

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – ICF  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

URIEL DO NASCIMENTO MORAIS

**Identificação de fungos anemófilos de ambientes climatizados em laboratórios de  
pesquisa de uma instituição de ensino superior de Alagoas**

Maceió

2021

URIEL DO NASCIMENTO MORAIS

**Identificação de fungos anemófilos de ambientes climatizados em laboratórios de pesquisa de uma instituição de ensino superior de Alagoas**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao programa de graduação em Farmácia do Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas – UFAL, tendo em vista a obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Orientador: Valter Alvino

Maceió

2021

## FOLHA DE APROVAÇÃO

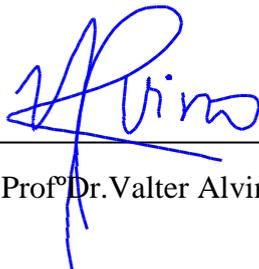
URIEL DO NASCIMENTO MORAIS

### **Identificação de fungos anemófilos de ambientes climatizados em laboratórios de pesquisa de uma instituição de ensino superior de Alagoas**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao programa de graduação em Farmácia do Instituto de Ciências Farmacêuticas – ICF da Universidade Federal de Alagoas – UFAL, visando a obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Aprovado em: 04/03/2021

Banca examinadora:



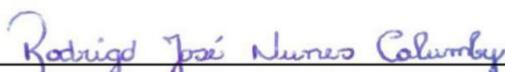
---

Orientador: Prof. Dr. Valter Alvino (ICF-UFAL)



---

Prof. Dr. José Rui Machado Reys (ICF-UFAL)



---

Mestrando. Rodrigo José Nunes Calumby (ICF-UFAL)

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

M827i    Morais, Uriel do Nascimento.  
          Identificação de fungos anemófilos de ambientes climatizados em  
          laboratórios de pesquisa de uma instituição de ensino superior de Alagoas /  
          Uriel do Nascimento Morais. – 2021.  
          54 f. : il., figs. e tabs. color.

Orientador: Valter Alvino.  
          Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia) –  
          Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas.  
          Maceió, 2021.

Bibliografia: f. 41-54.

1. Ambientes climatizados. 2. Qualidade do ar. 3. Análise  
          microbiológica. 4. Fungos anemófilos. I. Título.

CDU: 582.28: 697.94

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que me concedeu a vida e me possibilitou conquistar meu sonho que é um diploma em uma Universidade Federal.

À minha mãe, Patrícia, por todo apoio emocional e financeiro, por seu carinho e por sempre acreditar em mim.

Às minhas avós Maria dos Anjos e Marinete (*in memoriam*), por todo carinho que dispensaram a mim, sempre a disposição a me ajudar no que fosse preciso.

Aos meus tios Nilza e Sérgio e minhas primas Débora e Ruhama por serem pessoas de exemplo em minha vida e por sempre me incentivar em meus estudos e na perseverança dos meus sonhos.

Ao meu orientador, Prof. Valter Alvino, por toda paciência e ajuda a concluir esse trabalho. Serei sempre grato pelo apoio e a oportunidade de ter realizado minha primeira iniciação científica.

Aos outros componentes da banca Rodrigo e Rui por serem profissionais exemplares e pela disposição na avaliação desse trabalho.

À minha grande amiga Juliana Almerino, sem ela esse trabalho não sairia como planejado. Meu eterno obrigado.

Aos meus colegas de pesquisa Pedro, Khyvia, Dani e Jorge, que no dia a dia me mostraram que com o trabalho em equipe conseguimos ir mais longe.

Aos meus companheiros de graduação Josy, Ozileudiane, Clara, Kelly (*in memoriam*), Rafaelle, Pedro Augusto, Camila, Íris, Luciana, Valéria, Ingridy, Géssica, Juliana Sá e Gabi Lombardi. Foram dias prazerosos estes em que estive ao lado de vocês e estarão sempre em minha memória.

A toda a equipe do Laboratório de Pesquisa em Tratamento de Feridas (LPTF) pelo espaço e materiais concedidos, além dos professores e colegas sempre dispostos a me ajudar.

## RESUMO

Ambientes internos climatizados, mal ventilados e sem renovação de ar, podem acumular poeira e umidade tornando o ambiente propício para a proliferação de agentes biológicos, tais como fungos e bactérias. As partículas produzidas por esses agentes são denominadas bioaerossóis e quando inaladas podem ser responsáveis por manifestações respiratórias alérgicas e infecções oportunistas. Além disso, esses ambientes podem abrigar fungos produtores de toxinas, podendo acarretar danos aos indivíduos expostos, principalmente àqueles que apresentam alguma condição clínica de imunossupressão. Com base no exposto, o presente estudo teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica de ambientes climatizados em laboratórios de pesquisa de uma instituição de ensino superior de Alagoas. Para a avaliação microbiológica do ar foram realizadas exposições de placas de Petri contendo o meio de cultura Ágar Sabouraud Dextrose (ASD), nos laboratórios de pesquisa do Instituto de Ciências Farmacêuticas/UFAL. No que se refere à análise microbiológica dos condicionadores de ar, as amostras foram colhidas em uma área de 20 cm<sup>2</sup> utilizando-se *swabs* estéreis embebidos em solução fisiológica a 0,9%, as quais foram semeadas por espalhamento radial na superfície do meio ASD. Após constatação do crescimento fúngico nas placas foi realizada análise quantitativa através de contagem do número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) existentes nas amostras. Para análise qualitativa foi efetuada contagem diferencial das colônias, entre fungos filamentosos e leveduriformes. Os fungos filamentosos foram identificados por meio da associação dos aspectos macroscópicos com as características microscópicas do exame direto da cultura primária, sendo os mesmos confirmados pela estimulação da esporulação pela técnica de microcultivo em lâmina utilizando-se ágar lactrimel. Nas amostras do ambiente foram isoladas 203 UFC; 125 de fungos filamentosos, onde *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium* foram os gêneros mais predominantes. Na microbiota do ar-condicionado, 311 UFCs, e os gêneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Cladosporium* foram os mais isolados, entretanto *Trichoderma* e *Chrysonilia* também tiveram um crescimento de grande extensão. A maior quantidade de UFCs no ar ambiente foi isolada no laboratório 5, enquanto que as amostras dos ares-condicionados estavam mais contaminadas no laboratório 2. Visando diminuir a contaminação dos laboratórios, é necessário implantar medidas como: uma maior regularidade na limpeza e incentivo ao uso de equipamentos de proteção individual.

**Palavras-chave:** Fungos anemófilos; Microbiota Ambiental; Ambientes climatizados.

## ABSTRACT

Acclimatized indoor environments, poorly ventilated and without air renewal, can accumulate dust and moisture making the environment conducive to the proliferation of biological agents, such as fungi and bacteria. The particles produced by these agents are called bioaerosols and when inhaled they may be responsible for allergic respiratory manifestations and opportunistic infections. In addition, these environments can harbor toxin-producing fungi, which can cause damage to exposed individuals, especially those who have some clinical condition of immunosuppression. Based on the above, the present study aimed to evaluate the microbiological quality of acclimatized environments in research laboratories of a University in Alagoas. For the microbiological evaluation of the air, Petri dishes containing the culture medium Agar Sabouraud Dextrose (ASD) were exhibited in the research laboratories of the Institute of Pharmaceutical Sciences / UFAL. Regarding the microbiological analysis of the air conditioners, the samples were collected in an area of 20 cm<sup>2</sup> using sterile swabs soaked in 0.9% saline solution, which will be sown by radial scattering on the surface of the Sabouraud agar medium. dextrose (ASD). After verifying the fungal growth in the dishes, quantitative analysis were performed by counting the number of Colony Forming Units (CFU) existing in the samples. For qualitative analysis, differential colony counting were carried out, between filamentous fungi and yeasts. The filamentous fungi were identified by associating the macroscopic aspects with the microscopic characteristics of the direct examination of the primary culture, the same being confirmed by the stimulation of the sporulation by the microcultivation technique using lactrimel agar. 203 CFUs were isolated from the environment samples; 125 of filamentous fungi, where *Penicillium*, *Aspergillus* and *Fusarium* were the most prevalent genera. In the air conditioning microbiota, 311 UFCs, and the genera *Penicillium*, *Aspergillus* and *Cladosporium* were the most found, however, *Trichoderma* and *Chrysonilia* also had a large extent of growth. The greatest number of CFUs in ambient air was isolated in laboratory 5, while the samples of air conditioners were more contaminated in laboratory 2. In order to reduce contamination in laboratories, it is necessary to implement measures such as: greater regularity in cleaning and incentive to use of personal protective equipment.

**Keywords:** Anemophilous fungi; Environmental Microbiota; Acclimatized environments.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Bancada onde foram posicionadas as placas para coleta do ar ambiente.....22
- Figura 2.** Cultura central que proporciona isolamento dos fungos, facilitando identificação do gênero..... 24
- Figura 3.** Quantitativo de Unidades Formadoras de Colônias de fungos filamentosos e leveduriformes isolados nas coletas nos laboratórios de pesquisa do Instituto de Ciências Farmacêuticas da UFAL..... 25
- Figura 4.** Fungos isolados do ar ambiente e dos ares-condicionados nos laboratórios de pesquisa do ICF-UFAL..... 26
- Figura 5.** Aspectos microscópicos obtidos através do microcultivo em ágar lactrimel. Conídios de *Aspergillus*, *Curvularia*, *Fusarium* e *Penicillium*. ..... 27
- Figura 6.** Distribuição das unidades formadoras de colônia isoladas do ar ambiente e dos ares condicionados por laboratório de pesquisa do ICF-UFAL. .... 29
- Figura 7.** Placa contendo colônias incontáveis do gênero *Trichoderma*. ..... 30
- Figura 8.** Distribuição das placas com incontáveis colônias identificando o gênero predominante das coletas dos ares-condicionados situados nos Laboratórios de Pesquisa do ICF-UFAL. .... 30

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b> Periodicidade dos procedimentos de limpeza e manutenção dos componentes do sistema de climatização. ....	19
<b>Quadro 2.</b> Identificação dos laboratórios.....	23

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Distribuição dos gêneros fúngicos isolados dos ares – condicionados de acordo com o laboratório de coleta. ....	28
--	----

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	10
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	12
2.1 Aspectos gerais dos fungos .....	12
2.2 Fungos Anemófilos.....	14
2.3 Ambientes climatizados e seus impactos .....	18
2.4 Aspectos legais dos ambientes climatizados.....	20
3. OBJETIVOS .....	22
3.1 Objetivo Geral.....	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
4.1 Caracterização do ambiente de estudo.....	23
4.2 Coleta do material microbiológico.....	23
4.2.1 Amostras do ar - ambiente .....	23
4.2.2 Amostras do ar-condicionado.....	24
4.3 Identificação das amostras .....	24
4.4 Identificação dos fungos .....	25
4.4.1 Identificação macroscópica dos fungos.....	25
4.4.2 Identificação microscópica dos fungos .....	26
5. RESULTADOS .....	26
6. DISCUSSÃO .....	33
7. CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS .....	41

## 1. INTRODUÇÃO

Em torno de metade dos habitantes do mundo, segundo estimativa da Organização Mundial da Saúde, sente os efeitos da má qualidade do ar interior, sendo os sistemas cardiovascular e respiratório os mais atingidos, tornando este tema um ponto importante na satisfação e saúde da população (NUNES, 2013). Embora o ar interno derive do ar exterior, determinadas pesquisas realizadas, tanto em âmbito nacional quanto internacional, mostraram a presença bem maior de contaminantes no ambiente interior (até dez vezes maiores), sendo a “baixa troca de ar” proporcionada por esses sistemas de ar-condicionado a responsável pela maior contaminação interna (BRICKUS & NETO, 1999).

A ocorrência da Síndrome dos Edifícios Doentes (SED) pode estar relacionada a determinadas causas: distribuição ineficiente do ar, projeto e modificações não adequadas após a construção, a escassez de ar exterior, controle inadequado de temperatura e ausência de revisão e higiene nos sistemas de climatização. A respeito dos impactos da poluição do ar interno, a Organização Mundial da Saúde (OMS) avaliou a influência de uma gama de fatores de risco a doenças e atestou que a má qualidade do ar interno é o oitavo fator de maior importância, tornando-se causa de 2,7% de doenças no mundo (WHO, 2020).

