



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA HIDRÁULICA E AMBIENTAL
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL**

LYDIA DAYANNE MAIA PANTOJA

**ESTIMATIVA DOS NÍVEIS DE BIOAEROSSÓIS E COMPOSTOS ORGÂNICOS
VOLÁTEIS FÚNGICOS EM AMBIENTES OCUPACIONAIS NO MUNICÍPIO DE
FORTALEZA-CEARÁ**

**FORTALEZA
2016**

LYDIA DAYANNE MAIA PANTOJA

ESTIMATIVA DOS NÍVEIS DE BIOAEROSSÓIS E COMPOSTOS ORGÂNICOS
VOLÁTEIS FÚNGICOS EM AMBIENTES OCUPACIONAIS NO MUNICÍPIO DE
FORTALEZA-CEARÁ

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia Civil. Área de Concentração: Saneamento Ambiental.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Bárbara de Araújo Nunes

Coorientador: Prof. Dr. Ronaldo Ferreira do Nascimento

FORTALEZA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P222e Pantoja, Lydia Dayanne Maia.

Estimativa dos níveis de bioaerosóis e compostos orgânicos voláteis fúngicos em ambientes ocupacionais / Lydia Dayanne Maia Pantoja. – 2016.
169 f. ; il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil: Saneamento Ambiental, Fortaleza, 2016.

Orientação: Prof. Dr. Ana Bárbara de Araújo Nunes.

Coorientação: Prof. Dr. Ronaldo Ferreira do Nascimento.

1. Qualidade do ar. 2. Compostos Orgânicos Voláteis Microbianos. 3. Fungos Anemófilos. I. Título.
CDD 628

LYDIA DAYANNE MAIA PANTOJA

ESTIMATIVA DOS NÍVEIS DE BIOAEROSSÓIS E COMPOSTOS ORGÂNICOS
VOLÁTEIS FÚNGICOS EM AMBIENTES OCUPACIONAIS NO MUNICÍPIO DE
FORTALEZA-CEARÁ

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia Civil, na área de concentração em Saneamento Ambiental.

Aprovada em: 20/05/2016

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Ana Bárbara de Araújo Nunes (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Ronaldo Ferreira do Nascimento (Coorientador)
Universidade Federal do Ceará – UFC

Francisco Suetônio Bastos Mota
Universidade Federal do Ceará – UFC

Erika Helena Salles de Brito
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB

Heloísa Beatriz Cordeiro Moreira
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE

Francisêo Wagner de Sousa
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE

A Deus pela sua misericórdia que dura para sempre. Aos meus pais, Sr. Delmo Pantoja e Sra. Ligia Pantoja, seres admiráveis em essência, que me deram a vida com amor, concedendo a mim a oportunidade de me realizar ainda mais. Ao meu irmão Pablo Pantoja, ao meu esposo Derlei Santos e minha adorável filha Lívia Pantoja.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Ana Bárbara de Araújo Nunes, pela dedicação a Ciência, pelas muitas horas dispensadas a este estudo, pela oportunidade concedida, pelas palavras e ações de incentivo.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Ronaldo Ferreira do Nascimento, pelos ensinamentos, comentários e observações críticas a respeito dos experimentos e as ricas lições sobre cromatografia.

Aos professores Dra. Erika Helena Salles de Brito, Dra. Heloisa Beatriz Cordeiro Moreira, Dr. Francisco Wagner de Sousa e Dr. Francisco Suetônio Bastos Mota por aceitarem avaliar a presente tese.

Ao Prof. Dr. José Capelo Neto, por disponibilizar a Seção Laboratorial de Qualidade de Água – SELAQUA, Laboratório do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da Universidade Federal do Ceará e à Profa. Ms. Germana Paixão, por ceder o Laboratório de Microbiologia – LAMIC da Universidade Estadual do Ceará – UECE para realização do processamento laboratorial das amostras fúngicas.

Ao Prof. Dr. Francisco Sales Ávila Cavalcante, coordenador do Laboratório de Biofísica e Bioinstrumentação – LBBI da Universidade Estadual do Ceará, por colaborar no protocolo de calibração da bomba de amostragem de ar e por permitir a execução desse processo em suas instalações.

À todos os professores do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Civil (Saneamento Ambiental) – UFC, que contribuíram para minha formação, em especial, à Profa. Dra. Marisete Dantas, ao Prof. Dr. Suetônio Mota e ao Prof. Dr. Raimundo Souza, pelos constantes ensinamentos em suas disciplinas.

Ao diretor geral do Hospital Geral de Fortaleza, Dr. Zózimo Luís de Medeiros Silva, ao bibliotecário-chefe da Biblioteca Universitária de Ciências e Tecnologia – *Campus Pici*, Sr. Francisco Jonatan Soares e ao gestor do Mercado Central, Sr. Fernando Bandeira, pelas autorizações para acesso aos ambientes de coleta e entendimento da relevância deste trabalho.

Aos corpos administrativos e de serviços dos ambientes investigados, pela ajuda e incentivo dedicados.

À Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos – FUNCEME, pela disponibilidade dos dados climáticos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo apoio financeiro.

Aos funcionários da Universidade Federal do Ceará, em especial à secretária Shirley Gomes.

À todos os integrantes do Laboratório de Análise Traço, do Departamento de Química Analítica e Físico Química da Universidade Federal do Ceará, em especial ao Dr. Ari Clecius Lima e ao doutorando Pablo Gordiano, pela disposição em ajudar com a experimentação cromatográfica e pela dedicação a ciência.

Aos graduandos da UFC, Aline Vasconcelos Sousa, Dálete Maria Lima de Sousa e Jackson Bruno Bezerra Ribeiro, bolsistas do programa Jovens Talentos, aos graduandos da UECE, Carolina Bonfim de Andrade, Ana Beatriz da Silva Lemos e Karine Silva Pimentel, por suas parcerias e pelas horas de trabalho que contribuíram para esta pesquisa.

Às doutorandas, Ana Vivian Parente Rocha Martins, Alexandra de Vasconcelos Feitosa e Fabíola Odete Rodrigues, pelo companheirismo nas disciplinas e palavras de incentivo.

À minha mentora intelectual, Profa. Ms. Germana Costa Paixão, pelos ensinamentos, dedicação, incentivo e acima de tudo, por me apresentar a Aerobiologia, o que me permitiu a prosseguir os estudos nesta área.

À minha amiga e confidente, Ms. Anna Patrícia Florentino, pelo incentivo que sempre dedicou às minhas empreitadas e pelos tantos e inesquecíveis diálogos existenciais.

À minha família, em especial, a minha filha Lívia Pantoja, por ser meu “pão diário”, ao meu esposo, Derlei Santos, ao meu irmão, Pablo Pantoja, ao meu pai e minha mãe, Delmo e Ligia Pantoja, pela paciência e compreensão em minha ausência e incentivos constantes.

À Deus, arquiteto da criação, pelo privilégio da vida e por sua imensa misericórdia.

“Ainda que eu ande pelo vale da sombra da morte, não temerei mal algum, porque Tu estás comigo; a tua vara e o teu cajado me consolam”.

Salmos 23:4

RESUMO

A busca por métodos mais acurados de caracterização da composição fúngica no ar se faz necessária. Sabe-se que quando o fungo se desenvolve no interior da estrutura de um edifício ou em filtros de ventilação, claramente, há uma quantidade razoável de "contaminação oculta", não podendo ser detectada apenas através de uma inspeção visual. Bem como, é fato que os fungos quando começam a se desenvolver emitem para a atmosfera Compostos Orgânicos Voláteis Fúngicos (COVFs), que surgem das vias metabólicas ou a partir da degradação de materiais, devido à liberação de enzimas produzidas pelos mesmos. Nesse ínterim, o objetivo da presente tese foi estimar a qualidade do ar interno através de bioaerossóis e COVFs visando melhorias no monitoramento e controle de ambientes ocupacionais no município de Fortaleza, Ceará. Para tanto, houve a análise dos ambientes pesquisados (hospital terciário, *shopping center* e biblioteca pública) e aplicação de questionário aos usuários, visando analisar o entendimento do trabalhador sobre a qualidade do ar. Em seguida, houve a elaboração e validação de um protocolo para determinação de COVFs. Para a análise dos COVFs foi utilizada a cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa, sendo executada no Laboratório de Análise Traço - UFC. Enquanto para as amostras fúngicas foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia - UECE, visando à identificação por meio de análise macro e micromorfológica e provas bioquímicas. Foram analisadas 144 amostras frente aos COVFs, sendo que nove compostos foram detectados em pelo menos um dos setores analisados e apenas o 3-octanona não foi observado. Na análise quantitativa, os COVFs com as maiores concentrações (em $\mu\text{g}/\text{m}^3$) foram 2-metil-1-propanol, 3-metil-1-butanol e 2-heptanona. No tocante aos achados fúngicos, 72 amostras foram analisadas, sendo observado um elevado número de unidades formadoras de colônia por metro cúbico ($\text{UFC} \cdot \text{m}^{-3}$) em todos os ambientes, em especial o acervo geral ($3.497 \text{ UFC} \cdot \text{m}^{-3}$), seguido do estacionamento coberto do centro comercial ($3.245 \text{ UFC} \cdot \text{m}^{-3}$). Enquanto a respeito da composição do espectro de fungos anemófilos dos três ambientes, este é formado predominantemente por filamentosos hialinos, com destaque para o gênero *Aspergillus* sp., bem como, leveduras, como a espécie *Candida tropicalis*. Avaliou-se a relação entre COVFs e amostras fúngicas, sendo constatado a presença de seis grupos de similaridade, como o 2-metil-1-propanol que apresentou uma distribuição espacial semelhante aos fungos *Acremonium* sp., *Aspergillus niger*, *Candida tropicalis* e *Penicillium* sp. Também, analisou-se a distribuição do quantitativo dos COVFs e das amostras fúngicas por estações climáticas, havendo diferença significativa entre amostras fúngicas e à

sazonalidade. Os dados apresentados mapearam a existência da presença de COVFs nos ambientes laborais analisados, caracterizando assim a necessidade do controle desses compostos no ar ambiental de interiores. Com a pesquisa espera-se estabelecer uma melhoria no monitoramento vigente devido à ausência de legislação nacional em vigor sobre os COVFs, visando no futuro auxiliar a tomada de decisão de gestores em relação aos riscos ocupacionais, instigando uma maior discussão no meio acadêmico e legislativo e, por fim, contribuir para o estudo sistematizado da Aerobiologia no país.

Palavras-chave: Qualidade do ar. Compostos Orgânicos Voláteis Fúngicos. Fungos Anemófilos. Ambientes ocupacionais.

