroindustriais**, v. 12, n. 1, p. 89-99, 2010.

MORAES, G. K. A.; FERRAZ, Luana Fernandes; CHAPLA, Vanessa Mara. Compostos orgânicos voláteis de fungos endofíticos e suas aplicações biotecnológicas. **RVq**, v. 12, n. 6, p. 1498-510, 2020.

MENEZES, E. A. et al. Fungos anemófilos causando alergia respiratória em pacientes na cidade de Fortaleza, Ceará. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 40, p. 79-84, 2004.

MENEZES, C. P.; PEREZ, A. L. A. L.; OLIVEIRA, E. L.. Cladosporium spp: morfologia, infecções e espécies patogênicas. **Acta Brasiliensis**, v. 1, n. 1, p. 23-27, 2017.

MEZZARI, A. et al. Os fungos anemófilos e sensibilização em indivíduos atópicos em Porto Alegre, RS. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 49, p. 270-273, 2003.

MISKALO, A.; SANTOS, L. C. Fungos e Bactérias no ar condicionado em residências, escritórios e veículos no Brasil: uma breve revisão. 2018. Semana Integrada Servidor Público ISSN 2318 4639, 2018.

MOBIN, M. et al. Onicomicoses em trabalhadores de hortas comunitárias de Teresina-Piauí: agentes causais e susceptibilidade in vitro a antifúngicos convencionais e óleos essenciais de plantas do Nordeste do Brasil. **BEPA. Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 14, n. 161, p. 63-64, 2017.

MORAIS, U. N. **Identificação de fungos anemófilos de ambientes climatizados em laboratórios de pesquisa de uma instituição de ensino superior de Alagoas**. 2022. 54 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) - Instituto de Ciências Farmacêuticas, Curso de Farmácia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2021.

MOURA, T. C. M.; PUGLIA, V. M.; SANCHEZ, R. B. Ventilação e climatização para o isolamento de contaminação por vírus. **Caleidoscópio**, v. 12, n. 1, p. 8-10, 2020.

NUNES, C. et al. Fungos na atmosfera de Portugal. **Rev Port Imunoalergologia**, v. 16, n. 4, p. 377-94, 2008.

NEUFELD, P. M. A COVID-19 e o diagnóstico da aspergilose pulmonar invasiva. **RBAC**, v. 52, n. 2, p. 173-85, 2020.

OLIVEIRA, L. D. C.;PALUCH, L. R. B.. Alergias respiratórias: uma revisão dos principais fungos anemófilos e fatores desencadeantes. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 39, n. 2, p. 426-426, 2015.

OLIVEIRA, D. S. **Avaliação da QAI em automóveis de pequeno porte, sob a influência do seu sistema de climatização**. São Cristóvão, SE, 2019. Monografia (Bacharelado em Engenharia Ambiental) – Departamento de Engenharia Civil, Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2019.

PANTOJA, L. D. M. ; COUTO, M. S. ; PAIXÃO, G. C. **Diversidade de bioaerossóis presentes em ambientes urbanizados e preservados de um campus universitário**. **Biológico**, São Paulo, v.69, n.1, p.41-47, jan./jun., 2007.

PANTOJA, L. D. M. et al. Constituição da microbiota aérea de bibliotecas públicas no município de Fortaleza, Estado do Ceará, Brasil. **Encontros Bibli: revista eletrônica de biblioteconomia e ciência da informação**, v. 17, n. 34, p. 31-41, 2012.

PANTOJA, L. D. M. et al. Percepção ocupacional: a qualidade do ar interno em biblioteca pública, Ceará, Brasil. **Conexões-Ciência e Tecnologia**, v. 10, n. 3, p. 118-124, 2016.

PEIXOTO, E. et al. In-vitro study of the host–parasite interactions between mouse macrophages and the opportunistic fungus *Paecilomyces lilacinus*. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 104, n. 6, p. 529-534, 2010.

PEIXOTO, M. L. P.. **Avaliação da interação in vitro do fungo oportunista, emergente, *Paecilomyces lilacinus*, agente causal da hialohifomicose, com células apresentadoras de antígenos humanas (macrófagos e células dendríticas)**. 2012. 125 f. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas)-Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2012.

PELCZAR Jr, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. 2 ed. São Paulo: Pearson Makron Books, 1997. v. 1.

PEREIRA, K. C.;SANTOS, C. F. Micotoxinas e seu potencial carcinogênico. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 15, n. 4, 2011.

PEREIRA, J. G. et al. Análise de fungos anemófilos em hospital da cidade de Ariquemes, Rondônia, Amazônia Ocidental, Brasil. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 4, n. 1, p. 18-22, 2014.

POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas—uma visão empresarial. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**, p. 239-244, 2009.

PRESTES, I. D. et al. Principais fungos e micotoxinas em grãos de milho e suas consequências. **Scientia Agropecuaria**, v. 10, n. 4, p. 559-570, 2019.

PRUSSIN, A. J.; MARR, L. C. Sources of airborne microorganisms in the built environment. **Microbiome**, v. 3, p. 1-10, 2015.