Fungos, bactérias, vírus, fezes de ratos e de pássaros, partes de insetos e ácaros podem ser fontes de contaminação biológica (NEVALAINEN & SEURI, 2005; KHAN & KARUPPAVIL, 2010). Os fungos são seres universalmente difundidos e são considerados um grande risco a saúde pública em ambientes internos (SAMET & SPENGLER, 2003; KHAN, 2009). Aqueles que possuem como forma de dispersão o ar são chamados de fungos anemófilos, e pertencem a esse grupo diversos gêneros que podem colonizar diferentes ambientes, dispersando suas estruturas reprodutivas (SIDRIM & MOREIRA, 1999).

Quase todos os substratos naturais e sintéticos podem ser utilizados pelos fungos para seu crescimento, principalmente se forem úmidos ou higroscópicos. Os materiais de fontes inorgânicas são contaminados a partir do momento que acumulam poeira e servem de meio para fungos como *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus versicolor* (SAMET & SPENGLER, 2003). Já outros materiais, como a madeira, são seriamente suscetíveis à colonização por fungos. *Penicillium* e *Cladosporium* são gêneros citados como contaminantes de madeira utilizadas em construções (SAILER *et al.*, 2010).

Estudos de amostragem do ar ambiente utilizando meios de cultura identificaram principalmente *Aspergillus*, *Alternaria* e *Penicillium* como os fungos mais encontrados nas

casas (ADAMS *et al.*, 2016). Em outra pesquisa, realizada por Dallongeville *et al.* (2015), em 160 lares da França, *Cladosporium* e *Penicillium* foram isolados em mais de 90% das residências, *Aspergillus* em 46% e *Fusarium* em 6%. A relação entre crescimento dos fungos e a estação do ano também foi avaliada neste estudo, onde os autores perceberam que *Penicillium* e *Aspergillus* aumentavam suas concentrações em estações frias, enquanto *Cladosporium*, *Alternaria* e a concentração total de fungos seguiam o sentido inverso.

Os sistemas de climatização podem ser considerados uma alternativa para conter a contaminação microbiana de ambientes internos. Entretanto, se forem operados ou projetados de forma indevida, a concentração de partículas poluentes no interior sofrerá um acréscimo, aumentando o risco de exposição para os ocupantes (MENDELL *et al.*, 2008).

Com o crescente uso de aparelhos de ar condicionado nos ambientes de trabalho, de estudo e nas residências, aumentou o número de pessoas expostas a desenvolver processos alérgicos decorrentes de contaminações fúngicas. Com isso, a investigação da microbiota dos ambientes climatizados é de grande importância, pois a proliferação exacerbada de patógenos no ar podem afetar negativamente a saúde e bem-estar dos ocupantes.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Aspectos gerais dos fungos

Fungos são organismos eucariontes, não fotossintetizantes, geralmente imóveis e que possuem, envolvendo suas células uma parede celular rígida, nesta célula eucarionte também é encontrado pelo menos um núcleo, uma membrana nuclear, mitocôndrias, retículo endoplasmático e aparelho excretor (BROOKS *et al.*, 2014), em algumas espécies, além das estruturas já citadas, pode existir uma cápsula, útil em seus processos de patogênese (ZAITZ *et al.*, 2010). A parede celular tem em sua composição basicamente proteínas, lipídeos, quitina, glucanas e mananas; estando as mananas e as glucanas combinadas com as proteínas, formando as glicoproteínas, manoproteínas e glicomanoproteínas. A composição da parede celular pode sofrer alterações a depender da idade do fungo, da espécie, da temperatura, do pH e da constituição do substrato de crescimento (ZAITZ *et al.*, 2010).

Quanto à membrana plasmática dos fungos, esta é composta por ergosterol, tal como o colesterol está na membrana de células animais, executando um papel fundamental na regulação de sua fluidez e permeabilidade (MOREIRA, LOPES & CARVALHO, 2004). Em relação à respiração, grande parte dos fungos é aeróbio, embora haja aqueles que sejam facultativamente anaeróbios (fermentativos). Bioquimicamente, produzem tanto metabólitos primários (ácido cítrico, etanol, glicerol), quanto secundários (penicilina e micotoxinas) (MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2010). O glicogênio é a forma de armazenamento de glicose dos fungos, para o uso em seu metabolismo (VOET, VOET & PRATT, 2014).

Com relação à morfologia, os fungos se apresentam de duas formas principais: fungos filamentosos (mofos ou bolores) e leveduras. O primeiro grupo cresce como hifas, que são filamentos que se ramificam, medindo de 2 a 10  $\mu\text{m}$  de diâmetro. As hifas dos fungos filamentosos podem ser hialinas ou demáceas; as hialinas são aquelas que apresentam coloração clara, já as demáceas se mostram em tonalidade escura ou negra; as hifas se entrelaçam e dão origem aos micélios; já as leveduras possuem forma esférica ou oval de 3 a 5  $\mu\text{m}$  de diâmetro; existe ainda um terceiro grupo chamado de dimórfico, que se apresentam

tanto na forma de bolores como de leveduras, sendo fatores ambientais os responsáveis pela morfologia que eles irão apresentar (QUINN *et al.*, 2005; OLIVEIRA, 2014).

O micélio se apresenta de duas formas diferentes: o micélio reprodutivo, que possui função de reprodução e disseminação da espécie, por meio da formação dos esporos, também chamados de propágulos fúngicos, e o micélio vegetativo, responsável pela função de crescimento da espécie. O micélio vegetativo pode ser septado ou não, quando não septado é denominado de cenocítico. O micélio reprodutivo por sua vez, além da já citada perpetuação da espécie por meio dos esporos, é importante na identificação das espécies fúngicas. Em algumas espécies os esporos também podem ser produzidos no micélio vegetativo, recebendo o nome de esporos sésseis (ZAITZ *et al.*, 2010).

Leveduras se diferenciam dos fungos filamentosos também pela sua forma de divisão celular, seu processo se dá através de brotamento simples, brotamento – fissão ou por divisão binária (SIDRIM & ROCHA, 2012). Os fungos filamentosos se propagam pela produção de esporos, tanto de forma sexuada como de forma assexuada; estes esporos podem ser carregados por longas distâncias tendo como transporte o vento e a água, caso encontrem um meio que favoreça seu crescimento, ele germinará e dará origem a um novo micélio (REECE *et al.*, 2015).

Os esporos são originários de uma célula denominada célula esporângica, e ficam localizados dentro de uma bolsa, o esporângio. A célula esporângica deriva de células componentes das hifas – as estruturas de frutificação – que além da célula esporângica, origina também as células conidigênicas, destas são derivados os conídios, onde nestes não há a presença de um envoltório, como nos esporos, o que permite que os conídios desde quando formados, sejam livres para se soltarem das hifas e assim originar um novo fungo. As células conidigênicas possuem aspectos morfológicos próprios para cada espécie, o que se torna uma ferramenta importante na identificação dos fungos filamentosos (SIDRIM & ROCHA, 2012).

Segundo a taxonomia, a classificação dos fungos se dá por meio da morfologia, onde os organismos com caracteres comuns são reunidos no mesmo grupo. Devido à complexidade dos fungos, a classificação taxonômica passa por diversas modificações, e atualmente, não há uma unanimidade entre os pesquisadores desta área. Técnicas de biologia molecular vêm sendo empregadas na classificação dos fungos, o que acarreta em novas informações nos estudos taxonômicos do Reino Fungi. Quatro divisões para este reino são utilizadas por uma das

classificações vigentes; Chytridiomycota, Zygomycota, Basidiomycota e Ascomycota (ZAITZ *et al.*, 2010).

Cerca de 80.000 espécies fúngicas já foram descritas, destas, aproximadamente mais de 400 são alvos de estudo médico, onde, a grande parte das infecções fúngicas que atingem animais e humanos são ocasionadas por menos de 50 espécies destes organismos. Entretanto, os fungos também são responsáveis por ações benéficas à natureza e aos seres humanos, contribuindo para a fabricação de bebidas alcoólicas, como o vinho, na produção de alimentos como o queijo e o pão e no desenvolvimento de medicamentos, tais como a penicilina e a ciclosporina (BROOKS *et al.*, 2014).

## **2.2 Fungos Anemófilos**

Existem diversas vias de dispersão dos fungos na natureza; o ar, a água, os insetos, os animais e o homem são as principais. Anemófilo é o nome dado aos fungos que se dispersam através do ar atmosférico, podendo a microbiota ser variável ou não quando se avaliam cidades ou regiões diferentes (MEZZARI *et al.*, 2003). Dificilmente existirá um meio ambiente isento de contaminação por fungos, pois o ar atmosférico é o principal meio desses fungos, onde resistem a variações de pH, temperatura, umidade e concentração de oxigênio, facilitando deste modo, que sejam encontrados em qualquer lugar que possibilitem seu crescimento (LACAZ *et al.*, 2002).

Os elementos fúngicos mais abundantes na atmosfera são os esporos, que ao serem inalados, podem causar problemas respiratórios, tais como: sinusite, asma e rinite; motivo pelo qual são considerados aeroalérgenos (ARAÚJO *et al.* 1999, BELMIRO, 2012). Em indivíduos suscetíveis, pode ocorrer irritação alérgica devido à presença de compostos voláteis orgânicos no ambiente, estes compostos são metabólitos fúngicos que tem o cheiro característico de mofo, podendo sinalizar o crescimento desses microrganismos no ambiente (GUNSCHERA *et al.*, 2004). Uma base de dados que agrupa informações sobre compostos voláteis orgânicos e compostos voláteis orgânicos microbiológicos (LEMFACK *et al.*, 2014), listou cerca de 300 destes compostos, os principais são: alcoóis, benzenóides, aldeídos, alcenos, ácidos, ésteres, terpenóides e cetonas.

Os fungos anemófilos pertencem a várias espécies e gêneros, onde quase todos são contaminantes do ar, sendo facilmente encontrados em ambientes fechados, podendo ocasionar vários danos em animais e plantas. (SIDRIM & MOREIRA, 1999; BERNARDI *et al.*, 2006). Entre os grupos de fungos anemófilos que liberam esporos no ar e são capazes de provocar reações alérgicas estão os das classes Ascomycetes, Zygomycetes, Hyphomycetes e Basidiomycetes. Os Ascomycetes são representados pelos gêneros *Chaetomium*, *Leptosphaeria* e *Venturia*. Os Zygomycetes são representados pelos gêneros *Mucor* e *Rhizopus*, os Hyphomycetes têm como principais exemplos os gêneros *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium* entre outros e finalmente, os Basidiomycetes, têm como representantes fungos patógenos de plantas (MEZZARI, 2002).

Os principais gêneros de fungos que utilizam o ar como meio de dispersão e que são considerados como os principais responsáveis por problemas respiratórios, são: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* entre outros (BERNARDI & NASCIMENTO, 2005; SOUZA *et al.*, 2008; SOUZA *et al.* 2010, PEREIRA *et al.* 2013). Segue abaixo, uma breve descrição das principais espécies anemófilas:

#### **Fungos Anemófilos Filamentosos**

- *Alternaria* spp: Possui distribuição universal, sendo considerado contaminante de matéria em decomposição. Causador ocasional de lesões de pele, osteomielite, ceratomicose, infecções no septo nasal e distúrbios pulmonares, na maioria das vezes causada por contágio acidental. Os conídios se mostram com divisões horizontais e verticais e base com formato de baguete com as extremidades afiladas. (ZOPPAS, 2005).
- *Aspergillus* spp: As espécies desse gênero são encontradas em todos os ambientes, como o solo, a água e o ar, havendo crescimento em uma grande variedade de materiais de origem orgânica (VANDEWOUDE *et al.*, 2006). Os exemplares dessa espécie possuem conídios pequenos, rugosos, ou lisos que facilmente são inalados, ocasionando contaminação em pacientes sensíveis, atingindo também pacientes com feridas e traumas, imunodeprimidos, diabéticos, entre outros (SIDRIM, CORDEIRO & ROCHA, 2004).