ABSTRACT

There is a need for more accurate methods to characterize the composition of fungi in the air. The development of fungi inside building structures and/or ventilation/air conditioning filters clearly causes a relevant level of “undetected contamination”, because visual inspection is insufficient. Fungi emit specific fungal volatile organic compounds (FVOCs), either from their own metabolism or due to degradation of materials, by release of enzymes. The aim of this study was to analyze the air quality in terms of FVOCs of indoor spaces in Fortaleza, Ceará state, to improve monitoring and control. For this purpose, we measured the presence of these compounds in a tertiary hospital, shopping center and public library and applied a questionnaire to a sample of users to analyze their understanding of air quality. We then created and validated a protocol for detection of FVOCs based on international practices, to establish a method suitable for the local reality. The FVOCs were identified and quantified by gas chromatography associated with mass spectrometry, performed at the Trace Analysis Laboratory of Ceará Federal University, while the fungal samples were analyzed at the Microbiology Laboratory of Ceará State University for identification by means of macro and micromorphological analysis. All told, 144 air samples were analyzed to detect FVOCs, with detection of nine compounds in at least one of the spaces analyzed. In the quantitative analysis, the FVOCs with the highest concentration were 2-methyl-1-propanol, 3-methyl-1-butanol and 2 heptanone. With respect to fungal species, 72 samples were analyzed, with observation of a high number of colony-forming units per cubic meter (UFC/m^3) in the samples from all the spaces, particularly the general shelf area of the library ($3,497 \text{ UFC} \cdot \text{m}^{-3}$), followed by the covered parking structure of the shopping center ($3,245 \text{ UFC} \cdot \text{m}^{-3}$). With regard to the composition of the airborne fungi in the three spaces, it consisted mainly of hyaline filamentous deuteromycete fungi, especially the genus *Aspergillus* sp., as well as yeasts such as *Candida tropicalis*. We also assessed the relation between FVOCs and the fungal samples and found the presence of seven similarity groups. 2-methyl-1-propanol and 3-methyl-1-butanol presented spatial distribution similar to the fungi *Acremonium* sp., *Aspergillus niger*, *Candida tropicalis* and *Penicillium* sp. Finally, we analyzed the distribution of the quantity of FVOCs and the fungal samples according to seasons of the year, finding a significant difference between the fungal samples in the rainy and dry seasons. The data presented demonstrate the presence of FVOCs in all the spaces analyzed, indicating the need to control these compounds in the air. This study can contribute to improve the quality of indoor air in Brazil, by helping policymakers draw up standards for FVOC levels, which are

currently lacking in the country, as well as by promoting academic discussion and systematic study of aerobiology in Brazil.

Keywords: Air quality. Fungal volatile organic compounds. Airborne fungi. Indoor public spaces.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Bomba de amostragem de ar.....	54
Figura 2 -	Cartuchos de 70 mm de comprimento e 6 mm de diâmetro (Marca 226-01 SKC-ANASORB CSC).....	55
Figura 3 -	Dessecador contendo o frasco rosqueado aberto contendo uma mistura dos 10 padrões externos na concentração de 100 µg/m ³ , acoplado via mangueira ao cartucho e a bomba de amostragem de ar.....	63
Figura 4 -	9 A: Lâmina preparada por desagregação; B: Lâmina montada com fita adesiva transparente; C: Técnica de microcultivo em lâmina.....	65
Figura 5 -	Placa com o meio <i>corn-meal</i> com Tween 80, mostrando esquematicamente os locais onde são feitas as estrias com os inóculos da levedura cuja micromorfologia se quer observar.....	66
Figura 6 -	Placa de Petri com meio para assimilação de carboidrato, pronto para iniciar a distribuição dos açúcares, seguindo a cartela-guia.....	67
Figura 7 -	Placa de Petri com meio para assimilação de nitrogênio, pronto para iniciar a distribuição das fontes nitrogenadas, seguindo a cartela-guia....	68
Figura 8 -	Tubos dispostos para leitura do teste de fermentação de carboidrato.....	68
Figura 9 -	Placas de CHROMagar <i>Candida</i> ®: A – <i>Candida</i> sp., necessários testes adicionais para a identificação da espécie; B – <i>Candida albicans</i> em verde.....	69
Figura 10 -	Croquis com visão 3D dos quatro setores analisados na biblioteca pública de referência no município de Fortaleza, CE, produzidos através do programa Autodesk Homestyler®, são evidenciados, em especial, as portas, janelas e aparelhos de ar condicionado.....	72
Figura 11 -	Croquis com visão 3D dos quatro setores analisados no centro comercial público de referência no município de Fortaleza, CE, produzidos através do programa Autodesk Homestyler®, são evidenciados, em especial, as portas e janelas.....	73
Figura 12 -	Croquis com visão 3D dos quatro setores analisados no hospital público de referência no município de Fortaleza, CE, produzidos através do programa Autodesk Homestyler®, são evidenciados, em especial, as portas, janelas e aparelhos de ar condicionado.....	75

Figura 13 -	Distribuição das frequências absoluta e relativa dos sintomas apresentados pelos funcionários da biblioteca pública de referência no município de Fortaleza, CE, para esse questionamento, o funcionário poderia assinalar mais de uma resposta.....	78
Figura 14 -	Diagrama de dispersão entre o número de queixas e tempo de prestação de serviço em anos, havendo uma maior ocorrência a partir do 1 ano e meio de carga laboral na biblioteca pública de referência no município de Fortaleza, CE. A linha de tendência é evidenciada no gráfico.....	79
Figura 15 -	Distribuição das frequências absoluta e relativa dos sintomas apresentados pelos funcionários do centro comercial de referência no município de Fortaleza, CE, para esse questionamento, o funcionário poderia assinalar mais de uma resposta.....	82
Figura 16 -	Diagrama de dispersão entre o número de queixas e tempo de prestação de serviço em anos, havendo uma maior ocorrência a partir dos 6 meses de carga laboral no centro comercial de referência no município de Fortaleza, CE. A linha de tendência é evidenciada no gráfico.....	83
Figura 17 -	Distribuição das frequências absoluta e relativa dos sintomas apresentados pelos funcionários do hospital público de referência no município de Fortaleza, CE, para esse questionamento, o funcionário poderia assinalar mais de uma resposta.....	85
Figura 18 -	Diagrama de dispersão entre o número de queixas e tempo de prestação de serviço em anos, havendo uma maior ocorrência a partir dos 04 anos de carga laboral no hospital público de referência no município de Fortaleza, CE. A linha de tendência é evidenciada no gráfico.....	86
Figura 19 -	Cromatograma da mistura contendo 10 padrões (07 álcoois e 03 cetonas) na concentração de 100 µg/m ³	88
Figura 20 -	Dendograma de similaridade entre os COVFs, quanto maior similaridade (mais próximo do zero) identifica-se os próximos agrupamentos a serem formados. Os números do eixo y indicam o índice de Bray–Curtis e no eixo x os COVFs.....	95

Figura 21 -	Dendograma de similaridade entre os setores específicos da biblioteca pública de referência no município de Fortaleza, CE, quanto maior similaridade (mais próximo do zero). Os números do eixo y indicam o índice de Bray–Curtis e no eixo x os setores específicos.....	98
Figura 22 -	Dendograma de similaridade entre os setores específicos do centro comercial de referência no município de Fortaleza, CE, quanto maior similaridade (mais próximo do zero). Os números do eixo y indicam o índice de Bray–Curtis e no eixo x os setores específicos.....	100
Figura 23 -	Dendograma de similaridade entre os setores específicos do hospital terciário do município de Fortaleza, CE, quanto maior similaridade (mais próximo do zero). Os números do eixo y indicam o índice de Bray–Curtis e no eixo x os setores específicos.....	103
Figura 24 -	Dendograma de similaridade entre todos os achados fúngicos de todos os ambientes analisados, quanto maior similaridade (mais próximo do zero). Os números do eixo y indicam o índice de Bray–Curtis e no eixo x os achados fúngicos.....	106
Figura 25 -	Dendograma de similaridade frente a análise quantitativa (UFC.m-3) das amostras fúngicas. Os números do eixo y indicam o índice de Bray–Curtis e no eixo x os setores específicos da biblioteca pública de referência no município de Fortaleza, CE.....	108
Figura 26 -	Imagen do gênero <i>Cladosporium</i> sp. corado em lactofenol azul-algodão e observado através de microscopia óptica, ocular 16x, objetiva 40x, aumento total de 640x.....	109
Figura 27 -	Imagen do gênero <i>Penicillium</i> sp. corado em lactofenol azul-algodão e observado através de microscopia óptica, ocular 16x, objetiva 40x, aumento total de 640x.....	109
Figura 28 -	Dendograma de similaridade entre os achados fúngicos presentes nos setores específicos da biblioteca pública de referência no município de Fortaleza, CE. Os números do eixo y indicam o índice de Bray–Curtis e no eixo x os achados fúngicos.....	110
Figura 29 -	Dendograma de similaridade frente a análise quantitativa (UFC.m-3) das amostras fúngicas. Os números do eixo y indicam o índice de Bray–	

Curtis e no eixo x os setores específicos do centro comercial de referência no município de Fortaleza, CE.....	113
Figura 30 - Dendograma de similaridade entre os achados fúngicos presentes nos setores específicos do centro comercial de referência no município de Fortaleza, CE. Os números do eixo y indicam o índice de Bray–Curtis e no eixo x os achados fúngicos.....	114
Figura 31 - Dendograma de similaridade frente a análise quantitativa (UFC.m-3) das amostras fúngicas. Os números do eixo y indicam o índice de Bray-Curtis e no eixo x os setores específicos do hospital terciário do município de Fortaleza, CE.....	116
Figura 32 - Dendograma de similaridade entre os achados fúngicos presentes nos setores específicos do hospital terciário do município de Fortaleza, CE. Os números do eixo y indicam o índice de Bray-Curtis e no eixo x os achados fúngicos.....	117
Figura 33 - Isolamento de leveduras em diferentes áreas do ambiente hospitalar, durante as estações seca e chuvosa que predominam no município de Fortaleza, Ceará.....	119
Figura 34 - Análise das Coordenadas Principais (PCO) para COVFs e amostras fúngicas.....	118
Figura 35 - Temperaturas máximas, temperaturas mínimas e umidade relativa do ar, durante os períodos analisados (estações seca e chuvosa) da biblioteca pública de referência no município de Fortaleza, CE.....	121
Figura 36 - Temperaturas máximas, temperaturas mínimas e umidade relativa do ar, durante os períodos analisados (estações seca e chuvosa) do centro comercial de referência no município de Fortaleza, CE.....	124
Figura 37 - Temperaturas máximas, temperaturas mínimas e umidade relativa do ar, durante os períodos analisados (estações seca e chuvosa) do hospital terciário do município de Fortaleza, CE.....	125
Figura 38 - Índice pluviométrico (em milímetros) distribuídos nos meses de setembro a novembro/2014 e março a maio/2015, município de Fortaleza, CE.....	126