RIBOT, J. L. L. et al. Characterization of cell wall proteins of yeast and hydrophobic mycelial cells of *Candida albicans*. **Infection and immunity**, v. 59, n. 7, p. 2324-2332, 1991.

RIDDELL, R. W. Preparações micológicas com coloração permanente obtidas por cultura em lâmina. *Mycologia*, v. 42, n. 2, pág. 265-270, 1950.

ROLAND, E. A.; SILVA, S. M. C.; SILVA, M. I. L. Caracterização da microbiota fúngica nas clínicas e centro cirúrgico da faculdade de odontologia da Universidade Federal do Amazonas (UFAM). **BIUS-Boletim Informativo Unimotrisaúde em Sociogerontologia**, v. 25, n. 19, p. 1-19, 2021.

SALES, E. et al. Micota no ar da unidade de terapia intensiva e centro cirúrgico de um hospital universitário. **Bioikos-Título não-corrente**, v. 25, n. 2, 2011.

SANTANA, W. O.; FORTUNA, J. L.. Microbiota de aparelhos de ar condicionado das áreas críticas de hospitais públicos e particulares e sua relação com as infecções hospitalares. **Revista Biociências**, v. 18, n. 1, 2012.

SOUSA, K. S.; FORTUNA, J. . Microrganismos em ambientes climatizados de consultórios odontológicos em uma cidade do extremo sul da Bahia. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 35, n. 2, p. 250-250, 2011.

SANTOS, R. L. G. et al. Identificação de fungos produtores de micotoxinas cancerígenas em pães de sanduíches vendidos no centro comercial de Macapá-AP. **Revista da Associação Brasileira de Nutrição-RASBRAN**, v. 7, n. 2, p. 50-55, 2016.

SCHIRMER, W. N.; GAUER, M. A.; SZYMANSKI, M. S. E. Qualidade do ar interno em ambientes hospitalares climatizados—verificação de parâmetros físicos e da concentração de dióxido de carbono. **Tecno-Lógica**, v. 14, n. 2, p. 8, 2010.

SCHIRMER, W. N., PIAN, L. B.; SZYMANSKI, M. S. E., & GAUER, M. A. A poluição do ar em ambientes internos e a síndrome dos edifícios doentes. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, p. 3583-3590, 2011.

SILVA, E. G. M.. **Fungos anemófilos na cidade de Botucatu e sua correlação com sensibilização em portadores de doenças alérgicas respiratórias**. 2004. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2004.

SILVA, C. C. et al. Avaliação microbiológica da qualidade do ar de interiores: aspectos legais e metodológicos. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 10, n. 1, p. 51-60, 2012.

SILVA, D. G. et al. Airborne fungi isolated in a private hospital of Sinop-MT, Brazil. **Scientific Electronic Archives**, v. 9, n. 5, p. 147-152, 2016.

SILVA, D. P. et al. Fungos anemófilos isolados de bibliotecas de instituições de ensino da Região Nordeste do Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 12, p. 8-8, 2021.

SOARES, C. M. G.; ABRUNHOSA, L.; VENÂNCIO, A.. Fungos produtores de micotoxinas. 2013.

SOARES, J. S.; ASTRÊS FERNANDES, Márcia. Discusión del síndrome del edificio enfermo en trabajadores de la salud. **Revista Cubana de Enfermería**, v. 36, n. 2, 2020.

SOBRAL, L. V. **Fungos anemófilos em ambientes climatizados: prevalência, produção de enzimas e atividade antibacteriana**. 2016. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

SOUSDALEFF, M. **Caracterização de fungos de ar indoor e ar outdoor dos laboratórios da UTFPR Campus Campo Mourão/PR**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2016.

SUTIL, J. C. et al. Desenvolvimento de controladora universal de ar condicionado. **Revista TechnoEng-ISSN 2178-3586**, v. 1, n. 2, 2019.

TAKAHASHI, J. A. et al. Fungos filamentosos e química: velhos conhecidos, novos aliados. **Revista virtual de química**, v. 9, n. 6, p. 2351-2382, 2017.

TAKAHASHI, J. A.; LUCAS, E. M. F.. Ocorrência e diversidade estrutural de metabólitos fúngicos com atividade antibiótica. **Química Nova**, v. 31, p. 1807-1813, 2008.

TEIXEIRA, D. B. et al. Síndrome dos edifícios doentes em recintos com ventilação e climatização artificiais: revisão de literatura. **Congresso Brasileiro de Defesa do Meio Ambiente**, v. 8., 2005.

VENCESLAU, E. M.; MARTINS, R. P. P.; OLIVEIRA, I. D. Frequência de fungos anemófilos em áreas críticas de unidade hospitalar de Aracaju, Sergipe, Brasil. **RBAC**, v. 44, n. 1, p. 26-30, 2012.

VIEGAS, C. et al. Filters from taxis air conditioning system: A tool to characterize driver's occupational exposure to bioburden?. **Environmental research**, v. 164, p. 522-529, 2018.

ZAITZ, C. et al. Hialo-hifomicose subcutânea por *Acremonium ricifeci*: registro de um caso. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 37, n. 3, p. 267-270, 1995.