- *Cladosporium* spp: Este gênero apresenta espécies que são comumente isoladas do meio ambiente. As colônias deste grupo tem um crescimento lento, levando em média 21 dias para amadurecer; os conídios de *Cladosporium* spp podem se apresentar de duas formas: os basais podem ser bicelulares e prolongados, já os conídios das cadeias podem apresentar uma ou mais células, lisos ou proeminentes, globosos ou elipsoides, possuindo uma fissura pigmentada muito característica do gênero. Apesar de grande parte das espécies serem relatadas somente como contaminantes, alguns casos de feo-hifomicoses superficiais, feo – hifomicoses profundas e cromomicoses têm sido atribuídos a espécies de *Cladosporium* (SIDRIM & ROCHA, 2012).
- *Curvularia* spp: Os conídios deste gênero são alongados e elipsoides, possuindo de três a quatro septos transversais. Ademais, como o nome do gênero indica, os conídios são comumente curvados, devido a uma célula central assimetricamente distendida; a maioria das espécies deste gênero é patógena de plantas; entretanto, há relatos de infecções locais e disseminadas, acometendo o endocárdio, septo nasal, seios paranasais e locais de inserção de cateter, além de pele, tecidos subcutâneos, ossos, córnea e trato respiratório inferior (PITT & HOCKING, 2009; MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2005).
- *Fusarium* spp: Estes fungos fazem parte do grupo dos Ascomycotas. Filamentosos, são encontrados no solo e causam contaminação em vegetais, como bulbo de plantas e tomates. Ao crescerem, formam extensas coberturas de hifas tendo seus conídios reconhecidos pelo formato de foice. Uma das espécies deste gênero, o *Fusarium moliniforme* é responsável pela produção de uma micotoxina, a fumonisina, onde o milho é o principal produto afetado por esta toxina que pode causar até a morte em equinos, devido a ocorrência da leucoencefalomalacia, que acarreta em deterioração na substância branca do cérebro, acarretando em óbito. Em humanos, há a suspeita que esta toxina esteja relacionada a neoplasia de esôfago, mas esta ligação ainda não está totalmente elucidada (TORTORA, FUNKE & CASE, 2017; PITT, 2000).

- Micélio aéreo estéril: Fungos imperfeitos que formam um grupo diverso, sendo saprófitos e parasitas, apresentando apenas o estágio de micélio, sem demonstrar conídios. Incluem – se nesta definição os fungos que podem exibir corpos de resistência, que são esclerócios que não possuem conídios endógenos (LACAZ *et al.*, 1998).
- *Penicillium* spp: Este gênero apresenta fungos de crescimento rápido, apresentando maturação aproximadamente em três ou quatro dias. Ao microscópio, mostra um grande número de hifas hialinas septadas, com conidióforos simples ou ramificados, individualizados ou agrupados, hialinos ou parcialmente pigmentados, a célula conidiogênica tem o formato de uma garrafa (fiálides) e os conídios se dispõem em cadeias com diferentes extensões. Centenas de espécies fazem parte deste gênero, sendo necessário, para a identificação correta das espécies, pesquisadores específicos deste grupo. *Penicillium* tem sido relacionado em relatos de ceratite, otites, sinusites, infecções pulmonares, casos de alergia e vários quadros de hialohifomicoses (SIDRIM & ROCHA, 2012).
- *Rhizopus* spp: Colônias com crescimento muito rápido, onde cerca de dois a quatro dias são necessários para atingir a maturação. De textura algodonosa, com crescimento consistente, as colônias apresentam tonalidade branca; entretanto, à medida que ocorre a formação de estruturas de frutificação, a coloração muda para amarelo acastanhada ou cinza. No microscópio, nota-se a presença de largas hifas, com raros septos; típico do grupo dos zigomicetos. Este grupo é o responsável pelo bolor enegrecido que aparece em pães, e pode estar ligado a casos de mucormicose (MADIGAN *et al.*, 2016; SIDRIM & ROCHA, 2012).

### **Fungos Anemófilos Leveduriformes**

- *Candida* spp: Fungo leveduriforme que se diferencia de outras leveduras por apresentar pseudo – hifas ou micélio gemulante. Este gênero é composto de mais de 150 espécies. À vista do microscópio, se apresenta como uma levedura gram – positiva, com formato de ovo e paredes estreitas. As colônias apresentam coloração creme, de aspecto macio e liso. Os meios de cultura normalmente

utilizados (Agar sangue, Ágar Mueller – Hinton e Ágar Sabouraud) são bem aceitos por este gênero, entretanto o crescimento leva alguns dias. *Candida* é o gênero fúngico que mais constantemente causa infecções oportunistas em humanos; habita a microbiota natural da pele, trato digestivo, boca e vagina. (MOREIRA, LOPES & CARVALHO, 2004).

- *Rhodotorula* spp: Leveduras que são isoladas do ar, do solo, da água e de laticínios; possuem baixa habilidade de fermentação e não produzem esporos. Possuem pigmentos de diversas tonalidades (amarela, rosa, laranja e vermelha) que modificam a cor dos alimentos quando contaminados. Encontradas constantemente em infecções de pele, pulmão, fezes e urina (ZAITZ, 2012; EVANGELISTA, 2008).

Haja vista que a descrição de certas doenças que afetam o trato respiratório se torna parcialmente difícil, por causa do desconhecimento a respeito dos fungos aos quais a população se expõe e que a frequência desses fungos serve de indicador microbiológico do nível de qualidade do ar do ambiente, estudos sobre a microbiota anemófila tornam – se de grande importância (PANTOJA, COUTO & PAIXÃO, 2007; MELO, OLIVEIRA & ARAÚJO, 2004).

### **2.3 Ambientes climatizados e seus impactos**

Acompanhando o avanço da tecnologia, o homem passou a moldar o ambiente a sua volta, controlando fatores como a temperatura do ambiente em que reside, assim como o ambiente onde trabalha. É certo que hoje, passam-se muitas horas em locais fechados, o que levou ao desenvolvimento de equipamentos que tornaram mais confortáveis os locais onde o homem realiza suas tarefas. O principal equipamento que trouxe o conforto citado foi o ar – condicionado, desenvolvido em 1902, por Willis Haviland Carrier (SPRINGER CARRIER, 2002), tornando possível controlar fatores como umidade e temperatura, possibilitando que a permanência em ambientes fechados seja mais agradável (CARTAXO *et al.*, 2007; SPRINGER CARRIER, 2002; AFONSO *et al.*, 2006).

É função dos sistemas de climatização fornecer uma Qualidade do Ar Interior em níveis adequados, mantendo as taxas de renovação com o ar exterior. Esta taxa é de grande

importância, visto que nos ambientes climatizados é comum que as pessoas se locomovam para realizarem suas atividades e com isso a quantidade de partículas que são lançadas no ar é de grande extensão, sendo papel dos filtros presentes nos climatizadores a retirada dessas partículas, o que leva a concluir que a manutenção da limpeza dos sistemas de filtragem dos ar – condicionados deve ser realizada de modo a manter o ambiente livre das partículas. O surgimento de doenças infecciosas, respiratórias e alérgicas nos indivíduos que estão em contato direto com os ambientes climatizados é de constante ocorrência, sendo justificada, na maioria das vezes, pela limpeza incorreta dos filtros de ar, que facilitam o aparecimento de micro-organismos como fungos e bactérias (BRASIL, 2003; CARTAXO *et al.* 2007).

Os fungos e bactérias supracitados são denominados bioaerossóis e juntamente com aerodispersóides (poeira) e contaminantes químicos são os principais fatores responsáveis pelo que a OMS (Organização Mundial de Saúde) denominou de Síndrome dos edifícios doentes (SED). Esta síndrome é descrita por esta organização como: “uma situação na qual os ocupantes ou usuários de um prédio específico apresentam sintomas sem origem determinada e sem a possibilidade de constatação de uma determinada etiologia, sendo, portanto, desconhecida” (SCHIRMER *et al.* 2011; WHO, 1989).

Sintomas como espirros, olhos lacrimejantes, tosse e deficiência respiratória, além de doenças como pneumonia, rinite e asma tem sua ocorrência relacionada aos microrganismos encontrados em climatizadores de ar. De modo mais específico, pode-se dizer que as doenças relacionadas aos microrganismos mais encontrados em ambientes climatizados são a legionelose, causada pela bactéria gram-negativa do gênero *Legionella*, a febre do umidificador (causada por toxinas produzidas pelos microrganismos encontrados nos sistemas de ventilação), asma brônquica e pneumonia associada a bactérias (*Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Mycoplasma pneumoniae*, entre outras), vírus e fungos (STRAUZ, 2001, BASTO, 2005; LENZI, MOREIRA & TAVARES, 2007).

As razões que podem levar a Síndrome dos Edifícios Doentes são: distribuição ineficiente do ar, projeto e modificações não adequadas após a construção, a escassez de ar exterior, controle inadequado de temperatura e ausência de revisão e higiene nos sistemas de climatização. A respeito dos impactos da poluição do ar interno, a OMS avaliou a influência de uma gama de fatores de risco a doenças e atestou que a má qualidade do ar interno é o oitavo fator de maior importância, tornando-se causa de 2,7% de doenças no mundo (WHO, 2020).

## 2.4 Aspectos legais dos ambientes climatizados

No Brasil, a conscientização dos riscos ocasionados pela SED veio a partir de 1998, quando o então Ministro das Comunicações, Sergio Motta veio a falecer, onde uma das causas apontadas para o óbito foi a contaminação por bactérias situadas no ar – condicionado; este ocorrido incentivou a criação da Portaria N° 3.523, em 28 de agosto de 1998, pela Agência de Vigilância Sanitária – ANVISA, que autoriza um Regulamento Técnico com medidas básicas no que se tratava a procedimentos de verificação visual da situação de higiene, remoção de impurezas por métodos físicos e manutenção do estado de integridade e eficiência de todos os componentes dos sistemas de climatização, para assegurar a Qualidade do ar de interiores e prevenção de riscos à saúde dos ocupantes de ambientes climatizados (INMETRO ; BRASIL, 2003).

Em 2000, a ANVISA juntamente com outros órgãos tornou público a Resolução 176/00 que define normas referenciais de qualidade do ar de ambientes climatizados de uso coletivo e público e a metodologia a ser aplicada pelas vigilâncias sanitárias no que diz respeito à inspeção da qualidade do ar; a avaliação consiste em coletar amostras do ar do ambiente climatizado com o auxílio de aparelhagem com filtros que contenham meio de cultura, possibilitando a identificação dos microrganismos ali presentes. Os filtros são então incubados e se o parecer final determinar uma quantidade de microrganismos acima do que é preconizado pela OMS – 750 Unidades formadoras de colônia (UFC) por metro cúbico de ar, o ambiente é classificado como impróprio para a saúde (AGÊNCIA SENADO)

A ANVISA lançou em 2003, a revisão da 176/00 com a nomenclatura de Resolução 9/03, a partir desta foi determinado que donos, locatários e administradores de imóveis que contenham ambientes climatizados por sistemas acima de 60.000 Unidades Térmicas Britânicas por hora (BTU/h) tem responsabilidade sobre a qualidade do ar inalado pelos ocupantes; caso a fiscalização realizada pela vigilância atestar que os níveis de contaminação dos ambientes climatizados foram ultrapassados, uma multa será aplicada aos responsáveis com valores que variam de R\$ 2 mil a R\$ 200 mil (AGÊNCIA SENADO)

Outro aspecto que a Resolução 9/03 determina é aquele que estipula prazos para os procedimentos de limpeza e manutenção dos componentes dos sistemas de climatização, como descritos no quadro a seguir:

**Quadro 1** - Periodicidade dos procedimentos de limpeza e manutenção dos componentes do sistema de climatização.

<b>COMPONENTE</b>	<b>PERIODICIDADE</b>
Tomada de ar externo	Limpeza mensal ou quando descartável até sua obliteração (máximo 3 meses)
Unidades filtrantes	Limpeza mensal ou quando descartável até sua obliteração (máximo 3 meses)
Bandeja de condensado	Mensal*
Serpentina de aquecimento	Desencrustação semestral e limpeza trimestral
Serpentina de resfriamento	Desencrustação semestral e limpeza trimestral
Umidificador	Desencrustação semestral e limpeza trimestral
Ventilador	Semestral
Plenum de misturas / Casa de máquinas	Mensal

Legenda: \*Excetuando na vigência de tratamento químico contínuo que passa a respeitar a periodicidade indicada pelo fabricante do produto utilizado.

(BRASIL, 2003)

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Isolar e identificar a microbiota fúngica anemófila do ambiente e de aparelhos de ar – condicionado presentes em sete laboratórios de pesquisa do Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Quantificar os fungos filamentosos e leveduriformes;
- Identificar os fungos filamentosos;
- Traçar perfil epidemiológico dos locais e microrganismos encontrados nos ambientes amostrados.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Caracterização do ambiente de estudo**

O estudo foi executado nos laboratórios de pesquisa do Instituto de Ciências Farmacêuticas (ICF) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL). A primeira coleta contou com apenas seis laboratórios, e a segunda com todos os sete, onde diariamente transitam professores e alunos a fim de realizar suas atividades de estudo; todos os ambientes possuem climatização por meio de ar-condicionado.