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Ambientes ocupacionais selecionados e seus respectivos setores específicos, considerando os dois tipos de microbiota aérea (climatização artificial e natural).....	50
Quadro 2 - Listagem de reagentes e padrões utilizados para determinar e preparar as amostras dos COVFs.....	53
Quadro 3 - Parâmetros de análise em CG/EM.....	57
Quadro 4 - Compostos Orgânicos Voláteis Fúngicos selecionados como padrões para a presente pesquisa, devido ao fato de serem reportados com frequência na literatura micológica. Destaca-se ainda seu grupo químico, número CAS, fórmula estrutural, ponto de ebulição, massa molar e pressão de vapor.....	59
Quadro 5 - Análise quantitativa da biblioteca pública de referência no município de Fortaleza, CE e seus quatro setores específicos, com a descrição do número de portas, janelas, aparelhos de ar condicionado e ventiladores, sendo também aferida a taxa de ocupação humana por ambiente.....	71
Quadro 6 - Análise quantitativa do centro comercial público de referência no município de Fortaleza, CE e seus quatro setores específicos, com a descrição do número de portas, janelas, aparelhos de ar condicionado e ventiladores, sendo também aferida a taxa de ocupação humana por ambiente.....	73
Quadro 7 - Análise quantitativa do hospital público de referência no município de Fortaleza, CE e seus quatro setores específicos, com a descrição do número de portas, janelas, aparelhos de ar condicionado e ventiladores, sendo também aferida a taxa de ocupação humana por ambiente.....	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Comparação dos dados provenientes dos três ambientes frente aos seus perfis socioeconômicos, atividade laboral, estado de saúde e qualidade do ar.....	87
Tabela 2 -	Média das áreas de pico dos dez COVFs obtidos para diferentes tempos de amostragem de 20 min, 40 min, 60 min, 90 min e 120 min.....	89
Tabela 3 -	ANÁLISE DA MÉDIA, DESVIO PADRÃO (DP) E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (CV) PARA AS ÁREAS OBSERVADAS NO TEMPO DE 60 MIN, FRENTE AOS DEZ COVFs DETECTADOS.....	90
Tabela 4 -	Dados experimentais obtidos para cada padrão externo, expressos através da equação da reta ($y = ax + b$), coeficientes de determinação e correlação.....	91
Tabela 5 -	LIMITE DE DETECÇÃO (LD) E QUANTIFICAÇÃO (LQ) CALCULADOS ATRAVÉS DO MÉTODO VISUAL E MÉTODO DA CURVA ANALÍTICA.....	92
Tabela 6 -	AUSÊNCIA OU PRESENÇA DOS 10 PADRÕES EXTERNOS DE COVFs ELEGIDOS PARA A PESQUISA, FRENTE AO EXPERIMENTO I (USO DE UM FRASCO ROSQUEADO PARA DISPERSAR O MIX) E EXPERIMENTO II (USO DE UMA PLACA DE PETRI PEQUENA PARA DISPERSAR O MIX).....	93
Tabela 7 -	DISTRIBUIÇÃO DAS 88 AMOSTRAS POSITIVAS PARA OS COVFs EM CADA UM DOS SETORES E AMBIENTES MONITORADOS PELA PESQUISA, DURANTE O PERÍODO TOTAL DE COLETA.....	94
Tabela 8 -	DISTRIBUIÇÃO DOS COVFs POR AUSÊNCIA OU PRESENÇA EM CADA UM DOS SETORES E AMBIENTES MONITORADOS PELA PESQUISA.....	94
Tabela 9 -	DISTRIBUIÇÃO DAS MÉDIAS, DESVIO-PADRÃO E VALOR P DOS COVFs ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) POR SETOR ESPECÍFICO DA BIBLIOTECA PÚBLICA DE REFERÊNCIA NO MUNICÍPIO DE FORTALEZA, CE.....	96
Tabela 10 -	RESULTADOS DE CORRELAÇÃO ATRAVÉS DO TESTE T E O REAL NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA ENTRE OS ACHADOS DE COVFs PROVENIENTES DA BIBLIOTECA PÚBLICA DE REFERÊNCIA NO MUNICÍPIO DE FORTALEZA, CE.....	98
Tabela 11 -	DISTRIBUIÇÃO DAS MÉDIAS, DESVIO-PADRÃO E VALOR P DOS COVFs ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) POR SETOR ESPECÍFICO DO CENTRO COMERCIAL DE REFERÊNCIA NO MUNICÍPIO DE FORTALEZA, CE.....	99

Tabela 12 - Resultados de correlação através do teste T e o real nível de significância entre os achados de COVFs provenientes do centro comercial de referência no município de Fortaleza, CE.....	101
Tabela 13 - Distribuição das médias, desvio-padrão e valor p dos COVFs ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) por setor específico do hospital terciário do município de Fortaleza, CE.....	101
Tabela 14 - Resultados de correlação através do teste T e o real nível de significância entre os achados de COVFs provenientes do hospital terciário do município de Fortaleza, CE.....	103
Tabela 15 - Análise quantitativa (média de unidades formadoras de colônia fúngica por metro cubico – UFC/m ³) por ambiente e setores analisados, durante as estações seca e chuvosa que predominam no município de Fortaleza, Ceará.....	104
Tabela 16 - Distribuição dos COVFs por média ($\mu\text{g}/\text{m}^3$), desvio padrão, faixa de temperatura (máxima e mínima), umidade relativa do ar (%), precipitação atmosférica (mm) durante as estações seca e chuvosa para a biblioteca, centro comercial e hospital do município de Fortaleza, CE.....	128
Tabela 17 - Distribuição e quantificação fúngica em relação à sazonalidade, com destaque para a média em UFC.m ⁻³ , a faixa de temperatura (máxima e mínima), umidade relativa do ar (%), precipitação atmosférica (mm) durante as estações seca e chuvosa para a biblioteca, centro comercial e hospital do município de Fortaleza, CE.....	129

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância (<i>Analysis of Variance</i>)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
LBBI	Laboratório de Biofísica e Bioinstrumentação
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
COV	Composto Orgânico Volátil
COVFs	Compostos Orgânicos Voláteis Fúngicos
COVMs	Compostos Orgânicos Voláteis Microbianos
DEHA	Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i>
FUNCENE	Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
IRAS	Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
LAMIC	Laboratório de Microbiologia
LAT	Laboratório de Análise Traço
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
PRONAR	Programa Nacional de Controle de Qualidade do Ar
QAI	Qualidade do Ar Interior
SED	Síndrome dos Edifícios Doentes
UECE	Universidade Estadual do Ceará
UFC	Universidade Federal do Ceará
VMR	Valor Máximo Recomendável

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	24
2 OBJETIVOS	27
2.1 Geral.....	27
2.2 Específicos	27
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	28
3.1 Qualidade do Ar Interno	28
3.1.1 <i>Histórico da qualidade do ar</i>	28
3.1.2 <i>Aerobiologia e bioaerossóis</i>	31
3.1.3 <i>Bioaerossóis e sua relação com as doenças</i>	32
3.2 Síndrome dos Edifícios Doentes	33
3.2.1 <i>Risco ocupacional</i>	34
3.2.1.1 Bibliotecas.....	35
3.2.1.2 Centro comercial	36
3.2.1.3 Hospital	38
3.3 Bioindicador e Legislação.....	40
3.3.1 <i>Biologia dos fungos</i>	41
3.3.1.1 Identificação laboratorial dos fungos	41
3.3.2 <i>Legislação nacional e estadual</i>	42
3.4 Técnicas de análise do ar	44
3.4.1 <i>Técnicas com amostras fúngicas</i>	44
3.4.2 <i>Técnicas com uso dos Compostos Orgânicos Voláteis Microbianos</i>	45
3.4.2.1 Validação de métodos cromatográficos	46
3.4.2.1.1 Linearidade	47
3.4.2.1.2 Limite de Detecção	48

3.4.2.1.3 Limite de Quantificação	48
4 MATERIAL E MÉTODOS	50
4.1 Tipologia da pesquisa.....	50
4.2 Aspectos éticos.....	50
4.3 Seleção dos locais de coleta.....	50
4.3.1 Caracterização dos locais de coleta	51
4.3.1.1 Biblioteca pública de referência do município de Fortaleza.....	51
4.3.1.2 Centro comercial de referência do município de Fortaleza	52
4.3.1.3 Hospital terciário da rede pública do Estado do Ceará	52
4.4 Análise espacial dos ambientes laborais	52
4.5 Investigação do discernimento do trabalhador sobre a qualidade do ar	53
4.5.1 Confecção do questionário	53
4.6 Período e coleta de amostras	54
4.6.1 Protocolo para análise dos COVFs	54
4.6.1.1 Reagentes e padrões para análise dos COVFs	54
4.6.1.1.1 Preparo dos padrões dos COVFs.....	54
4.6.1.2 Amostragem de ar	55
4.6.1.3 Extração e análise dos cartuchos de adsorvente.....	57
4.6.1.4 Quantificação dos COVFs	57
4.6.1.5 Análises cromatográficas	58
4.6.2 Coleta das amostras fúngicas	61
4.6.3 Condições climáticas	61
4.7 Análise e processamento laboratorial	61
4.7.1 COVFs.....	62
4.7.1.1 Parâmetros de análise cromatográfica.....	62
4.7.1.1.1 Linearidade.....	63
4.7.1.1.2 Limite de detecção (LD)	63

	22
4.7.1.1.3 Limite de quantificação (LQ)	63
4.7.1.1.4 Eficiência do cartucho	64
4.7.2 Amostras fúngicas.....	64
4.7.2.1 Identificação dos fungos filamentosos	65
4.7.2.2 Identificação dos fungos leveduriformes	66
4.8 Análise dos dados.....	70
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	72
5.1 Análise espacial dos ambientes laborais	72
5.1.1 <i>Biblioteca pública de referência do município de Fortaleza.....</i>	72
5.1.2 <i>Centro comercial de referência do município de Fortaleza.....</i>	73
5.1.3 <i>Hospital terciário da rede pública do município de Fortaleza</i>	75
5.2 Análise do discernimento dos trabalhadores sobre o ambiente de trabalho	76
5.2.1 <i>Análise quali-quantitativa dos trabalhadores da biblioteca pública.....</i>	76
5.2.2 <i>Análise quali-quantitativa dos trabalhadores do centro comercial</i>	81
5.2.3 <i>Análise quali-quantitativa dos trabalhadores do hospital público.....</i>	85
5.3 Análise dos COVFs.....	89
5.3.1 <i>Otimização do tempo de amostragem.....</i>	89
5.3.2 <i>Avaliação dos Parâmetros de Análise Cromatográfica</i>	91
5.3.2.1 Linearidade.....	91
5.3.2.2 Limite de detecção e quantificação	92
5.3.2.3 Eficiência do cartucho.....	93
5.3.3 <i>Análise Qualitativa dos COVFs.....</i>	94
5.3.4 <i>Análise Quantitativa dos COVFs.....</i>	97
5.3.4.1 Análise Quantitativa dos COVFs na Biblioteca.....	97
5.3.4.2 Análise Quantitativa dos COVFs no Centro Comercial	100
5.3.4.3 Análise Quantitativa dos COVFs no Hospital	102

5.4 Análise das Amostras Fúngicas	105
<i>5.4.1 Análise Quantitativa e Qualitativa de amostras fúngicas na Biblioteca</i>	108
<i>5.4.2 Análise Quantitativa e Qualitativa de amostras fúngicas no Centro Comercial</i>	112
<i>5.4.3 Análise Quantitativa e Qualitativa de amostras fúngicas no Hospital</i>	116
5.5 Comparação entre COVFs e amostras fúngicas.....	120
5.6 Análise das Condições Climáticas	124
6 CONCLUSÕES	131
7 RECOMENDAÇÕES	133
REFERÊNCIAS.....	135
ANEXO 1 – TERMO DE AUTORIZAÇÃO	157
ANEXO 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	158
ANEXO 3 – MEIOS DE CULTURA, CORANTES E SOLUÇÕES	159
ANEXO 4 – TÉCNICAS E TESTES COMPLEMENTARES.....	163
APÊNDICE 1 – INSTRUMENTO AVALIATIVO PARA ANÁLISE ESPACIAL DOS AMBIENTES LABORAIS	168
APÊNDICE 2 – QUESTIONÁRIO DE RISCO OCUPACIONAL	169

1 INTRODUÇÃO

É fato que a maioria dos seres humanos despende cerca de 80% de seu tempo diário ocupando ambientes internos (STATHOLOUPOU *et al.*, 2008; PERERA *et al.*, 2012). Nos últimos anos, evidências científicas indicam que o ar doméstico e de ambientes laborais podem ser mais seriamente poluídos do que o ar exterior na maioria das cidades industrializadas em todo o mundo (TERR, 2009; MORAIS *et al.*, 2010; SOUSA; FORTUNA, 2011; PANTOJA *et al.*, 2012; PERERA *et al.*, 2012; GUO *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2016).