### **4.2 Coleta do material microbiológico**

#### **4.2.1 Amostras do ar-ambiente**

Foram realizadas duas coletas, a primeira no mês de Junho de 2019 e a segunda no mês de Setembro de 2019, utilizando placas de Petri descartáveis contendo o meio Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) que foram posicionadas em bancadas de apoio que são comuns em todos os sete laboratórios (Figura 1), sendo este o local escolhido por estar livre da corrente de ar direta que vinha do ar-condicionado e por estar presente em todos os laboratórios. As placas foram abertas e expostas durante 30 minutos, utilizando – se da técnica de sedimentação de esporos. Após este tempo, foram vedadas com plástico filme ou fita zebra adesiva e levadas ao Laboratório de Pesquisa em Tratamento de Feridas (LPTF) situado na Universidade Federal de Alagoas, sendo reservadas à temperatura ambiente ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ) por cerca de sete dias, até o surgimento de colônias isoladas. Ao todo, obteve-se 14 amostras do ambiente.

**Figura 1** - Bancada onde foram posicionadas as placas para coleta do ar ambiente



(AUTOR, 2020)

#### 4.2.2 Amostras do ar-condicionado

As amostras foram colhidas em uma área de 20 cm<sup>2</sup> utilizando-se *swabs* estéreis embebidos em solução fisiológica a 0,9%, as quais foram semeadas por espalhamento radial na superfície do meio ASD para o isolamento de fungos, em seguida, as placas foram incubadas a temperatura ambiente ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ) durante sete dias ou até o surgimento de colônias isoladas.

#### 4.3 Identificação das amostras

A identificação das amostras se deu numerando cada laboratório de acordo com a ordem de alocação dos laboratórios no hall do Instituto de Ciências Farmacêuticas. O quadro com o laboratório e o respectivo número de identificação segue abaixo:

## Quadro 2 - Identificação dos laboratórios

IDENTIFICAÇÃO	NOME DO LABORATÓRIO
LAB 1	Laboratório de Farmacologia Cardiovascular
LAB 2	Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos
LAB 3	Laboratório de Controle de Qualidade
LAB 4	Laboratório de Farmacognosia
LAB 5	Laboratório de Controle de Tecnologia de Medicamentos
LAB 6	Laboratório de Farmacotécnica e Química Farmacêutica
LAB 7	Laboratório de Tecnologia de Nanosistemas Carreadores de Substâncias Ativas

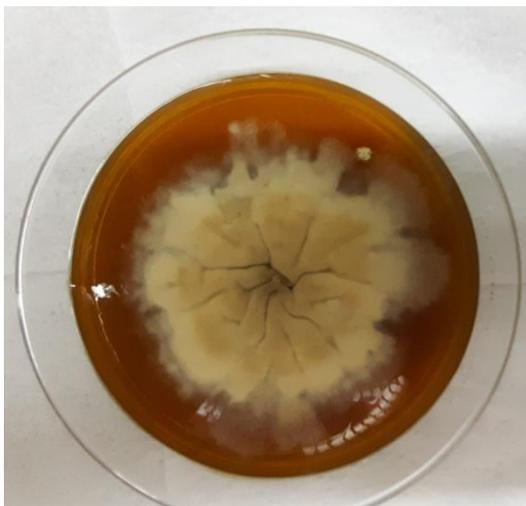
(AUTOR, 2020)

### 4.4 Identificação dos fungos

#### 4.4.1 Identificação macroscópica dos fungos

Passados sete dias de incubação, iniciou – se a classificação dos fungos levando-se em consideração os aspectos macroscópicos das colônias, classificando – as de acordo com o aspecto que se apresentavam na Placa de Petri, como por exemplo: algodonoso, pulverulento, cerebriforme, rugoso, mucóide. A fim de tornar a identificação mais precisa, efetuou-se a cultura central (Figura 2) de algumas espécies, esta técnica consiste em inocular um fragmento de um fungo em uma placa de Petri pequena contendo Ágar Sabouraud Dextrose, como apenas uma espécie foi posta no meio, ela cresce livremente, o que torna as características morfológicas dos fungos mais evidentes (textura, formato, coloração).

**Figura 2** - Cultura central que proporcionou isolamento dos fungos, facilitando identificação do gênero.



(AUTOR, 2020)

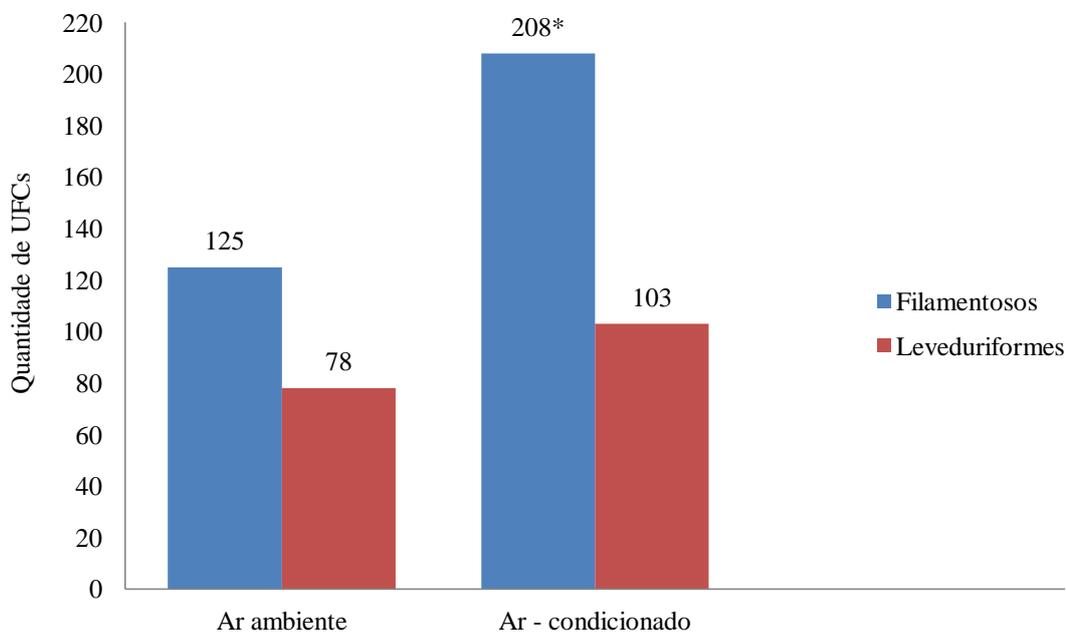
#### 4.4.2 Identificação microscópica dos fungos

Realizou – se a técnica do microcultivo utilizando ágar lactrimel (NEUFELD, 1999; LACAZ *et al.*, 2002), que proporcionou a esporulação dos fungos e a identificação dos gêneros por meio das estruturas de reprodução, além da observação das hifas, com presença ou não de septos e se são demáceas ou hialinas, comparando com a metodologia utilizada por Otcenasek & Dvorak (1973), Rebell & Taplin (1974), Elewski (1992), Hoog *et al.* (2000), Lacaz *et al.* (2002), Sidrim & Rocha (2010), Zaitz *et al.* (2010) e Mycobank (2018). Após a preparação das lâminas, as mesmas foram coradas com o corante azul lactofenol de algodão.

## 5. RESULTADOS

Ao total, 203 UFCs do meio ambiente foram isoladas, enquanto nas amostras dos aparelhos de ar condicionado, 311 UFCs. Tanto no ar ambiente como no ar-condicionado houve um predomínio dos fungos filamentosos perante os leveduriformes, como podemos observar na Figura 3.

**Figura 3** - Quantitativo de Unidades Formadoras de Colônias contáveis de fungos filamentosos e leveduriformes isolados nos laboratórios de pesquisa do Instituto de Ciências Farmacêuticas da UFAL.



Legenda - \*: valor correspondente somente às placas com UFC contáveis

(AUTOR, 2020)

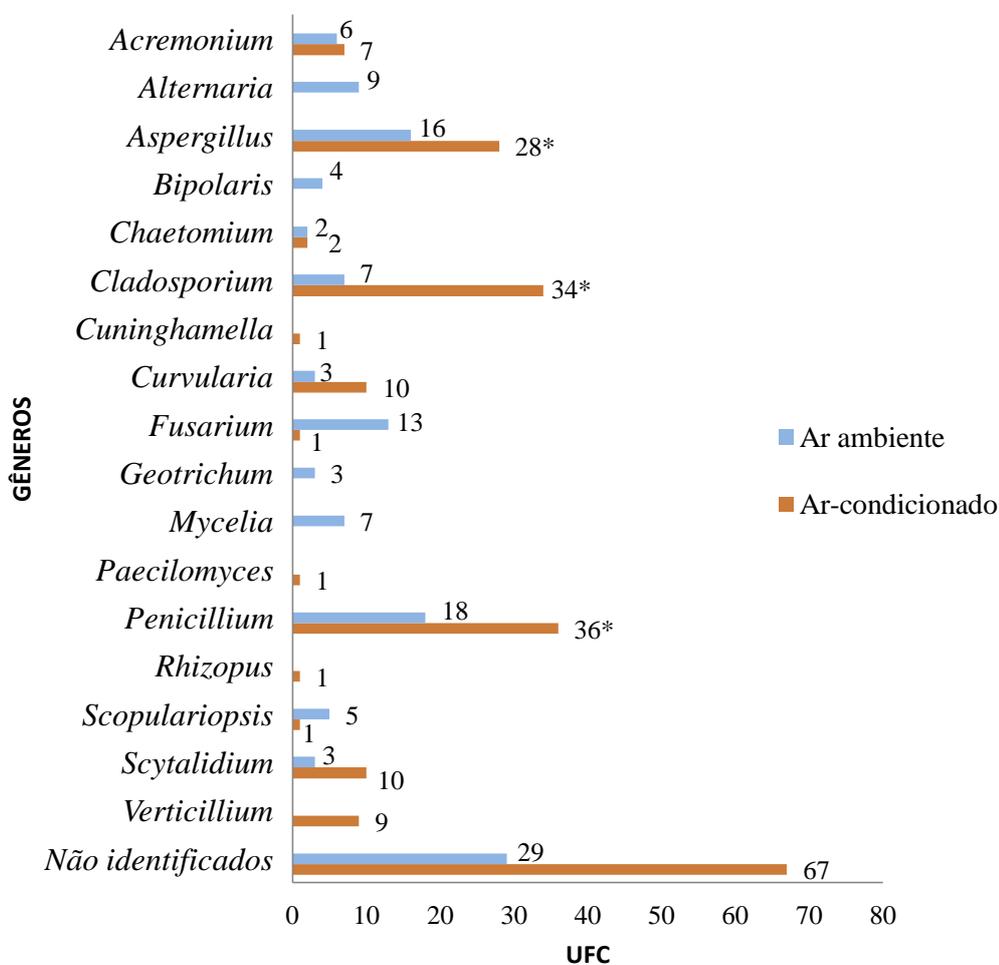
Ao todo, foram identificados nas coletas do ar ambiente, 13 gêneros fúngicos. Vale ressaltar que das 125 UFCs de fungos filamentosos isoladas, apenas 96 destas foram passíveis de identificação, pois, algumas não tiveram crescimento ideal no meio ágar Sabouraud, o que impossibilitou a identificação.

Do total isolado do ar-condicionado, 67 colônias filamentosas contáveis não foram identificadas pelo gênero (32,21%), fato que também ocorreu com as amostras do ambiente. Do grupamento Incontável, 2 das 12 (16,66%) não foram passíveis de identificação, quanto as 181 colônias leveduriformes, estas não foram identificadas quanto ao gênero, pois o trabalho teve enfoque quanto ao gênero somente nos fungos filamentosos, visto que esses estão fortemente associados à contaminação de ambientes, ocasionando processos alérgicos.

Foram identificados nos aparelhos de climatização, 15 gêneros fúngicos dentre as UFCs contáveis e incontáveis. No primeiro grupo, 13 gêneros, em ordem decrescente de UFCs isoladas: *Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Curvularia*, *Scytilidium*, *Acremonium*, *Chaetomium*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Rhizopus* e *Scopulariopsis*. A Figura 4 mostra uma

representação gráfica dos gêneros fúngicos das UFCs contáveis isoladas do ar ambiente e dos aparelhos de ar-condicionado dos laboratórios de pesquisa do ICF/UFAL.