Similarmente ao que já vem se observando em âmbito internacional, a expectativa é de que no Brasil ocorra um aumento no controle da qualidade do ar de ambientes internos, bem como a adoção de medidas mais rigorosas específicas para fontes de diferentes naturezas e a inclusão de um programa de medida e controle desses contaminantes (CONAMA, 1990; BRASIL, 2003; BRASIL, 2006; BRASIL, 2011a).

Entretanto, apesar da crescente preocupação mundial em relação à qualidade do ar em ambiente não industrial, no Brasil, são escassos os estudos realizados em torno do tema, estando alguns trabalhos concentrados nas regiões sul e sudeste (TERESA; PONSONI; RADDI, 2001; QUADROS, 2008; SIQUEIRA *et al.*, 2011; RIO DE JANEIRO, 2012; SCHLOSSER; SANTANA; SPINELLI, 2015).

Frente à legislação brasileira, as atuais metodologias para a análise microbiológica são escassas, estando mais bem documentadas as metodologias e parâmetros para as análises físico e químicas (CONAMA, 1990; BRASIL, 2003; BRASIL, 2006; BRASIL, 2011a). A falta de pesquisas na área microbiana se deve ao fato dos estudos em âmbito nacional serem relativamente recentes, a falta de incentivo a pesquisa na área, bem como a escassez de legislação específica que estabeleça padrões e metodologias de amostragem em ambientes internos não industriais, como escolas, residências, escritórios, bibliotecas, hospitais, centros comerciais, aeroportos, entre outros (MACHADO, 2003; PASTORELLO, 2008; PANTOJA *et al.*, 2012; PERERA *et al.*, 2012; AGUIAR, 2015).

A orientação técnica sobre Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior em ambientes climatizados artificialmente, de uso público e coletivo, recomenda o monitoramento e controle ambiental de fungos como marcador epidemiológico da contaminação microbiana (BRASIL, 2003), sendo esses denominados de fungos anemófilos (LACAZ, 2002; MENEZES; ALCANFOR; CUNHA, 2006; REGO; SANTOS, 2015). O Valor Máximo Recomendável (VMR) de 750 Unidades Formadoras de Colônias por metro cúbico (UFC/m³) de fungos, bem

como, considera-se inaceitável a presença de fungos patogênicos e toxigênicos (BRASIL, 2003).

Diferentes investigações de campo sugerem que a distribuição fúngica, em termos de concentrações e composições genéricas, varia entre as áreas geográficas, sendo também influenciadas por fatores ambientais sazonais, climáticos e outros (PEI-CHIN *et al.*, 2000a; HUANG *et al.*, 2002; HEIMANN *et al.*, 2015). Bem como, estudos mostram que a exposição a fungos do ar parece estar associada à gênese de patologias como Quadros asmáticos, aspergilose, pneumonite por hipersensibilidade, sinusite, rinite e algumas reações cutâneas (LACAZ, 2002; SCHIRMER *et al.*, 2011; FERNSTROM; GOLDBLATT, 2012), que culminam com a ausência de estudantes à escola e profissionais ao trabalho, ou a baixa produtividade em hospitais e ambientes ocupacionais (LI; KUO, 1992; SCHLEIBINGER *et al.*, 2008; JEON *et al.*, 2014; SEIXAS, 2014). Por exemplo, surtos de infecção hospitalar podem estar associados à contaminação de filtros de ar condicionado por bioaerossóis (DANTAS, 1998; LI *et al.*, 2007; RÍOS-YUIL *et al.*, 2012; NAKAMURA; CALDEIRA; AVILA, 2013; ANDRADE *et al.*, 2015).

Encontram-se disponíveis na literatura algumas técnicas que permitem a análise da qualidade do ar, tendo os fungos como bioindicadores, entretanto, não existe uma técnica amplamente aceita na comunidade científica (WU; SU; HO, 2000; BRASIL, 2003; TAVORA *et al.*, 2003; LUKASZUK *et al.*, 2011; NAPOLI; MARCOTRIGIANO; MONTAGNA, 2012). Todavia, pesquisas indicam que os métodos usuais apresentam uma série de inconvenientes, como a contagem demorada das unidades formadoras de colônias e os resultados que, muitas vezes, não se relacionam com a situação real do ambiente (TAVORA *et al.*, 2003; BASTOS, 2005; BOGOMOLOVA; KIRTSIDELI, 2009).

Dentro deste contexto, a busca por métodos mais acurados de caracterização da composição fúngica no ar se faz necessária. Sabe-se que quando o fungo se desenvolve no interior da estrutura de um edifício ou em filtros de ventilação, claramente, há uma quantidade razoável de "contaminação oculta", não podendo ser detectada apenas através de uma inspeção visual. Bem como, é fato que os fungos quando começam a se desenvolver emitem para a atmosfera Compostos Orgânicos Voláteis de origem microbiana (COVMs), neste caso, denominados de Compostos Orgânicos Voláteis Fúngicos (COVFs) que surgem das vias metabólicas ou a partir da degradação de materiais, devido à liberação de enzimas produzidas pelos fungos (WILKINS, 2002; MOULARAT *et al.*, 2008a; MOULARAT *et al.*, 2008b; ARAKI *et al.*, 2009; CHOI; SCHMIDBAUER; BORNEHAG, 2016).

Ao contrário dos esporos fúngicos, os COVFs são dispersos no ambiente e não são retidos pelos substratos, consequentemente, detectando esses compostos será possível determinar uma contaminação precoce, visto que as técnicas disponíveis são rápidas e de alta sensibilidade (MOULARAT *et al.*, 2008b; MORATH; HUNG; BENNETT, 2012; IQBAL *et al.*, 2014). Estudos mostraram que certos sintomas (dores de cabeça, irritação dos olhos, entre outros) podem ser produzidos por COVs em concentrações de 5 a 25 µg/m³ (NURMATOV *et al.*, 2013).

Diante do exposto, estudos visando estabelecer uma estimativa dos níveis de COVFs em ambientes ocupacionais são escassos no Brasil, não existindo legislação nacional, o que motiva a buscar essas informações e, dessa forma, contribuir para o estudo sistematizado da Aerobiologia nacional.

Bem como, é fato que o conhecimento dos fungos anemófilos de um dado ambiente é importante para o diagnóstico ecológico e para o tratamento específico de manifestações alérgicas e para outras infecções causadas por esses micro-organismos. Além disso, sabe-se que a microbiota fúngica varia de um local para outro e de uma época para outra, devido à variação dos fatores determinantes das características ambientais de cada região, o que torna necessária a realização de estudos sistemáticos nacionais e internacionais para a verificação da dinâmica da microbiota fúngica.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Estimar a qualidade do ar interno por meio da determinação de bioaerossóis e Compostos Orgânicos Voláteis Fúngicos (COVFs), visando melhorias no monitoramento e controle de ambientes ocupacionais no município de Fortaleza, Ceará.

2.2 Específicos

- Diagnosticar o discernimento do trabalhador sobre a qualidade do ar de seu ambiente laboral frente ao tipo de atividade, estado de saúde e condições do ar ambiente de trabalho;
- Avaliar e otimizar os parâmetros de coleta e análise dos bioaerossóis (achados fúngicos) e COVFs presentes no ar de cada ambiente investigado (biblioteca, centro comercial e hospital);
- Identificar e quantificar os COVFs presentes no ar dos ambientes pesquisados, estabelecendo um protocolo e classificando-os por abundância;
- Identificar e quantificar os achados fúngicos presentes no ar dos ambientes pesquisados;
- Relacionar a variação climática com a diversidade de achados fúngicos e os COVFs;
- Mapear a presença dos achados fúngicos e COVFs, dos ambientes laborais analisados, visando auxiliar a tomada de decisão de seus gestores em relação aos riscos ocupacionais, devido à ausência de legislação nacional em vigor sobre os COVFs.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Qualidade do Ar Interno

A Qualidade do Ar Interno (QAI) é definida pela legislação brasileira (BRASIL, 2003) como uma condição do ar ambiental de interior, resultante do processo de ocupação de um ambiente fechado com ou sem climatização artificial. Logo, o estudo da QAI é importante para garantir saúde aos ocupantes dos diferentes edifícios, bem como o ótimo desempenho de suas atividades (GIODA; AQUINO NETO, 2003; SOUZA *et al.*, 2016).

3.1.1 Histórico da qualidade do ar

Situações relacionadas à qualidade do ar não são recentes. Segundo Miller e Miller (1989), Mosley (2001) e Moreira (2004), apesar da poluição atmosférica ser considerada como um dos dilemas ambientais importantes e contestáveis da sociedade moderna, também é caracterizada como um dos problemas mais remotos.

Na Era Primitiva (a mais de 370 milhões de anos), os vulcões já eram responsáveis pelo lançamento de carga poluidora no ar. Uma das razões das tribos serem nômades era mudar, periodicamente, para longe do mau odor dos resíduos produzidos por animais e vegetais (ODUM; BARRETT, 2007). Quando o homem primitivo aprendeu a usar o fogo, ele o utilizou, durante milênios, de uma forma que alterava a qualidade do ar no interior do local onde vivia, respirando os produtos da combustão incompleta (ODUM; BARRETT, 2007).

Em 361 a.C., Theophrastos já se referia a substâncias fósseis que podiam queimar por um longo tempo, mas cujo odor era incômodo e desagradável (STERN *et al.*, 1984). Enquanto que, 65 a.C., o poeta Horácio já lamentava que os templos de Roma estivessem enegrecidos pela fumaça, quando, então, surgiram os primeiros reclames a respeito da poluição do ar (OLIVEIRA, 2000).

No século XIII (1273), o rei inglês Eduardo estabeleceu as primeiras medidas relacionadas à qualidade do ar, proibindo o uso de carvão com alto teor de enxofre, devido aos problemas com a fumaça e o odor. Posteriormente, Elizabeth I proibiu a queima do carvão, em Londres, durante as sessões do Parlamento, no sentido de reduzir a fumaça e odor produzidos. Nos EUA, a regulação da fumaça foi considerada como de responsabilidade municipal, período que não haviam leis federais ou estaduais (CAVALCANTI, 2010).

Nos EUA, a primeira regulamentação que limitava as emissões foi em 1880 e encontrava-se direcionada para indústrias, em especial para as locomotivas e os navios, excluindo as fontes domésticas, enquanto que na Inglaterra, em 1848, a agência de saúde torna-se responsável pelos níveis de fumaça e cinzas, surgiu a responsabilidade objetiva por danos ao meio ambiente, que teve grande repercussão em outros países do mundo (DELGADO, 2008). Culminando em 1853, quando surgiram as primeiras leis destinadas ao controle da “fumaça”. Os principais avanços tecnológicos para o controle da poluição ocorreram no século XIX com uso dos lavadores de gases, ciclones e filtros de tecido (STERN *et al.*, 1984; SCHNELLE; BROWN, 2001; COELHO; REZENDE, 2016).

Desde então, as amplas e arejadas construções horizontais, comuns à arquitetura do século XIX cederam lugar no século XX a módulos verticais menores e fechados. Essa verticalização foi propiciada pelo desenvolvimento de materiais mais resistentes e leves e obrigou que se desenvolvessem mecanismos para a proteção e o conforto da sociedade (EDUARD; HEEDERIK, 1998; SCHOSSLER; SANTANA; SPINELLI, 2015).

O homem se viu obrigado a se adaptar ao seu novo ambiente para usufruí-lo com conforto, através do controle da iluminação, da temperatura e da ventilação (WESTBROOK; ISARD, 1999; ANDREASI; VERSAGE, 2007). O controle das condições ideais mostrava-se mais complexo à medida que o plano das edificações se afastava do solo.

Por exemplo, sabe-se que as primeiras indagações acerca da influência das condições de conforto térmico sobre o rendimento no trabalho foram desenvolvidas pela Comissão Americana da Ventilação, em 1916, quando a mesma efetuou pesquisas frente ao trabalho físico do operário, devido a demanda da Revolução Industrial e às situações especiais de guerra. Em seus estudos, a mesma comprovou que o aumento de temperatura ambiente de 20 °C para 24 °C diminuiu o rendimento em 15%, bem como trabalhar em temperatura ambiente de 30 °C, com umidade relativa em 80%, a produção laboral cai em 28% (FROTA, 2014).

Do ponto de vista histórico, a ciência Engenharia passou a considerar o condicionamento ambiental como variável de conforto indispensável. Desta forma, os ambientes condicionados artificialmente foram colocados à disposição da humanidade a partir da década de 1930. Nessa época, o conceito de poluição interior considerava os seus ocupantes como os únicos poluentes existentes em um ambiente interno (RODRIGUES *et al.*, 1997).

Em linhas gerais, os espaços abertos nas edificações passaram a exigir maior controle e várias variáveis foram consideradas, como à velocidade do vento, a intensidade do frio e do calor, entre outras. Os sistemas de controle das condições do ambiente interior adquiriram, portanto, posição de hegemonia em relação ao sistema natural (ASHRAE, 1992).

Dentro desse contexto, a tecnologia buscou reproduzir e melhorar as condições naturais de conforto para permitir que o ser humano pudesse usufruir do ambiente interior (CUNHA, 2010).

Na década de 1950, nos EUA, surgiu a primeira regulamentação federal que fornecia base para a pesquisa, treinamento e assistência técnica em poluição do ar. A responsabilidade pela administração do programa federal era do Serviço de Saúde Pública, do Departamento de Saúde, Educação e Bem-estar dos EUA, assim denominado até 1970, quando foi substituído pela *Environmental Protection Agency – EPA*, sendo essa legislação alterada e ampliada várias vezes ao longo dos últimos anos (CAVALCANTI, 2010).

Logo, antes da década de 1960, pouca experiência era demonstrada na estrutura arquitetônica, utilização e controle dos ambientes de trabalho, como, por exemplo, nas áreas hospitalares. Nas últimas décadas, conceitos básicos de controle ambiental foram introduzidos nas práticas hospitalares e nos componentes de engenharia. Como resultado, os projetos arquitetônicos, os princípios de utilização de áreas específicas e os programas de controle têm sido muito estudados (TERESA; PONSONI; RADDI, 2001; CORDEIRO *et al.*, 2010; ANDRADE *et al.*, 2015).

Na década de 1970 foi constatado o aumento do uso de sistemas de ar condicionado nas edificações, concomitantemente, ocorreu uma crise do petróleo e a mudança dos materiais de construção alteraram os rumos do condicionamento ambiental interno, pois a economia de energia passou a ser uma prioridade, reduzindo gradualmente as taxas de renovação de ar, bem como o índice de umidade, tendo também ocorrido mudanças nas concepções da arquitetura, tanto do ponto de vista interno como externo, agravando ainda mais a QAI (ASHRAE, 1992; ANDREASI; VERSAGE, 2007).

Culminando, no início da década de 1980, com o surgimento da expressão Síndrome dos Edifícios Doentes (SED) que se refere à “relação de causa e efeito, entre as condições ambientais observadas em áreas internas, com reduzida renovação de ar e os vários níveis de agressão à saúde de seus ocupantes” (SIQUEIRA, 2000, p. 1307).

A partir de década de 1990, o tema ambiente embolsou maior destaque na esfera internacional, motivado pela discussão sobre a sustentabilidade dos processos de desenvolvimento, havendo reflexos nacionais. Foi precisamente em 1989 que foi criado o Programa Nacional de Controle de Qualidade do Ar (PRONAR), com o intuito de promover a orientação e controle da poluição atmosférica no país. O primeiro dispositivo legal decorrente do PRONAR, foi à resolução do Conama de nº 03, de 28 de junho de 1990, que estabeleceu os novos padrões nacionais de qualidade do ar em substituição aos fixados pela Portaria MINTER Nº 231/76. Além de estender o número de parâmetros regulamentados de quatro para sete

(partículas totais, partículas inaláveis, fumaça, dióxido de enxofre, monóxido de carbono, dióxido de nitrogênio e ozônio), foi introduzida na legislação a Figura dos padrões secundários de qualidade do ar, mais restritivos que os primários, constituindo-se seu atendimento em meta de longo prazo (CONAMA, 1990).

Nos dias atuais uma das principais iniciativas nesse campo está voltada para uma estreita articulação de alguns setores de governo à construção e à implementação de agendas ambientais, que especifiquem programas e atividades que conduzam, efetivamente, a resultados sustentáveis. Embora os indivíduos imunosuprimidos sejam os mais atingidos pelos patógenos do meio ambiente, serem humanos imunocompetentes podem se infectar (RODRIGUES *et al.*, 1997; ANDRADE *et al.*, 2015). Portanto, a reduzida taxa de renovação do ar constituiu um risco atual e eminente na transmissão de micro-organismos em áreas ocupacionais.

3.1.2 Aerobiologia e bioaerossóis

O aumento da contaminação do ar, em especial nos grandes centros urbanos, tem se tornado cada vez mais importante como fonte de agravo à saúde do homem e dos demais seres vivos (PANTOJA; COUTO; PAIXÃO, 2007).

Os organismos biológicos presentes no ar (viáveis ou não viáveis), suas origens, o transporte e a deposição em relação às condições meteorológicas e seus impactos sobre seres vivos, como animais ou plantas (MOREAU, 1994; BIEVRE, 1998; FERNSTROM; GOLDBLATT, 2012) são estudados por uma ciência denominada Aerobiologia, também definida como a ciência das partículas no ar de origem orgânica (COOPER, 2015). A mesma busca embasamento científico em outras ciências como Imunologia, Micologia, Microbiologia, Meteorologia, Biologia, dentre outras, construindo um alicerce básico para estudar a produção, a liberação, o transporte e a deposição das partículas biológicas, também chamadas de bioaerossóis (MAIN, 2003; GAO *et al.*, 2014; OH *et al.*, 2015).

Informações sobre os bioaerossóis vêm aumentando na literatura científica, principalmente em razão dos efeitos adversos que podem causar à saúde (TERESA; PONSONI; RADDI, 2001; SCHIRMER *et al.*, 2011; GUO *et al.*, 2013; OH *et al.*, 2015). Bioaerossóis são definidos como partículas de origem biológica, suspensas no ar, geradas natural ou artificialmente, que podem existir na forma de uma única célula, aglomerados de micro-organismos viáveis ou partículas não viáveis de vários tamanhos (PASTUSZKA *et al.*, 2000; GAO *et al.*, 2014). São numerosos e diversificados: vírus, bactérias, propágulos fúngicos, cistos

de protozoários, grãos de pólen, fragmentos de plantas, insetos, bem como qualquer partícula originada das mesmas.

Essas partículas biológicas dispersas no ar podem perfazer de 10 a 50% de sua massa total, dependendo da estação do ano e da localização geográfica. O tamanho das partículas pode variar de 0,01 µm até mais de 100 µm (MADELIN, 1994; WESTBROOK; ISARD, 1999; BURGE, 2002; MAIN, 2003). A principal fonte de aerossóis é a suspensão de poeiras, contendo agentes biológicos, seja de origem animal ou vegetal (CAVINATTO, 1991; MASSOUDINEJAD *et al.*, 2015).

A colonização do ar depende das condições do ambiente, de forma que os micro-organismos variam em qualidade e quantidade, dependendo do local analisado, podendo ser diferenciados dois tipos de microbiota aérea: de ambientes fechados (internos) e de ambientes abertos (externos) (PASTUSZKA *et al.*, 2000; PEI-CHIN *et al.*, 2000a; HUANG *et al.*, 2002; REGO; SANTOS, 2015).

Os poluentes do ar externo podem ser provenientes de emissões naturais e antropogênicas. Frente às fontes antropogênicas, são exemplos clássicos, as emissões veiculares e as industriais, estando os veículos como as principais fontes que contribuem para a poluição do ar em centros urbanos. Contudo, também é importante salientar que a natureza pode contribuir para a poluição através de emissões biogênicas (SANTANA, 2002).

Enquanto os poluentes do ar interno podem ser provenientes de diversas fontes, a saber: materiais de construção, materiais de limpeza, solventes orgânicos, *layout* do prédio, o tipo de atividade que é desenvolvida, o tipo de ventilação, entre outras (BRICKUS; AQUINO NETO, 1999; REGO; SANTOS, 2015).

Segundo alguns pesquisadores os bioaerossóis de ambientes internos têm sido apontados como uma das principais causas de problemas respiratórios que culminam com a ausência de estudantes à escola e profissionais ao trabalho, ou a baixa produtividade em hospitais e outros ambientes ocupacionais (LI; KUO, 1992; CASTRO, 2007; SCHLEIBINGER *et al.*, 2008). Por exemplo, surtos de infecção hospitalar podem estar associados à contaminação de filtros de ar condicionado pelos bioaerossóis (DANTAS, 1998; LI *et al.*, 2007; QUADROS *et al.*, 2009; NAKAMURA; CALDEIRA; AVILA, 2013; ANDRADE *et al.*, 2015).

3.1.3 Bioaerossóis e sua relação com as doenças

As doenças infecciosas e não infecciosas induzidas pela inalação de diferentes bioaerossóis dependem não apenas das propriedades biológicas e composição química dos

componentes do ar, mas também do número de partículas inaladas e do sítio em que se depositam no sistema respiratório (LACAZ, 2002).

A deposição, em diferentes locais, depende do diâmetro aerodinâmico dessas partículas (PASTUSZKA *et al.*, 2000; GAO *et al.*, 2014). Em geral, afirma Ibañez-Henriquez (1993), citado por Lacaz (2002), a retenção nasal dos esporos é total para os que medem acima de 60 µm, diminuindo progressivamente, de tal forma que nos brônquios secundários, são removidos os menores de 10 µm e nos alvéolos, somente os menores de 1 µm, causando infecções, reações alérgicas, tóxicas e outras doenças graves, como aspergilose, histoplasmose, coccidioidomicose, entre outras (LACAZ, 2002; SIDRIM; ROCHA, 2004; DEGOBBI; GAMBALE, 2008; KÜNZLI; PEREZ; RAPP, 2010).

Apesar da necessidade de monitoração dos níveis de bioaerossóis na avaliação dos riscos para a saúde, diferenças entre amostradores automáticos e técnicas de cultivo dificultam a comparação dos resultados, tanto que, existem divergências entre os pesquisadores frente a um limite microbiológico de exposição ocupacional amplamente aceito (EDUARD; HEEDERIK, 1998; CENTENO; MACHADO, 2004; PANTOJA; COUTO; PAIXÃO, 2007; ANDRADE *et al.*, 2014).

3.2 Síndrome dos Edifícios Doentes

A Organização Mundial da Saúde reconheceu a existência da baixa qualidade do ar de interiores como uma questão de saúde ocupacional, pois se refere a uma relação de causa e efeito entre as condições ambientais de trabalho e a redução da produtividade do trabalhador decorrente de agressões ao bem-estar e ao conforto, denominando-a de Síndrome do Edifício Doente (SED) (WHO, 2006).