**Figura 4** – Fungos filamentosos isolados do ar ambiente e dos ares-condicionados nos laboratórios de pesquisa do ICF-UFAL.

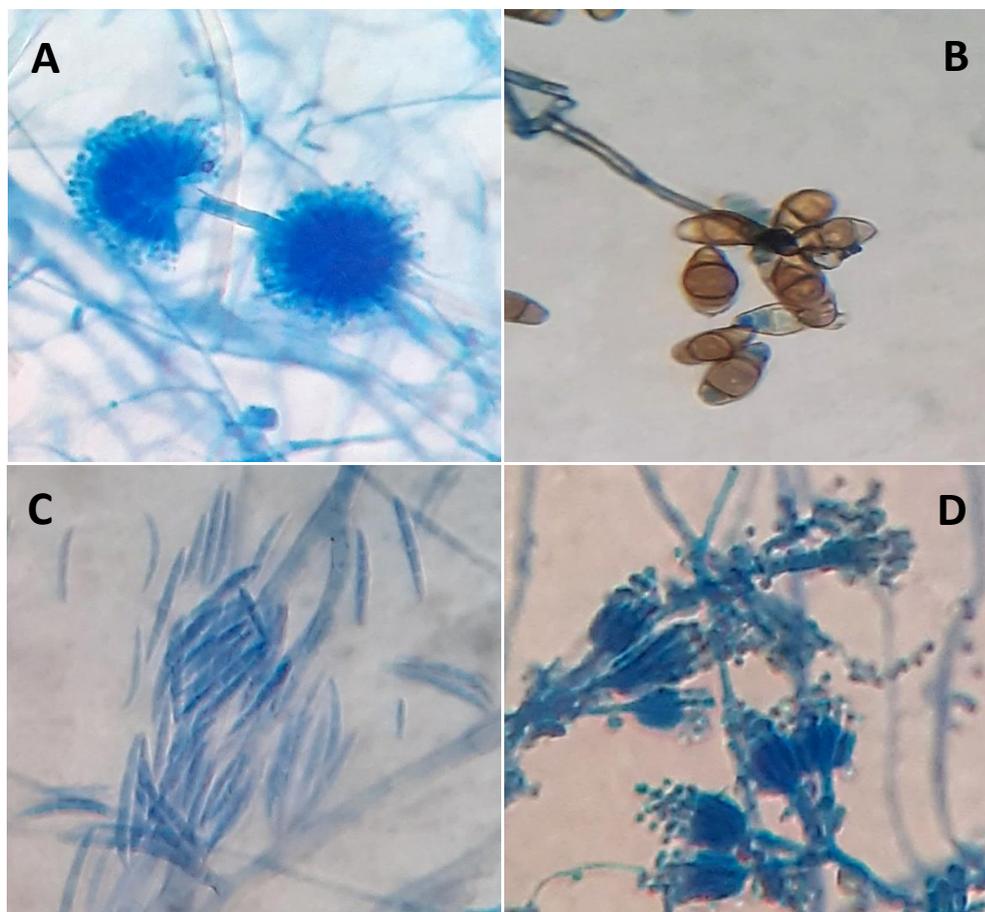


Legenda - \*: valor correspondente somente as placas com UFC contáveis.

(AUTOR, 2020)

A Figura 5 representa imagens das microscopias realizadas através do microcultivo em ágar lactrimel; através da análise dessas imagens pode-se identificar com precisão os gêneros fúngicos isolados nas coletas.

**Figura 5** - Aspectos microscópicos obtidos através do microcultivo em ágar lactrimel. Conídios de *Aspergillus* (A), *Curvularia* (B), *Fusarium* (C) e *Penicillium* (D).



(AUTOR, 2020)

Outro aspecto relevante dos resultados é a comparação que pode ser realizada entre a quantidade de colônias de determinado gênero encontrada em cada laboratório. Como cada laboratório executa uma determinada atividade, com insumos, materiais, métodos próprios, é comum que a microbiota não seja a mesma para todos os ambientes, variando nos gêneros isolados e na quantidade encontrada. É certo que alguns gêneros por serem ubíquos no ambiente, como *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* e *Penicillium* são mais facilmente isolados em todos os ambientes, entretanto outros como *Trichoderma* e *Verticillium* surgem das condições que o meio proporciona a seu crescimento e reprodução.

A Tabela 1 representa a distribuição dos gêneros fúngicos isolados do ar ambiente e dos ares-condicionados de acordo com o laboratório de coleta.

**Tabela 1** - Distribuição dos gêneros fúngicos isolados do ar ambiente e dos ar-condicionados de acordo com o laboratório de coleta.

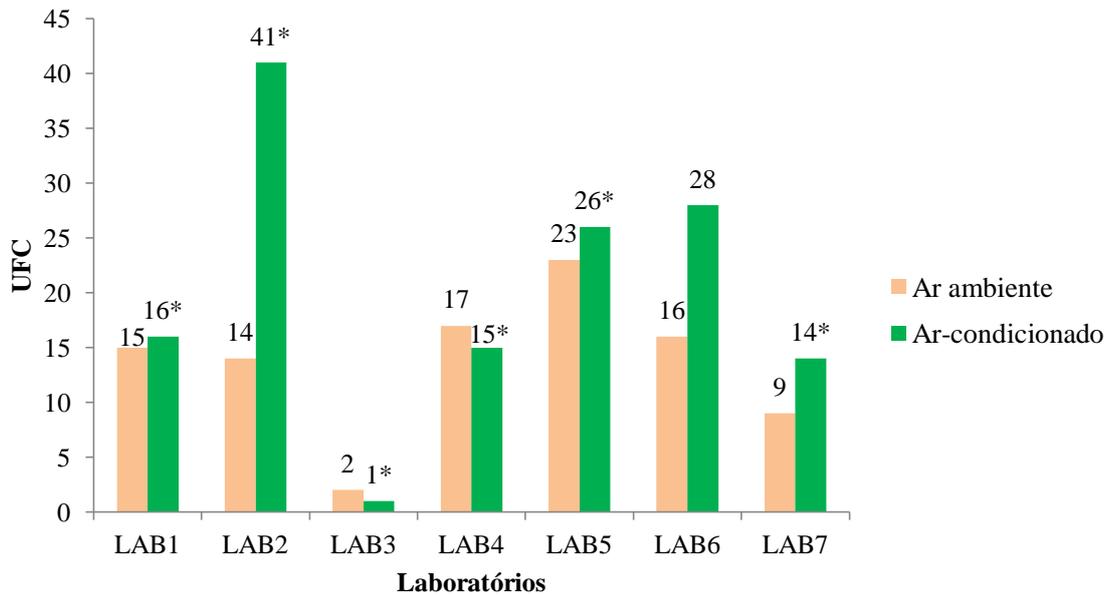
GÊNEROS	LAB1		LAB2		LAB3		LAB4		LAB5		LAB6		LAB7		TOTAL
	AA	AC	AA	AC	AA	AC	AA	AC	AA	AC	AA	AC	AA	AC	
<i>Acremonium</i>	4	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	5	0	1	13
<i>Alternaria</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	7	0	0	0	1	0	9
<i>Aspergillus</i>	1	9	2	6	0	0	0	2*	6	0	1	11	6	0	44*
<i>Bipolaris</i>	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	4
<i>Chaetomium</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	4
<i>Chrysonilia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**	**
<i>Cladosporium</i>	0	1*	2	**	0	**	1	3	0	26*	4	4	0	0	41*
<i>Cunninghamella</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Curvularia</i>	1	4	1	2	0	0	0	0	0	0	1	4	0	0	13
<i>Fusarium</i>	3	0	0	0	0	0	4	0	0	0	6	1	0	0	14
<i>Geotrichum</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	3
<i>Mycelia</i>	1	0	0	0	0	0	4	0	0	0	1	0	1	0	7
<i>Paecilomyces</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Penicillium</i>	0	**	6	31	1	0	2	1*	7	0	1	0	1	4	54*
<i>Rhizopus</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Scopulariopsis</i>	3	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	6
<i>Scytalidium</i>	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	9	13
<i>Trichoderma</i>	0	**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**
<i>Verticillium</i>	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	9
<b>TOTAL</b>	15	16*	14	41*	2	1*	17	15*	23	26*	16	28	9	14*	237

Legenda - AA: Ar ambiente; AC: Ar-condicionado; \* valor correspondente somente as placas com UFC contáveis; \*\* UFC incontáveis.

(AUTOR, 2020)

A Figura 6 representa um comparativo entre os laboratórios levando em consideração a quantidade contável de UFCs. É interessante perceber a disparidade entre a quantidade de UFCs encontradas entre os laboratórios, principalmente nas amostras dos aparelhos de ar-condicionado.

**Figura 6** - Distribuição das unidades formadoras de colônias isoladas do ar ambiente e dos ares condicionados por laboratório de pesquisa do ICF – UFAL.



Legenda - \*: valor correspondente somente às placas com UFC contáveis.

(AUTOR, 2020)

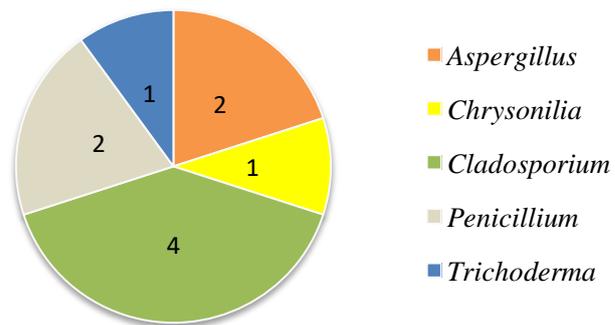
Quanto às colônias incontáveis, a Figura 7 representa uma placa com colônias incontáveis e a Figura 8 mostra a distribuição das placas que continham colônias incontáveis.

**Figura 7** - Placa contendo colônias incontáveis do gênero *Trichoderma*.



(AUTOR, 2020)

**Figura 8** - Distribuição das placas com incontáveis colônias identificando o gênero predominante das coletas dos ares-condicionados situados nos Laboratórios de Pesquisa do ICF – UFAL.



(AUTOR, 2020)

## 6. DISCUSSÃO

Os resultados encontrados estão de acordo com o que foi descrito por Cabral (2010) que identificou *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Neurospora* e *Alternaria* como gêneros fúngicos comumente isolados no ar.

Souza (2009) realizou um estudo envolvendo a microbiota da UTI Neonatal e dos recém – nascidos no Hospital Universitário Alberto Antunes (HUPAA – UFAL) encontrando similaridades com o que foi isolado nos laboratórios de pesquisa. Gêneros como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Bipolaris*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Mycelia sterilia*, *Scopulariopsis* e *Scytalidium* foram isolados tanto no ambiente hospitalar quanto no laboratorial.

Stryjakowska-Sekulska *et al* (2007) ao investigar a Qualidade do Ambiente Interno (QAI) da cidade polonesa Poznán, identificou frequentemente *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Cladosporium* spp. e *Alternaria* spp. O estudo realizado por Martins (2016) identificou *Aspergillus* como o maior contaminante de superfícies como bancadas e capela de fluxo de laboratórios de microbiologia de uma instituição de ensino superior, neste mesmo estudo, o gênero *Fusarium* foi isolado majoritariamente de ambientes como sala e cozinha. *Penicillium*, *Aspergillus* assim como *Curvularia* segundo Agarwal & Chakrabarti (2010) são os primeiros a contaminar superfícies e interiores.

O estudo realizado por Venceslau *et al.* (2012) também encontrou *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* como principais contaminantes do ar em um hospital; entretanto, ao contrário do nosso estudo, *Aspergillus* foi o gênero mais isolado, seguido de *Penicillium*. Em comum, *Fusarium* foi, em ambas as pesquisas, o terceiro gênero mais identificado. Teixeira *et al.* (2020) ao analisar a microbiota da Central de Material e Esterilização de um hospital da região noroeste paulista, utilizando a mesma técnica que foi empregada na UFAL, encontrou resultados em conformidade com o que foi encontrado neste trabalho; *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium* em ambos os estudos, foram, em ordem decrescente, os gêneros mais isolados.

Bibliotecas e áreas públicas no Brasil, e fora dele, foram alvos de investigação cujos resultados estão em conformidade com o que foi encontrado nos laboratórios de pesquisa;

*Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Scopulariopsis* e *Trichoderma* foram gêneros identificados em ambos os espaços, indicando-os como prováveis patógenos de doenças oportunistas e agravos de saúde pública (TOLOZA-MORENO; LIZARAZO-FORERO; BLANCO-VALBUENA, 2012; ALMEIDA *et al.*, 2019).