Em geral, os edifícios possuem 20% dos usuários expostos com alguns sintomas característicos, como, ataques de falta de ar, tosse, expectoração, aperto no peito, espirros, irritação e secreção nasal, irritação na garganta, irritação ocular, febre, dor muscular, tonteira, dermatites de contato, entre outros (DEGOBBI; GAMBALE, 2008; SANGUESSUGA, 2012; SILVA *et al.*, 2015).

Como afirmam Silva e colaboradores (2015), um edifício que possui a SED não provoca uma doença propriamente dita, ele coopera no sentido de agravar enfermidades de pessoas propensas ou de provocar um estado transitório em algumas pessoas. Nesse sentido, os sintomas parecem estar vinculados ao tempo de permanência no local, já que, alguns desses,

diminuem rapidamente ao sair para o almoço, ao retornar para casa no fim do expediente ou mesmo quando surge o intervalo do fim de semana.

Com a SED, os locais de trabalho se tornam desagradáveis, com eficiência de trabalho reduzida e aumento no absenteísmo (LIMA; MORORÓ, 2009).

3.2.1 Risco ocupacional

No campo da saúde ocupacional, a Higiene do Trabalho trata-se de uma ciência que aborda a avaliação e o controle de agentes que podem vir a levar o funcionário a adquirir uma doença ocupacional, como através de agentes físicos, químicos e biológicos (SALIBA; CORREA, 2009). Nesse último aspecto está inserido o objeto de estudo da presente tese.

A doença ocupacional ou profissional ocorre quando o trabalhador agride o organismo continuamente ou com frequência, e por um longo tempo, no seu ambiente laboral (ARRUDA, 2010). Logo, quando as condições de trabalho ultrapassam os limites toleráveis pelo corpo humano, a probabilidade de gerar uma doença é significativa (SOUZA *et al.*, 2016).

A ocorrência da doença profissional depende da natureza, da intensidade e do período de exposição ao agente agressivo (SALIBA; CORREA, 2009); ao se tratar de qualidade do ar, o trabalhador encontra-se constantemente exposto.

A partir do diagnóstico da doença e do estabelecimento de ligação com o trabalho, devem ser adotados os seguintes procedimentos: avaliação quanto à necessidade de afastamento; acompanhamento da evolução da situação clínica; notificação do agravo a órgãos competentes; busca ativa de outros casos no mesmo estabelecimento de trabalho; inspeção do local de trabalho, entre outros (BELLUSCI, 1996; CASTRO; SOUZA; SANTOS, 2010).

No caso da qualidade do ar de ambientes ocupacionais falta legislação nacional específica para que ocorra o pronto diagnóstico da Síndrome dos Edifícios Doentes, estabelecendo a ligação com o ambiente laboral. Por exemplo, a Norma Regulamentadora 15 (NR 15), que trata de atividades e operações insalubres, aborda ruído, calor, radiações, condições hiperbáricas, vibrações, frio, umidade, agentes químicos, poeiras minerais e agentes biológicos, logo, a mesma não aborda a qualidade do ar interno propriamente dita (NR, 2009).

Dentro deste contexto, a busca por métodos mais acurados de caracterização da composição da qualidade no ar se faz necessária. Sabe-se que quando o bioindicador (como os fungos) se desenvolve no interior da estrutura de um edifício ou em filtros de ventilação, claramente, há uma quantidade razoável de "contaminação oculta", não podendo ser detectada apenas através de uma inspeção visual. Bem como, é fato que os fungos quando começam a se

desenvolver emitem para a atmosfera Compostos Orgânicos Voláteis de origem microbiana (COVMs), neste caso, denominados de Compostos Orgânicos Voláteis Fúngicos (COVFs) que surgem das vias metabólicas ou a partir da degradação de materiais, devido à liberação de enzimas produzidas pelos fungos (WILKINS, 2002; MOULARAT *et al.*, 2008a; MOULARAT *et al.*, 2008b; ARAKI *et al.*, 2009; CHOI; SCHMIDBAUER; BORNEHAG, 2016).

Nesse sentido, estudos sistematizados e a busca de novas técnicas poderão contribuir para o monitoramento da qualidade do ar em diferentes ambientes laborais, como bibliotecas, centros comerciais e hospitais.

3.2.1.1 Bibliotecas

As bibliotecas têm predisposição a apresentar problemas com a qualidade do ar quando não há um controle sobre a refrigeração e a umidade, além de, às vezes, faltar manutenção preventiva dos aparelhos de ar condicionado, tornando-os disseminadores de micro-organismos e outros poluentes (DANTAS; RICARDI, 2000; CARTAXO *et al.*, 2007; UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECONCAVO DA BAHIA, 2011).

A umidade, por exemplo, é um dos fatores determinantes para o crescimento de micro-organismos e que afeta salas mal construídas e pouco arejadas. Tais características põem em risco não somente a preservação do acervo, mas também a garantia do conforto do público e dos trabalhadores que ficam expostos ao ar contaminado (NASCIMENTO, 2011).

Para isso, o controle ambiental é de fundamental importância dentro de uma biblioteca, sendo necessária a manutenção da luz, da temperatura e da umidade (KING; PEARSON; CASSAR, 2001; STRAUSZ; MACHADO; BRICKUS, 2007), levando a melhorias nas condições de conservação do acervo e da saúde dos funcionários e frequentadores do local. Assim, para controlar todas essas variáveis seria necessário um sistema de refrigeração ambiental de alta qualidade, o que seria inviável em muitos acervos nacionais (REIS-MENEZES, 2009).

No tocante a normatização, em 28 de agosto de 1998 a Portaria 3.523/98 do Ministério da Saúde estabeleceu a aprovação de Regulamento Técnico contendo medidas básicas referentes aos procedimentos de verificação visual e do estado de limpeza, remoção de sujeiras por métodos físicos e manutenção da integridade e eficiência dos sistemas de climatização como um todo (BRASIL, 1998), para garantir a qualidade do ar de interiores e a prevenção dos riscos à saúde dos ocupantes de ambientes climatizados (DANTAS; RICARDI, 2000), o que representou um avanço nacional para minimizar as causas desse problema.

Bem como, percebeu-se que ações para prevenir doenças são necessárias, como buscar informação adequada sobre os métodos de desinfecção e conservação; solicitar sugestões de especialistas para a manutenção de um ambiente saudável para o funcionário e os usuários do espaço e também do uso de acessórios (equipamentos de proteção individual) para proteção dos bibliotecários e pessoas que realizam o serviço de limpeza (COSTA *et al.*, 2008).

A falta de informação e desconhecimento sobre as consequências da SED fazem os funcionários, geralmente, não se preocuparem com qualidade do ar, devido as causas estarem escondidas em elementos invisíveis e aparentemente inofensivos (MANO, 2000), bem como, ser fato, que os sintomas dessa síndrome contribuem para a improdutividade no trabalho, já que os funcionários ficam debilitados para realizar plenamente suas atividades (CASTRO, 2007).

A literatura especializada descreve que algumas espécies de fungos, frequentemente encontradas no ar em bibliotecas, tais como *Aspergillus niger* e *Aspergillus fumigatus*, são corriqueiramente associadas às patologias humanas, sendo uma causa frequente de alergias e micoses respiratórias (RÊGO; MAGALHÃES; SILVEIRA, 2004; STRAUSZ; MACHADO; BRICKUS, 2007).

Assim, a despeito da imensurável importância das bibliotecas públicas para o patrimônio cultural da humanidade, nem sempre essas instituições dispõem de corpo técnico habilitado para sua correta manutenção, nem dotações orçamentárias compatíveis, sendo esta a realidade ainda observada no Estado do Ceará.

3.2.1.2 Centro comercial

Foi a partir dos anos de 1980 que se intensificou a construção de centros comerciais, *shoppings centers*, em várias cidades brasileiras e, junto disso, a construção de grandes centrais de ar condicionado. Estes centros comerciais são frequentados por milhares de pessoas (COSTA; BRICKUS, 2000; ALVES; ALVES; SILVA, 2009). Os *shoppings centers* apresentam uma série de características peculiares, como vidros escuros, a fim de minimizar o gasto de calor, alguns não possuem ambientes com circulação de ar externo, o próprio ar condicionado atua como fonte geradora de temperatura, de movimentação do ar e de ventilação e alguns estão integrados em um único sistema de controle (GRANDI; GUIMARÃES, 2004; LEE *et al.*, 2012).

Diante dessas condições, é fato que algumas pessoas que convivem nesses ambientes fechados podem apresentar um conjunto de sintomas devido à sensibilidade a certas condições ambientais (GIODA; AQUINO NETO, 2003). Por exemplo, em 2000, Costa e

Brickus compararam a incidência de sintomas da SED entre funcionários de um *shopping center* com ar condicionado central e funcionários de lojas localizadas em ruas com ventilação natural. Os resultados indicaram que houve maior prevalência de sintomas nos funcionários do centro comercial com climatização artificial.

Pesquisa realizada pelo INMETRO (2003), pelo Programa de Análise de Produtos, verificou a conformidade do ar no interior de *shoppings centers*, salas de cinema e supermercados, em relação aos critérios definidos pelos regulamentos técnicos pertinentes. Um dos critérios utilizados foi a Resolução Nº 176, de 24 de outubro de 2000, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, que estabelece critérios e metodologias de análise para avaliar a qualidade do ar interior em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo e relaciona as principais fontes poluentes químicas e biológicas. Já a Portaria Nº 3.523, de 28 de agosto de 1998, do Ministério da Saúde, estabelece procedimentos de verificação visual do estado de limpeza e manutenção da integridade e eficiência de todos os componentes dos sistemas de climatização para garantir a qualidade do ar e prevenção de riscos à saúde dos ocupantes de ambientes climatizados.

Geralmente, os estabelecimentos que possuem sistemas climatizados artificialmente tendem a não atender aos critérios das legislações pertinentes no que se referem à realização das atividades de manutenção, limpeza e controle, necessárias para assegurar que o ar interior atenda aos parâmetros mínimos de qualidade (INMETRO, 2003). Logo, é necessário que avaliações sejam realizadas com regularidade, bem como campanhas de esclarecimento aos funcionários e usuários.

Também, destaca-se trabalho pontual na região Nordeste. Trata-se de uma pesquisa realizada sobre a poluição do ar e saúde nos principais centros comerciais da cidade de Natal-RN. Os resultados obtidos revelam que a poluição do ar nesses centros comerciais apresenta índices consideráveis, representado pelos sintomas verificados na população entrevistada. Aparentemente são sintomas passageiros, mas, devido ao fato dessas pessoas estarem expostas a um período de tempo diário significativo, tais sintomas podem vir a desencadear outros tipos de doenças de ordem respiratória mais grave (ALVES; ALVES; SILVA, 2009).

A partir desses acontecimentos, constata-se que o tema da poluição do ar desperta o interesse na comunidade acadêmica de várias cidades brasileiras, em especial, através da realização de estudos para a investigação dos indícios da poluição do ar e dos seus efeitos na saúde humana, dada a escassez na literatura.

3.2.1.3 Hospital

Na área médica, a importância com a qualidade do ar e seus bioindicadores, os fungos, aumenta devido ao crescente número de pacientes com imunossupressão adquirida ou induzida, como câncer, transplante de medula óssea ou de órgãos sólidos, infecção por vírus da imunodeficiência adquirida ou administração prolongada de corticosteróides, os quais tornam os pacientes vulneráveis para infecções fúngicas oportunistas (WALSH; GROLL, 1999; PROCOP; ROBERTS, 2004; MORETTI, 2007; NAKAMURA; CALDEIRA; AVILA, 2013).