A propagação de fungos é um tema importante em razão da produção de micotoxinas. Certas espécies de fungos filamentosos, quando situadas em condições ideais de temperatura, umidade e oxigênio crescem metabolizando compostos secundários que podem causar uma série de efeitos tóxicos (micotoxinas), que podem atingir animais e humanos – fungos dos gêneros *Aspergillus* (principalmente *A.flavus* e *A. parasiticus*) e *Penicillium* (principalmente *P. citrinum* e *P. chrysogenum*) são exemplos de produtores dessas toxinas (PELUQUE, 2014; FRISVAD *et al.*, 2004).

*Fusarium*, gênero isolado em nosso estudo, é um fungo ubíquo, e patógeno de plantas, entretanto, tem grande importância clínica, pois, ocasionam diversas manifestações clínicas que acometem tanto tecidos superficiais como profundos – como exemplo podemos citar: ceratites, onicomicoses e micetomas; pacientes imunodeprimidos, são afetados por infecções invasivas (SIDRIM, CORDEIRO & ROCHA, 2004).

Esporos de *Alternaria* e *Cladosporium*, oriundos de exposição externa, foram associados a casos de sensibilização atópica e asma. Uma série de estudos com crianças e adultos mostrou que o aumento na concentração de fungos na atmosfera foi associado a um maior número de internações e atendimentos de emergência em decorrência de crises asmáticas (DALES *et al.*, 2000; AGGARWAL & CHAKRABARTI, 2013).

*Bipolaris* é um gênero fúngico geralmente isolado em restos de plantas e no solo; podendo ser causador de feohifomicoses. As principais espécies isoladas são: *Bipolaris spicifera*, *B.australiensis* e *B.hawaiiensis*. Relatos de infecções ocasionadas por este gênero envolvem ceratite, peritonite, sinusite e endoftalmite (REVANKAR & SUTTON, 2010). Em uma revisão de 101 casos de feohifomicoses que envolviam o sistema nervoso central, 6 foram causados por *Bipolaris*; destes, 3 foram meningites, 2 abscessos cerebrais e 1 encefalite; em relação ao estado dos pacientes, 2 eram imunocomprometidos, 1 passava por intervenção neurocirúrgica, 1 teve trauma de cabeça e 2 eram imunocompetentes (REVANKAR, SUTTON & RINALDI, 2004).

Menezes *et al.* (2004) analisou a influência de diversos gêneros de fungos anemófilos na ocorrência de alergias respiratórias na cidade de Fortaleza. Como resultado, percebeu que

dos pacientes que possuíam condições alérgicas (asma e rinite) 60% deles tiveram resposta positiva a *Mycelia sterilia* e *Cladosporium* e 18% tiveram reação positiva a *Rhizopus*.

*Acremonium*, antigamente denominado como *Cephalosporium*, abrange cerca de 150 espécies, onde a maioria delas causam infecções oportunistas em animais e humanos, tais como onicomioses e eumicetomas. Infecções cutâneas e ceratites são os principais casos descritos, apesar de infecções sistêmicas e pneumonia serem raramente relatadas, e quando são, estão envolvidas com pacientes em condição de imunodeficiência; tais como neutropenia, transplante ou neoplasias malignas (FINCHER, *et al.*, 1991; RODRÍGUEZ & RAMOS, 2014).

Fungos do gênero *Geotrichum*, isolado nesta pesquisa, se encontram usualmente em meios nutricionalmente ricos e substratos líquidos, como por exemplo, efluentes industriais, matéria vegetal em processo de decomposição, polpas e uma variedade de alimentos. A espécie *Geotrichum candidum* apresenta diversas cepas que são capazes de sintetizar enzimas que agem em proteínas, lipídeos e celulose. Tal como descrito para outras espécies fúngicas citadas neste trabalho, *Geotrichum* pode ocasionar certos problemas de saúde em pacientes imunodeprimidos. *G.candidum* foi relacionado com infecções de córnea, íleo, língua, unha, corrente sanguínea, pele e nos brônquios (BOTHA & BOTES, 2014).

Em relação a *Scytalidium*, Xavier *et.al.*, (2010) ao analisar os aspectos epidemiológicos de onicomioses e micoses situadas em outras localizações, avaliou 81 amostras positivas para *Scytalidium* de pacientes do Rio de Janeiro durante os anos de 1997 a 2006 e constatou que a faixa mais afetada eram indivíduos de 41 a 60 anos, ao microscópio, as estruturas que mais eram evidentes eram as hifas septadas e hialinas, quanto ao local da infecção, os pés foram os mais afetados. A espécie que teve mais prevalência foi a *S.dimidiatum*. Por fim, as mulheres apresentavam mais casos de onicomioses enquanto os homens, lesões cutâneas.

Segundo Boff (2011) o acúmulo de fungos nos ambientes tem influência de fatores ambientais como: umidade, substratos orgânicos disponíveis, variáveis de temperatura, corrente de ar, variação e condições climáticas e de fatores físicos que englobam o tamanho, forma e densidade das partículas, (além de outras características que contribuem para a evolução de conídios no ambiente).

Estudos sobre a contaminação de aparelhos de ar – condicionado por fungos e bactérias vem sendo realizado por diversos pesquisadores. Cartaxo *et al.* (2007) investigaram filtros de condicionadores de ar contaminados biologicamente que estavam localizados em residências de Manaus – Amazonas. Estudo apresentado no XX Encontro Internacional sobre gestão empresarial e meio - ambiente (2018) analisou filtros de ar – condicionado de automóveis na cidade de São Paulo que serviriam como referência da qualidade do ar interior.

Hospitais vêm sendo um grande alvo de estudos nesta área devido ao risco de contaminação anemófila dos pacientes. Santana & Fortuna (2012), Sales *et al.* (2011), Calumby (2018) e Pereira *et al.* (2014) foram alguns dos pesquisadores que se dedicaram a estudar a contaminação em área hospitalar.

Quanto a pesquisas envolvendo contaminação de aparelhos de ar condicionado situados em laboratórios de pesquisa não foram encontrados registros na literatura. Há sim alguns trabalhos, alguns desses já citados aqui, entretanto, se restringem a coletas no ar ambiente dos espaços e não nos aparelhos de climatização.

Os sistemas de climatização situados em ambientes internos podem ser contaminados por meio de diversas fontes, por exemplo, animais de estimação, tapetes, pessoas espirrando ou falando e descargas sanitárias. Os micro-organismos podem permanecer viáveis em diferentes partes dos condicionadores de ar, podendo haver seu crescimento ou metabolismo. Filtros, trocadores de calor, bobinas de ventilação e dutos de ar são exemplos dessas partes. Deste modo, é importante conter a contaminação desses sistemas para manutenção da saúde e do bem – estar nos ambientes internos (LIU *et al.*, 2018).

Os filtros de ar -condicionado geralmente são produzidos com material filtrante poroso com a finalidade de reter poeira ou partículas biológicas; ademais, os componentes dos filtros podem dificultar o crescimento fúngico – a fibra de vidro com maior teor de água favorece o crescimento microbiano. É importante salientar que a capacidade higroscópica de reter os contaminantes diminuirá com o tempo, dependendo dessa variação da espécie do microrganismo e do material que compõe o filtro (LIU *et al.*, 2018).

Medidas primárias para controlar a contaminação microbiana em condicionadores de ar envolvem manutenção e limpeza regular dos aparelhos; durante o procedimento de limpeza, ações como, assegurar a pressão negativa dentro do duto de ar, são indicadas. Enquanto isso, de forma apropriada, os contaminantes devem ser recolhidos, de forma que não se disseminem em áreas não higienizadas (WS/T, 2012).

Outras ações que podem ser tomadas envolvem a utilização de Equipamentos de Proteção Individual (EPI's) por parte dos profissionais que tem acesso a áreas de UTI de hospitais; permitir a circulação de ar no ambiente, evitando a aglomeração de esporos; reiterar no ambiente hospitalar os planos de controle de infecção hospitalar, sensibilizando quanto à existência desses agravos e efetuar a assepsia dos condicionadores de ar quinzenalmente (BRASIL, 2003; MOBIN & SALMITO, 2006).

Os resultados encontrados corroboram com o que foi encontrado por Cartaxo (2007) que também identificou *Penicillium* como o maior contaminante de aparelhos de ar – condicionados instalados em residências, ainda na mesma pesquisa, houve o isolamento de *Cladosporium* e *Rhizopus* – gêneros também encontrados na UFAL.

Santos *et al.* (2007) focou sua pesquisa em sujidades dos condicionadores de ar presentes em veículos de pequeno e médio porte. Seu estudo abordou bactérias e fungos; dentre as espécies fúngicas *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium* foram isoladas nas amostras; confirmando os resultados de nosso trabalho que também encontraram estes contaminantes presentes em nossas amostras. Simmons *et al.* (1997) estudou também ar – condicionados veiculares na cidade de Atlanta, Estados Unidos, utilizando swabs estéreis (assim como em nossa pesquisa). Encontrou em suas coletas os gêneros *Cladosporium*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Alternaria* e *Penicillium*; conclusões semelhantes às nossas, exceto por *Aureobasidium* e *Alternaria*.

O setor hospitalar, como já foi mencionado, é o maior alvo de estudos quando se fala em contaminação de ambientes climatizados, não só no Brasil, como em outras partes do globo. Em Maharashtra, um estado indiano, Kelkar *et al.* (2005) investigou as 52 saídas de ar – condicionado de um hospital e constatou que todas elas estavam contaminadas pelos seguintes gêneros: *Rhizopus*, *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium*; todos eles também presentes nas amostras dos laboratórios de pesquisa do ICF – UFAL. Os autores discutiram que a ausência de manutenção dos aparelhos unida à concentração de umidade, resíduos e poeira, favorecem a colonização fúngica e por consequência, a contaminação do ambiente.

Em uma pesquisa que analisou 29 aparelhos de ar – condicionado de diversos setores de um hospital na cidade de Maracaju – MS entre agosto de 2008 e agosto de 2009, Melo & Amarilio (2020) constataram que todos os climatizadores possuíam crescimento de colônias fúngicas; dentre os gêneros mais isolados estavam *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Cladosporium* e *Emmonsia*; excetuando este último, todos também presentes nos laboratórios da UFAL.

Mobin & Salmito (2006), analisaram dez ares – condicionados das UTIs de um hospital situado em Teresina – PI encontrando como gêneros mais frequentes *Acremonium*, *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Curvularia* e *Nigrospora*, corroborando com nosso estudo.

A importância e eficácia dos filtros presentes nos ares – condicionados foram pesquisadas por Holý *et al.* (2015). 480 amostras foram coletadas de uma Unidade de Transplante do Hospital Universitário de Olomouc, República Checa e cultivadas no Ágar

Sabouraud acrescido de cloranfenicol. Em 11 casos, cerca de 2,29% do total, houve o isolamento de fungos filamentosos. O gênero mais isolado foi *Aspergillus*, seguido por *Trichoderma*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Eurotium* e *Chrysonilia*. Ademais, coletas com 726 *swabs* também foram realizadas, e somente 2 positivaram para contaminação; comprovando assim o êxito dos filtros.

*Rhizopus* e *Cunninghamella* – identificados neste estudo podem ocasionar mucormicose, infecções causadas por fungos da ordem Mucorales – também representada por *Mucor* e *Rhizomucor*. Lesões necróticas nas regiões do palato e do nariz, juntamente de dor, febre, secreção nasal purulenta, proptose, celulite orbitária são os principais sintomas; podendo também ocorrer alterações no sistema nervoso central e no sistema pulmonar – estas, comumente graves: dispneia, tosse produtiva e febre alta; já em pacientes imunocomprometidos pode ocorrer infecção disseminada (REVANKAR, 2019).

Os fungos do gênero *Verticillium* são fitopatógenos que colonizam diversos grupos de plantas; as espécies de maior importância são *Verticillium dahliae* e *Verticillium albo-atrum*. (NAIK *et al.*, 2008; SILVA, 2017). Os vasos condutores são as principais estruturas afetadas pelo parasitismo, provocando o escurecimento dos vasos, a murcha, amarelecimento, subdesenvolvimento e até morte abrupta da planta (PAVAN *et al.*, 2016). Em ambiente campestre, estes fungos podem se manter no solo por tempo indeterminado, devido ao grande número de hospedeiros disponíveis, como as plantas solanáceas e as daninhas (KUROZAWA *et al.*, 2005).

De acordo com Liu *et al.* (2017), fatores como o comportamento dos ocupantes, concentração de fungos no ar exterior e perfil do prédio influenciam no acúmulo de fungos na microbiota de ambientes internos. Isso explica porque alguns gêneros foram isolados apenas em alguns laboratórios. *Verticillium*, por exemplo, é um fitopatógeno (NAIK *et al.*, 2008; SILVA, 2017) que foi isolado somente no Laboratório de Farmacognosia, que desenvolve justamente pesquisas com plantas, o que tornaria mais compreensível que fossem encontrados esporos desse gênero contaminando o ambiente.

*Trichoderma* é um organismo saprófito, encontrado geralmente em associação à matéria orgânica morta e a raízes (LUCON, CHAVES & BACILIERI, 2014). Este gênero foi encontrado em grande quantidade (UFC incontável), e somente, no Laboratório de Farmacologia Cardiovascular, que realiza experimentos com animais (ratos), que ficam alojados em caixas que contém em sua superfície a maravalha, ou serragem de madeira. As trocas dessas serragens são realizadas dentro do próprio laboratório, o que indica que

partículas desse material ficam suspensas no ar, e por consequência, microorganismos que são facilmente encontrados neste tipo de material, como os do gênero *Trichoderma*.

O predomínio de *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria* e *Cladosporium* nas coletas do ar pode ser explicado pelo fato desses gêneros crescerem em todos os substratos, climas, condições e regiões (HAMEED, 2005; HAMEED *et al.*, 2009). Ademais, esporos fúngicos são mais resistentes ao processo de dessecação (Al-SUBAI, 2002), degradação pela luz (NICOT, 1960) e influência da radiação ultravioleta (DURRELL & SHIELDS, 1960).

Concentrações elevadas de *Alternaria* e *Aspergillus* no outono estão associadas com a deterioração de matéria vegetal (CHAKRABORTY, SEN & BHATTACHARYA, 2000), já *Penicillium* e *Cladosporium* tem um acréscimo no inverno, devido à alta umidade e o clima mais frio (MEHROTRA, 1983; SAEED, 2009). *Cladosporium* é ainda sensível à chuva, temperatura e altas umidades relativas; estes fatores favorecem o crescimento e a esporulação em meses frios (CHAKRABORTY, SEN & BHATTACHARYA, 2000; PYRRI & KAPSANAKI-GOTSI, 2007).

## 7. CONCLUSÃO

Nas coletas realizadas em sete laboratórios de pesquisa do Instituto de Ciências Farmacêuticas da UFAL, foi comprovado que os aparelhos de ar-condicionado alojavam a maior parte dos fungos filamentosos em comparação aos leveduriformes, dado que este ambiente possui uma temperatura e umidade adequadas para o crescimento e disseminação dos esporos.

Os gêneros isolados na microbiota do ar ambiente e dos aparelhos de ar-condicionado apresentaram conformidade com aqueles isolados outros estudos que também avaliaram a contaminação de ambientes internos. *Aspergillus*, *Fusarium* e *Trichoderma*, que foram isolados neste estudo, já estão sendo relacionados a agravos de saúde, ou seja, colocam em risco o bem estar dos ocupantes.

Em relação a quantificação dos gêneros nos laboratórios, foi constatado que *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* e *Fusarium* foram predominantes entre os gêneros identificados enquanto outros como *Verticillium* e *Rhizopus*, ficaram restritos a um único laboratório.

Deste modo, é necessário preconizar atitudes que contribuam para a redução da contaminação fúngica dos ambientes. Ações como o uso correto dos EPIs, restrição do acesso de pessoas estranhas a esses locais, reduzindo assim o transporte de micróbios, aumento na frequência da limpeza dos ambientes e por fim, aumentar a vistoria nos aparelhos de ar – condicionado, tornando mais regulares sua manutenção e higienização.

## REFERÊNCIAS

ADAMS, R.I. *et.al.* Ten questions concerning the microbiomes of buildings. **Build Environ.** v.109, p. 224-234, 2016.

AFONSO, M. S. M. *et al.* Condicionamento de ar em sala de operação e controle de infecção – Uma revisão. **Revista Eletrônica de Enfermagem.**, v. 08, p. 134 – 143, 2006.

AGÊNCIA SENADO. Especial Cidadania. *In*: SENADO FEDERAL. **Ar-condicionado exige limpeza cuidadosa.** Brasília, DF, [200-]. Disponível em: <http://www.senado.gov.br/noticias/jornal/cidadania/limpeza/>. Acesso em: 13 out. 2020.

AGGARWAL, A.N., CHAKRABARTI, A. Does climate mould the influence of mold on asthma? **Lung India.** v.30, p. 273–6, 2013.

AGARWAL, R.; CHAKRABARTI, A. Epidemiology of allergic bronchopulmonary Aspergillosis. *In*: PASQUALOTTO A. C. (Ed.). *Aspergillosis: from diagnosis to prevention.* New York: **Springer Science.** Biomedical and Life Sciences. p. 671-688, 2010.

ARAÚJO, E. *et al.* Sinusite fúngica: uma análise clínica em nosso meio. **Revista HCPA,** v. 19(2), p. 177-185, 1999.

BASTO, José E. **Requisitos para garantia da qualidade do ar em ambientes climatizados: enfoque em ambientes hospitalares.** 2005. 110f. Dissertação (Pós-Graduação em Engenharia de Segurança do Trabalho) Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2005.

BELMIRO, Caio César Lopes. **Identificação da microbiota fúngica anemófila presente em sala de arquivos e três bibliotecas de uma universidade pública da Paraíba.** 2012. 23 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2012.

BERNARDI, E. *et al.* Fungos anemófilos e suas relações com fatores abióticos, na praia do Laranjal, Pelotas, RS; **Rev. Biol. Ciências da Terra.**, v. 6, n.1, p. 234-239, 2006.

BERNARDI, E.; NASCIMENTO, J.S. Fungos anemófilos na praia do Laranjal, Pelotas, Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico.**, v. 72(1), p. 93-97, 2005.

BOFF, Cristiane. **Monitoramento de fungos no ar de unidades de terapia intensiva.** 2011, 61f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

BOTHA, A.; BOTES, A. Geotrichum. **Encyclopedia of Food Microbiology.** v.2, p.88–93, 2014.

BRASIL, Ministério da Saúde. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RE nº 09 de 16 de janeiro de 2003.** Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 20 de janeiro de 2003.

BRICKUS, L. S. R.; NETO, F. R. A. A qualidade do ar de interiores e a química. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 56-74, 1999.

BROOKS, G.F. *et al.* **Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick e Adelberg.** 26ª ed. Porto Alegre: AMGH, 2014.

CABRAL, J. P. Can we use indoor fungi as bioindicators of indoor air quality? Historical perspectives and open questions. **Sci. Total Environ.** v. 408, n. 20, p. 4285-4295, 2010.

CALUMBY, R.J.N. **Isolamento e identificação da microbiota fúngica anemófila e de superfícies em Unidade de Terapia Intensiva e sua suscetibilidade frente à própolis vermelha de Alagoas.** 2018. 105 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, 2018.

CARTAXO, E. F. *et al.* Aspecto de contaminação biológica em filtros de condicionadores de ar instalados em domicílio da cidade de Manaus-AM. **Engenharia Sanitária Ambiental.** v. 12, n. 2, p. 202-211, 2007.

CHAKRABORTY, S.; SEN, S. K.; BHATTACHARYA, K. Indoor and outdoor aeromycological survey in Burdwan, West Bengal, India. **Aerobiologia**, v.16, p.211-9, 2000.

DALES, R.E. *et al.* Influence of ambient fungal spores on emergency visits for asthma to a regional children's hospital. **Am J Respir Crit Care Med**, v.162, p.2087-90, 2000.

DALLONGEVILLE, A. *et al.* Concentration and determinants of molds and allergens in indoor air and house dust of French dwellings. **Sci Total Environ**, v. 536, p. 964-972, 2015.

DURRELL, L.W, SHIELDS, L.M. Fungi isolated from culture from soils from Nevada test site. **Mycologia**, v.52, p. 636-41, 1960.

ELEWSKI, B.E. Superficial mycosis dermatophytoses and selected dermatomycose. IN: ELEWSKI, B.E. **Topics in clinical dermatology cutaneous fungi infections.** New York: Lgaku – shoin, 1992.

ENCONTRO INTERNACIONAL SOBRE GESTÃO EMPRESARIAL E MEIO AMBIENTE, XX., 2018, São Paulo. **Análise da contaminação de filtros de ar condicionado de automóveis como indicadores da qualidade do ar interior.** São Paulo, SP: [s. n.], 2018. 17 p.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos.** 2<sup>a</sup> ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

FINCHER, R.M. *et al.* Infection due to the fungus *Acremonium* (cephalosporium). **Medicine (Baltimore)**, v. 70(6), p.398-409, 1991.

FRISVAD, J.C. *et al.* Mycotoxins, drugs and other extrolites produced by species in *Penicillium* subgenus *Penicillium*. **Studies in Mycology**. v. 49; p. 201-41, 2004.

GAMBALE, W; PURCHIO, A.; PAULA, C.R. Periodicidade diária de fungos anemófilos na cidade de São Paulo, Brasil. **Rev.Microbiol.**, v.12, p.176-181, 1981.

GAMBALE, W.; PURCHIO, A.; PAULA, C.R. Influência de fatores abióticos na dispersão aérea de fungos na cidade de São Paulo, Brasil. **Rev. Microbiol.**, v.14, p.204-214, 1983.

GUNSCHERA, J. *et al.* Formation and emission of chloroanisoles as indoor pollutants. **Environ Sci Pollut Res Int.**, v. 11, p. 147-151, 2004.

HOLÝ, O *et al.* Monitoring of Microscopic Filamentous Fungi in Indoor Air of Transplant Unit. **Cent Eur J Public Health**, vol. 23(4), p. 331-4, 2015.

HOOG, G. S.; GUARRO, J.; GENÉ, J. FIGUERAS, M. J. **Atlas of Clinical Fungi**. CBS: Spain, 2000.

INMETRO. Qualidade do Ar em Estabelecimentos de Uso Público e Coletivo. *In*: GOVERNO DO BRASIL. **Informação ao consumidor**. [S. l.], 1993 - 2012. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/qualidadedoAr.asp#:~:text=No%20Brasil%2C%20a%20necessidade%20de,dutos%20do%20sistema%20de%20climatiza%C3%A7%C3%A3o>. Acesso em: 22 out. 2020.

KELKAR, U.; BAL, A.M.; KULKAMI, S. Fungal contamination of air conditioning units in operating theatres in India. **Journal of Hospital Infection**, v. 60, p. 81-84, 2005.

KHAN, Ahmed Abdul.Haleem. **Studies on Indoor Fungi and Their Control**. 2009. (Tese), Department of Biotechnology, School of Life Sciences, Swami Ramanand Teerth Marathwada University, Nanded, 2009.

LEMFACK, M.C. *et al.* mVOC: a database of microbial volatiles. **Nucleic Acids Research**, v. 42, 1<sup>a</sup> ed., 2014, p. D744–D748.

KHAN, A.A.H., KARUPPAYIL, S.M. Potential natural disinfectants for indoor environments. **International Journal of Clinical Aromatherapy**, vol. 7, p. 1–5, 2010.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A.; KRAUSE-SAKATE, R. Doenças das solanáceas: berinjela, jiló, pimentão e pimenta. *In*: KIMATI, H *et al.* **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p. 589-596.

LACAZ, C. S. *et al.* **Micologia Médica: fungos actinomicetos e algas de interesse médico**. 1<sup>a</sup> ed. São Paulo: Servier, 1998.

LACAZ, Carlos da Silva. **Tratado de Micologia médica**. 9ª ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

LENZI, F.S.; MOREIRA, I.M.; TAVARES, D.F. **Qualidade do Ar em Diferentes Ambientes do Hospital Regional de São José**. 2007. (Trabalho de conclusão da disciplina) - Graduação em Engenharia Sanitária e Ambiental. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2007.

LUCON, Cleusa Maria; CHAVES, Alexandre Levi; BACILIERI, Simone. **Trichoderma: o que é, para que serve e como usar corretamente na lavoura**. 1ª. ed. São Paulo: Instituto Biológico, 2014. 28 p.

LIU, Z. *et al.* (2018). Distribution characteristics, growth, reproduction and transmission modes and control strategies for microbial contamination in HVAC systems: A literature review. **Energy and Buildings**., v.177, p. 77–95, 2018.