Na atualidade as infecções fúngicas em ambiente hospitalar atingem o mundo todo. Para as pesquisadoras Nakamura, Caldeira e Avila (2013, p. 50) “o rastreamento de bioaerosóis, da microbiota presente em áreas adjacentes e nos profissionais de saúde, pode auxiliar na avaliação de índices epidemiológicos de micro-organismos responsáveis pelas infecções hospitalares”, informação essa já embasada por Martins-Diniz e colaboradores (2005), sendo atualmente denominadas Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS).

Por exemplo, de 1980 a 1990, a incidência dessas infecções em hospitais dos Estados Unidos praticamente dobrou, indo de 2,0 para 3,8 pacientes por 1000 internos (BECK-SAGUE; JARVIS, 1993). O maior aumento não aconteceu em unidades de transplante ou centros oncológicos, mas em unidades clínicas e cirúrgicas, demonstrando que as infecções fúngicas já nessa época não estavam limitadas a pacientes imunocomprometidos. Este aumento não se limita aos grandes hospitais, sendo também relatada na atualidade em pequenos hospitais comunitários (ANDRADE *et al.*, 2015).

A presença de fungos filamentosos hialinos e demáceos no ambiente hospitalar deve ser considerada, pois eles podem ser os responsáveis por diversas infecções em pacientes imunocomprometidos (WALSH; GROLL, 1999; PROCOP; ROBERTS, 2004). No grupo dos fungos filamentosos hialinos, o gênero *Aspergillus*, em especial a espécie *A. fumigatus*, é um dos agentes oportunistas mais citados na literatura, atuando particularmente em pacientes transplantados de medula óssea e neutropênicos (WANKE; LAZÉRA; NUCCI, 2000; LANG-YONA *et al.*, 2016). A inalação de partículas fúngicas é a via mais comum de transmissão e os surtos de aspergilose são comumente associados a reformas e construções, dentro e próximo aos hospitais (LUGAUSKAS; KRIKSTAPONIS, 2004; MARTINS-DINIZ *et al.*, 2005).

Outros gêneros de fungos hialinos que merecem destaque são *Fusarium*, *Acremonium*, *Paecilomyces* e *Scopulariopsis*, os quais são capazes de causar infecção hospitalar, refratárias à terapia convencional (WALSH; GROLL, 1999; HOOG *et al.*, 2000; PROCOP; ROBERTS, 2004).

Os zigomicetos (*Rhizopus*, *Mucor*, *Absidia*, entre outros) também são importantes agentes de infecções oportunistas. Eles são caracterizados por apresentarem micélio não septado (hifas cenocíticas) e estarem principalmente associados com cetoacidose diabética, neutropenia, hematologias malignas, sendo de alto risco para recém-nascidos e pacientes com trauma (RIBES; VANOVER-SAMS; BAKER, 2000; KONTOYIANNIS *et al.*, 2005).

Da mesma forma, os fungos filamentosos demáceos, tais como *Alternaria alternata*, *Cladosporium carriionii*, *C. sphaerospermum*, *Cyphelophora* sp., *Exophiala dermatitidis*, *E. jeanselmei*, *Fonsecaea compacta*, *F. pedrosoi*, *Phaeoannellomyces werneckii*, *Phialophora richardsiae*, *P. verrucosa*, *Xylohypha bantiana*, e as espécies dos gêneros *Bipolaris* e *Curvularia* (BITTENCOURT; MACHADO; ARAUJO, 2002; QIU-XIA *et al.*, 2008) estão correlacionados na literatura como causadores de sinusite, pneumonia e infecções diversas em pacientes imunocomprometidos (WALSH; GROLL, 1999; FREGONEZI *et al.*, 2015; OLIVEIRA; BORGES-PALUCH, 2015).

Além dos fungos filamentosos, as infecções fúngicas em ambientes hospitalares podem ser causadas também por leveduras, como as do gênero *Candida*, as quais são constantemente implicadas no aumento das taxas de fungemias em hospitais terciários de várias partes do mundo e representam o principal fungo causador de infecção da corrente sanguínea (LUPETTI *et al.*, 2002; MEDRANO *et al.*, 2006; MORETTI, 2007; CORDEIRO *et al.*, 2010). Nacionalmente, o gênero *Candida* é responsável por cerca de 80% dos registros em hospitais terciários (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003).

Por estas razões, as infecções por esse gênero possuem grandes impactos na saúde pública, principalmente em ambientes hospitalares de alto risco, como Unidade de Terapia Intensiva - UTI e berçários (LUPETTI *et al.*, 2002). Além disso, o surgimento de espécies resistentes a antifúngicos associados a altos índices de mortalidade no mundo representa importante desafio terapêutico (HUANG *et al.*, 1999; GUINEA *et al.*, 2008; MIMICA *et al.*, 2009; PFALLER *et al.*, 2015).

Além do gênero *Candida*, outras leveduras, como *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces* e *Trichosporon*, apresentam considerável importância dentro do ambiente hospitalar, uma vez que podem desencadear Quadros infecciosos na dependência do *status* imune do paciente (WANG; WU; HSUEH, 2005; BAE *et al.*, 2016; ESTHER JUNIOR *et al.*, 2016).

Assim, os hospitais constituem ambientes que necessitam de maior atenção, no que diz respeito ao monitoramento ambiental das suas mais diversas áreas, visando identificar as

possíveis fontes de contaminação/disseminação e os agentes etiológicos envolvidos (MARTINS-DINIZ *et al.*, 2005).

A literatura mostra que, embora lenta, houve evolução nas tentativas de melhorar o ar hospitalar. Entretanto, novas pesquisas devem ser estimuladas, pois, embora os pacientes imunocomprometidos sejam os mais atingidos pelos patógenos do meio ambiente, pacientes imunocompetentes e, mesmo, os profissionais da saúde também podem se infectar (RODRIGUES *et al.*, 1997; NAKAMURA; CALDEIRA; AVILA, 2013). Segundo Li e Kuo (1992), os bioaerossóis de ambientes fechados são apontados como uma das principais causas de problemas respiratórios que culminam com a ausência de estudantes da escola e profissionais do trabalho, ou a baixa produtividade em hospitais e ambientes ocupacionais. Portanto, a reduzida taxa de renovação do ar constitui risco iminente na transmissão de micro-organismos em áreas hospitalares.

3.3 Bioindicador e Legislação

A orientação técnica sobre Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior em ambientes climatizados artificialmente, de uso público e coletivo, recomenda o monitoramento e controle ambiental de fungos como marcador epidemiológico da contaminação microbiana (BRASIL, 2000; BRASIL, 2003).

Os fungos que comumente habitam o ambiente aéreo são denominados fungos anemófilos ou alergizantes, destacando-se os pertencentes aos gêneros *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp. (ALEXOPOULOS; MIMS; BLAKWEL, 1996; HOOGet *et al.*, 2000; PANTOJA *et al.*, 2012; ANDRADE *et al.*, 2015; OLIVEIRA; BORGES-PALUCH, 2015; REGO; SANTOS, 2015). Entretanto, dependendo do grau de exposição, outras espécies também podem colonizar o ar.

Diferentes investigações de campo sugerem que a distribuição fúngica, em termos de concentrações e composições genéricas, varia entre as áreas geográficas, sendo também influenciadas por fatores ambientais sazonais, climáticos e outros (PEI-CHIN *et al.*, 2000a; HUANG *et al.*, 2002; PANTOJA; COUTO; PAIXÃO, 2007).

Estudos mostram que a exposição a fungos do ar parece estar associada a várias doenças respiratórias. Muitas asmas ditas “de clima” estão na dependência ou em relação íntima com a flora micótica do ar, existindo, ainda outras patologias como aspergilose, pneumonite por hipersensibilidade, rinite e algumas reações tóxicas, como toxicose sistêmica aguda, além de micoses com graus variados de dificuldade de tratamento (REPONEN *et al.*, 1996; PEI-

CHIN *et al.*, 2000b; AGUIAR, 2015; FREGONEZI *et al.*, 2015). Assim fungos filamentosos, hialinos ou demáceos e leveduras, fazem parte de um universo com significativa importância na chamada alergia respiratória (PROCOP; ROBERTS, 2004; LI *et al.*, 2007; OLIVEIRA; BORGES-PALUCH, 2015).

3.3.1 Biologia dos fungos

Numa abordagem generalista, os fungos se caracterizam por serem eucarióticos, heterotróficos, unicelulares (leveduras) e/ou multicelulares (filamentosos), que se dividem por mitose, sendo diferenciados e identificados essencialmente por suas estruturas reprodutivas (SIDRIM; ROCHA, 2004).

As formas unicelulares produzem caracteristicamente estruturas arredondadas denominadas de blastoconídios. Quanto às formas filamentosas, mais numerosas, apresentam células tubulares, denominadas de hifas, que em conjunto formam o micélio. Essas hifas podem ser simples ou ramificadas, sendo também não septadas (cenocíticas) ou septadas (HOOG *et al.*, 2000; LACAZ, 2002; SIDRIM; ROCHA, 2004).

Hoje, sabe-se que os fungos exercem função crítica no ambiente, pois reciclam a matéria orgânica que muitas vezes se constitui em um poluente e/ou contém nutrientes em formas não aproveitáveis pelos outros organismos. Por isso, os fungos destacam-se por apresentarem um papel vital no equilíbrio do ecossistema, sendo os grandes degradadores de matéria orgânica, podendo atuar como saprófitos, simbiontes e parasitas (LACAZ, 2002). Além disso, os fungos vêm apresentando cada vez mais importância na perspectiva dos perigos para a saúde causados pelo micro-organismo em si ou através da produção de seus metabólicos. Frente ao risco de infecção, causam alergias e apresentam propriedades toxigênicas, bem como efeitos inflamatórios (FISCHER; DOTT, 2003; OLIVEIRA; BORGES-PALUCH, 2015).

À luz do conhecimento atual, fazem-se necessários monitoramentos periódicos da distribuição fúngica nos diferentes ambientes, visto que o grau de contaminação por esses organismos pode aumentar consideravelmente, em decorrência, por exemplo, de um microclima favorável (PERDELLI *et al.*, 2006; LANG-YONA *et al.*, 2016). Desse modo, a análise do ar, por exemplo, de um hospital, pode contribuir favoravelmente nas avaliações de determinação de risco para os pacientes e o corpo clínico de um dado ambiente hospitalar.

3.3.1.1 Identificação laboratorial dos fungos

Os fungos são de dois tipos morfológicos: leveduras, que são unicelulares e os fungos filamentosos, que são multicelulares. Existe um subgrupo dentro dos filamentosos, chamados fungos dimórficos, que se apresentam sob ambas às formas, dependendo principalmente da temperatura, mas sob influência também do teor de CO₂ e condições nutricionais (ALEXOPOULOS; MIMS; BLAKWEL, 1996; SIDRIM; ROCHA, 2004).

As leveduras têm como estrutura primária células que se reproduzem por brotamento, único ou múltiplo, em geral, de forma arredondada. Estas células são esporos de origem assexual e se denominam blastoconídios (LACAZ, 2002; BRITO, 2005).

Os fungos filamentosos possuem como elemento constituinte básico a hifa, que pode ser septada ou não septada (cenocítica). A partir da hifa formam-se esporos, para propagação das espécies. Na grande maioria dos fungos, os esporos podem ser chamados de conídios, pois nascem diretamente delas ou sobre estruturas ligas a elas (LACAZ, 2002; SIDRIM; ROCHA, 2004).