MADIGAN, M.T. *et al.* **Microbiologia de Brock**. 14ª Ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MARTINS, O. A. **Fungos anemófilos e leveduras isolados em ambientes de laboratórios de microbiologia em instituição de Ensino Superior**. [Dissertação de Mestrado] - Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Veterinária. Pelotas -RS, 2016.

MARTINS-DINIZ, J. N. *et al.* Monitoramento de fungos anemófilos e de leveduras em unidade hospitalar. **Rev Saúde Pública**, v. 39, n. 3, p. 398-405, 2005.

MEHROTRA, B.S. The impact of fungal infestation of cereal grains in field and storage. In: Hussain, A *et al.* **Recent Advances in Plant Pathology**. Lucknow, India: Print House; 1983. p. 185–200.

MELO, S.C.O., OLIVEIRA, R.C.B.W. & ARAÚJO, M.R.B. Isolamento e identificação de fungos oportunistas em unidades hospitalares nas cidades de Patos de Minas e de Paracatu - MG. **Revista Eletrônica Perquirere.**, v. 1, p. 1-13, 2004.

MEZZARI, A. *et al.* Fungos anemófilos e sensibilização em indivíduos atópicos em Porto Alegre, RS. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 49, n. 3, p. 270-273, 2003.

MOBIN, M.; SALMITO, M.A. Microbiota fúngica dos condicionadores de ar nas unidades de terapia intensiva de Teresina, PI. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 6, p. 556-559, 2006.

MOREIRA, Maria Elisabeth Lopes; LOPES, José Maria de Andrade; CARVALHO, Manoel de. **O Recém-nascido de Alto Risco: teoria e prática do cuidar**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2004.

MURRAY, Patrick R.; ROSENTHAL, KEN S.; PFALLER, Michael S. **Medical Microbiology**. 5ª ed. Filadélfia: Elsevier Mosby, 2005.

MURRAY, Patrick R.; ROSENTHAL, KEN S.; PFALLER, Michael A. **Microbiologia Médica**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

MYCOBANK. **Bases de dados, nomenclatura e espécies fúngicas**. 2020.

Disponível em: <<http://www.mycobank.org/>>. Acesso em 03 de novembro de 2020.

NAIK, M.K. *et al.* An overview of soil borne plant pathogens. In: **Advances in soil borne plant diseases**. New Delhi: New India Publishing Agency, 2008. p.1-33.

NEUFELD, P.M. **Manual de Micologia Médica – Técnicas Básicas de Diagnóstico**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Editora PNCQ, 1999.

NEVALAINEN, A., SEURI, M. Of microbes and men. **Indoor Air**, v.15, p. 58–64, 2005.

NICOT, J. Some characteristics of the microflora in desert sands. In: PARKINSON, D., WARD, J.S. **The ecology of soil fungi**. University of Liverpool Press, Liverpool, 1960, p. 94–97.

NUNES, Luiz Geraldo. **Avaliação da qualidade do ar interno de salas de aula**. 2013. 67f. Monografia (Engenharia Ambiental) – Universidade do Vale do Itajaí, Centro de Ciências Tecnológicas da Terra e do Mar, Santa Catarina, Itajaí, 2013.

OLIVEIRA, Jeferson Carvalhaes de. **Tópicos em Micologia Médica**. 4ª ed. Rio de Janeiro: [s.n.], 2014.

OTCENASEK, M. DUORACK, J. **Pictorial Dictionary of madecal mycology**. The Hague: Dr W. Junk, 1973.

PANTOJA, L.D.M., COUTO, M.S. & PAIXÃO, G.C. 2007. Diversidade de bioaerossóis presentes em ambientes urbanizados e preservados de um *campus* universitário. **Biológico.**, v. 69, p. 41-47, 2007.

PAVAN, M.A. *et al.* Doenças das Solanáceas. In: KIMATI, H. *et al.* **Manual de Fitopatologia. Doenças de Plantas Cultivadas**. 5. ed. Viçosa, MG: Agronômica Ceres, 2016, p. 677-687.

PELUQUE, Erika. **Isolamento, identificação molecular e potencial toxigênico de fungos e ocorrência de micotoxinas em misturas de cereais comercializados no Brasil**. 2014. 80 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

PEREIRA, B.F.P.; MELO, L.E.; COSTA, P.F. Fungos anemófilos isolados na cidade de Belém, estado do Pará - Brasil. **Revista Eletrônica de Biologia**., v. 6, p. 82-93, 2013.

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.

PITT, J.I. Toxigenic fungi and mycotoxins. **British Med. Bul.**, v.56, n.1, p. 184-192, 2000.

PITT, J.I.; HOCKING, A.D. **Fungi and Food Spoilage**., 3<sup>a</sup> ed. Nova York: Springer, 2009.

PYRRI, I., KAPSANAKI-GOTSI, E. A comparative study on the airborne fungi in Athens, Greece, by viable and non-viable sampling methods. **Aerobiologia**, v.23, p.3-15, 2007.

QUINN, P.J. *et al.* Microbiologia Veterinária e doenças infecciosas. Porto Alegre: Artmed, 2005.

REBELL, G.; TAPLIN, D. **Dermatophytes: their recognition and identification**.

Miami: Revised, 1974.

REECE, Jane B. *et al.* **Biologia de Campbell**. 10ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

REVANKAR, Sanjay G. Mucormicose (Zigomicose). **Manual MSD**, 2019. Disponível em: <https://www.msmanuals.com/pt-br/profissional/doen%C3%A7as/infecciosas/fungos/mucormicose>. Acesso em: 10 de Outubro de 2020.

REVANKAR, S.G., SUTTON, D.A. Melanized fungi in human disease. **Clin Microbiol Rev**, v. 23(4), p. 884-928, Out, 2010.

REVANKAR, S.G., SUTTON, D.A., RINALDI, M.G. Primary central nervous system phaeohyphomycosis: a review of 101 cases. **Clin Infect Dis**, v. 38(2), p. 206- 16, Jan, 2004.

RODRÍGUEZ, Z.C., RAMOS, M.G. Acremonium species associated fungemia: a novel pathogen in the immunosuppressed patient. **Boletín de la Asociación Médica de Puerto Rico**, v. 106(3), p. 29–31, 2014.

SAEED, Y. **Evaluation of some pollutants in the atmosphere of an urban / industrial area, Helwan-Cairo**. 2009. Tese de Mestrado (Faculdade de Ciências) – Helwan University, Helwan, 2009.

SAILER, M.F., VAN NIEUWENHUIJZEN, E.J., KNOL, W.. Forming of a functional biofilm on wood surfaces. **Ecological Engineering**, v.36 (2), p. 163–167, 2010.

SALES, E. et al. Micota no ar da unidade de terapia intensiva e centro cirúrgico de um hospital universitário. **Bioikos, Campinas**, v. 25, n. 2, p. 109–115, 2011.

SAMET, J.M., SPENGLER, J.D. Indoor environments and health: Moving into the 21st century. **American Journal of Public Health**, v. 93 (9), p. 1489–1493, 2003.

SANTANA, W. O. DE; 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**, Taubaté, v. 18, n. 1, p. 56–64, 2012.

SANTOS, L.C. *et al.* Quantificação e identificação de fungos e bactérias e análises de ar indoor em veículos. In: CONGRESSO DA ACADEMIA TRINACIONAL DE CIÊNCIAS, 3. **Anais...** Foz do Iguaçu, p. 8-10, out.2008.

SCHIRMER, W.N. *et al.* A poluição do ar em ambientes internos e a síndrome dos edifícios doentes. **Ciênc. saúde coletiva**. 2011, vol.16, n.8, pp.3583-3590. ISSN 1413-8123. <https://doi.org/10.1590/S1413-81232011000900026>. Acesso em: 3 de novembro de 2020.

SIDRIM, J.J., CORDEIRO R.A., ROCHA M.F. Aspergilose e Fusariose. In: SIDRIM, J.J.; ROCHA, M.F. **Micologia Médica à luz de autores contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p. 275-282.

SIDRIM J.J.C.; MOREIRA, J.L.B. **Fundamentos clínicos e laboratoriais da Micologia Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. **Micologia Médica à luz de autores contemporâneos**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2010.

SILVA, T.W.R. Ocorrência, identificação e manejo da raça 2 de *Verticillium dahliae* em tomateiro. Artigos Técnicos, 2017. **Seminis**. Disponível em: <https://www.seminis.com.br/ocorrenciaidentificacao-e-manejo-da-raca-2-de-verticillium-dahliae-em-tomateiro>. Acesso em: 24 de out 2020.

SOBRAL, L. V. **Fungos anemófilos em ambientes climatizados: prevalência, produção de enzimas e atividade antibacteriana**. 2016. 64f. [Dissertação de Mestrado] - Universidade Federal de Pernambuco. Vitória de Santo Antão – PE, 2016.

SOUZA, A. E. F. *et al.* Isolamento e identificação da microbiota fúngica anemófila em diversos setores do centro de ciências biológicas e da saúde da Universidade Estadual da Paraíba. **BioFar: Revista de Biologia e Farmácia**, v. 2, p. 31–49, 2008.

SOUZA, A. E. F. *et al.* Microbiota Fúngica Anemófila de Hospitais da Rede Pública da Cidade de Campina Grande - PB. **Biofar: Revista de Biologia e Farmácia**, v. 4, n. 1, p. 102–116, 2010.

SOUZA, Aryanna Kelly Pinheiro. **Microbiota fúngica do ambiente da UTI neonatal e de amostras clínicas dos recém-nascidos internados no Hospital Universitário de Maceió, Al.** 128 f. [Dissertação de Mestrado] - Universidade Federal de Alagoas. Maceió - AL, 2009.

SOUZA, P.M.S., ANDRADE, S.L. & LIMA, A.F. 2013. Pesquisa, isolamento e identificação de fungos anemófilos em restaurantes self-service do centro de Maceió/AL. **Cadernos de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 1, p. 147-154.

SPRINGER CARRIER. **Inventamos o ar condicionado**, 2002. Disponível em: [http://www.springer.com.br/springer/site/conheca/conheca\\_inventamos.asp](http://www.springer.com.br/springer/site/conheca/conheca_inventamos.asp). Acesso em 13 set. 2019.

STRAUZ, Maria Cristina. **Análise de um acidente fúngico na Biblioteca Central de Manginhos: um caso de síndrome do edifício doente**. 2001. 91p. Dissertação (Mestrado em Ciências da área de Saúde Pública). Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 2001.

STRYJAKOWSKA-SEKULSKA, M. *et al.* Microbiological Quality of Indoor Air in University Rooms. **Polish J. of Environ. Stud.** v. 16, n. 4, p. 623-632, 2007.

TEIXEIRA, B.P. *et al.* Avaliação de fungos em bioaerossóis em ambiente de um hospital de médio porte do noroeste paulista. **Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA.**, v. 11, n. 2, p. 200-216, 2020.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12ª ed., Porto Alegre: Artmed, 2017.

VANDEWOUDE, K. *et al.* Clinical relevance of Aspergillus isolation from respiratory tract samples in critically ill patients. **Critical Care.**, v.10, R31, 2006.

VENCESLAU, E. M. *et al.* Frequência de fungos anemófilos em áreas críticas de unidade hospitalar de Aracaju, Sergipe, Brasil. **RBAC**, v. 44, n. 1, p. 26-30, 2012.

VOET, Donald; VOET, Judith G.; PRATT, Charlotte W. **Fundamentos de Bioquímica: A vida em nível molecular**. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Indoor Air Quality**. Disponível em: <http://www.who.int/indoorair/en/>. Acesso em 21 de outubro de 2020.

WS/T 396-2012, **Specification of cleaning and disinfecting for central air conditioning ventilation system in public buildings**, in, 2012. (In Chinese)

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Indoor Air Quality: Organic Pollutants. **EURO Reports and Studies.**, n. 111. Copenhagen, 1989.

XAVIER, A.P.M. *et al.* Aspectos epidemiológicos de pacientes com lesões ungueais e cutâneas causadas por *Scytalidium spp.* **Anais...**,v. 85(6), p. 805-10, 2010.

ZAITS, C. *et al.* **Compêndio de micologia médica**. 2<sup>a</sup> ed. São Paulo: Guanabara, 2010.

ZOPPAS, B. C. D. A. **Caracterización del contenido fúngico atmosférico de Caxias di Sul, Rio Grande do Sul, Brasil**. 2005. 461f. Tese de Doutorado – Programa de Pósgraduação em Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Vegetal, Universidade de León, Espanha, 2005.