Esses conceitos fundamentais representam a base para a identificação de um fungo, pois a classificação de filamentosos é feita, em regra, pelas características morfológicas, tanto macroscópicas (cor, aspecto, textura da colônia, etc.), quanto microscópicas (forma e cor da hifa, presença ou não de septos, tipo e arranjo de esporos, entre outros), além da velocidade de crescimento (lenta, moderada ou rápida). A identificação de leveduras, ao contrário, é feita, principalmente, por características fisiológicas, desde que, a morfologia destes fungos não é muito variada e não permite distinção entre espécies e, em regra, entre gêneros (HOOG *et al.*, 2000).

3.3.2 Legislação nacional e estadual

A despeito da reconhecida participação dos fungos em Quadros de hipersensibilidade do trato respiratório, as publicações sobre a presença desses seres na atmosfera das cidades brasileiras ainda são reduzidas (GOMPERTZ *et al.*, 1999; TAKIZAWA, 2012). Com isso, atualmente, há grande dificuldade na caracterização de certas doenças respiratórias, fato que pode ser parcialmente explicado pelo desconhecimento da microbiota fúngica a que as populações estão expostas.

Apesar da necessidade de monitoração dos níveis de bioaerossóis na avaliação dos riscos para a saúde, diferenças entre amostradores automáticos e técnicas de cultivo dificultam a comparação dos resultados, tanto que existem divergências entre os pesquisadores frente a um limite microbiológico de exposição ocupacional amplamente aceito (EDUARD;

HEEDERIK, 1998; CENTENO; MACHADO, 2004; PANTOJA; COUTO; PAIXÃO, 2007), em suma, isso se deve a problemas, como: as técnicas automatizadas, apesar de serem eficientes na análise quantitativa, ainda têm seu uso limitado por serem equipamentos caros, barulhentos e pesados, bem como necessitarem de uma contínua alimentação de energia elétrica (TAVORA *et al.*, 2003), enquanto às técnicas de cultivo, apresentam limitações por não permitirem uma análise quantitativa adequada, porém, ainda são consagradas na literatura, sendo utilizadas como alerta microbiológico (SANCA *et al.*, 2002; CENTENO; MACHADO, 2004; BOGOMOLOVA; KIRTSIDELI, 2009).

Há numerosas propostas para determinação dos Valores Máximos Aceitáveis ou de conjuntos de valores que classifiquem as condições ambientais, com relação aos marcadores epidemiológicos (fungos e bactérias), através de padrões ou normas, indicados por Órgãos Governamentais, Órgãos e Sociedades Científicas ou Privadas ou ainda através de projetos de pesquisa, experiência profissional ou consenso científico.

Observa-se, porém, que essas propostas não são uniformes, sugerindo a possibilidade de variações decorrentes de variáveis macrogeográficas, climáticas e até mesmo socioeconômicas e tecnológicas (TERESA; PONSONI; RADDI, 2001; SOLOMON *et al.*, 2006).

No Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente, por meio da Resolução N° 3, de junho de 1990, estabelece os padrões de qualidade do ar nos ambientes externos que, ultrapassados, poderão afetar a saúde, a segurança e o bem-estar da população. No tocante às partículas inaláveis, os padrões primários e secundários são concentração média anual de 50 mg/m³ e concentração de 150 g.m⁻³.dia⁻¹, que não deve ser excedida mais de uma vez por ano (CONAMA, 1990). Enquanto que para os níveis de contaminantes biológicos do ar de interiores, que variam enormemente em função do tempo e espaço, não existem métodos e padrões amplamente aceitos no país.

No tocante ao território do Estado do Ceará foram estabelecidos os padrões de qualidade do ar definidos em nível nacional pela Portaria Normativa N° 348, de 14 de março de 1990, do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA, que visa estabelecer os padrões de qualidade do ar para: partículas totais em suspensão, fumaça, partículas inaláveis, dióxido de enxofre, monóxido de carbono, ozônio e dióxido de nitrogênio. Com base na literatura citada, pode-se afirmar não existirem portarias estaduais com limites para controle microbiano.

Ainda no âmbito nacional, após a morte do ministro Sérgio Mota, ocorrida em 20 de agosto de 1998, provável vítima da Síndrome do Edifício Doente (LOPES, 2004), surgiu a

primeira norma para ambientes climatizados, não aplicável a estabelecimentos de saúde, a Portaria Nº 3.523, de 28 de agosto de 1998, que aprova a Regulamentação Técnica referente aos procedimentos de verificação de limpeza, remoção de sujidades por métodos físicos e manutenção do estado de integridade e eficiência de todos os componentes dos sistemas de climatização (BRASIL, 1998).

Em 24 de outubro de 2000, foi publicada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) a Resolução Nº 176, contendo orientação Técnica sobre Padrões Referenciais de qualidade do ar interior, em ambientes de uso público e coletivo (BRASIL, 2000), que foi aprimorada pela Resolução Nº 9, de 16 de janeiro de 2003 (BRASIL, 2003).

Nesse sentido, a literatura mostra que, embora lenta, houve uma evolução na busca de uma melhoria na qualidade do ar através de normatizações.

3.4 Técnicas de análise do ar

3.4.1 Técnicas com amostras fúngicas

Com base nas normatizações acima citadas, muito se tem tentado propor frente aos fungos como bioindicadores, estando disponíveis na literatura algumas técnicas para análise da qualidade do ar; entretanto, não existe uma técnica amplamente aceita na comunidade científica.

No tocante as técnicas de coleta utilizadas para o cultivo de fungos anemófilos, destaca-se na literatura o Método de Sedimentação Passiva em placas de Petri, no qual as estruturas fúngicas, de acordo com o princípio da inércia e com o auxílio da gravidade, depositar-se-ão em placas (PEI-CHIN *et al.*, 2000a; BASTOS, 2005; PANTOJA; COUTO; PAIXÃO, 2007; PANTOJA *et al.*, 2012).

Entretanto, os atuais monitoramentos microbiológicos do ar afirmam que através do método passivo não se fornece informações sobre o nível real de contaminação. Por isso, nos últimos tempos, para caracterizar a composição de fungos no ar atmosférico estão disponíveis equipamentos que analisam amostras volumétricas de ar, tratam-se das técnicas automatizadas. Estes equipamentos permitem definir a periodicidade destes fungos anemófilos, como por exemplo, os aparelhos de impacto sólido (coletor do tipo Crivo) e aparelhos de impacto líquido (coletores tipo Fenda) (BRASIL, 2003; BASTOS, 2005).

Todavia, pesquisas indicam que os métodos atuais apresentam uma série de inconvenientes, como a contagem demorada das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) e os

resultados que, muitas vezes, não se relacionam com a situação real do ambiente (BASTOS, 2005).

A busca por métodos mais acurados de caracterização da composição fúngica no ar se faz necessária. Culminando nos últimos anos com a divulgação de protocolos que visam analisar Compostos Orgânicos Voláteis Microbianos (COVMs) em torno de amostra com possível contaminação fúngica, trata-se de uma técnica rápida e de alta sensibilidade, que historicamente foi utilizada para análise de fungos em cereais estocados por Kaminski e colaboradores, em 1974.

3.4.2 Técnicas com uso dos Compostos Orgânicos Voláteis Microbianos

Na atualidade, tem-se tentado estudar mais profundamente os COVMs como uma ferramenta para o monitoramento da qualidade do ar ambiente, mas muito ainda precisa ser avançado frente essa nova temática (ARAKI *et al.*, 2009). A literatura afirma que muitos micro-organismos produzem Compostos Orgânicos Voláteis (COV) que se sobrepõem aos COV de fontes não microbianas (utilizados como marcadores da contaminação físico-química do ar) (WÅLINDER *et al.*, 2005; MOULARAT *et al.*, 2011; CHOI; SCHMIDBAUER; BORNEHAG, 2016).

Frente a pesquisadores da qualidade do ar, COVs são definidos como compostos orgânicos que se encontram no estado gasoso ou em vapor que podem ser medidos por métodos analíticos (TUCKER, 2004). Sabe-se que uma parcela dos COVs encontrados no ambiente interno vem do ar externo, entretanto os níveis de COVs podem ser maiores internamente do que externamente, isso se deve as fontes internas poderem ser preponderantes, principalmente em edifícios novos onde os materiais de construção apresentam taxas mais altas de emissão, que vão diminuindo com o tempo. Bem como, destaca-se que fatores como estação do ano, temperatura e umidade relativa alteram as concentrações de COV (WANG; ANG; TADE, 2007).

No tocante aos COVMs tratam-se de COVs emitidos por micro-organismos, tais produtos variam e dependem não só da espécie, mas também das condições de crescimento, tais como a temperatura, nutrição e umidade relativa do ar (MENETREZ; FOARDE, 2002; ARAKI *et al.*, 2009).

A percepção dos COVMs é uma indicação de que o crescimento microbiano está ocorrendo, quando são relacionados aos fungos, são denominados de Compostos Orgânicos Voláteis Fúngicos (COVFs). Seu potencial para provocar efeitos na saúde humana como, dores

de cabeça, irritação nasal, tontura, fadiga e náuseas, são descritos na literatura (WÅLINDER *et al.*, 2005). Kim e colaboradores, em 2007, conseguiram encontrar uma associação entre sintomas respiratórios e concentração de COVFs em ambientes fechados, especificamente em escolas públicas suecas.

Alguns estudiosos começam a tentar estabelecer um protocolo para os COVFs através do sistema cromatografia gasosa/espectrometria de massa. Tais autores construíram curvas de calibração com COVFs específicos (cetonas e álcoois), a saber: 1-octen-3-ol, 3-metil-1-butanol, pentanol, 2-pentilfurano, 2-metil-furano, 3-metil-furano, 2-hexanone, 2-heptanone, tolueno, dimetil-sulfeto, dimetil-dissulfeto (WÅLINDER *et al.*, 2005; SCHLEIBINGER *et al.*, 2008; ARAKI *et al.*, 2009). Destaque para o trabalho de Wålinder e colaboradores (2005), que conseguiram estabelecer uma relação do 3-metil-furano com o aparecimento de doenças de vias aéreas, por se tratar possivelmente de um produto com propriedades biológicas ativas.

Nesse sentido, sabe-se que o exame e a caracterização da distribuição fúngica típica de um determinado ambiente pode ser útil em identificar associações entre a sensibilização fúngica doméstica e o diagnóstico clínico e a prevenção de doenças alérgicas sazonais (PLATTS-MILLS, 1998; PEI-CHIN *et al.*, 2000b; FREGONEZI *et al.*, 2015), além de contribuir para a análise das relações ecológicas existentes no próprio ambiente. Ademais, alguns estudiosos estão particularmente interessados em determinar a presença dos COVFs como “marcadores”, podendo os mesmos equivaler à contaminação dos ambientes, o que justifica a temática desta tese.

3.4.2.1 Validação de métodos cromatográficos

Conforme mencionado acima, os COVFs são definidos como compostos orgânicos que se encontram no estado gasoso ou em vapor que surgem das vias metabólicas ou a partir da degradação de materiais, devido à liberação de enzimas produzidas pelos fungos (WILKINS, 2002; MOULARAT *et al.*, 2008a; MOULARAT *et al.*, 2008b; CHOI; SCHMIDBAUER; BORNEHAG, 2016), que podem ser medidos por métodos analíticos (TUCKER, 2004), um dos métodos confiável e bem descrito na literatura internacional trata-se do sistema cromatografia gasosa/espectrometria de massa (WÅLINDER *et al.*, 2005; SCHLEIBINGER *et al.*, 2008; ARAKI *et al.*, 2009).

A validação cromatográfica deve ser amparada por parâmetros de desempenho analítico ou métodos de separação, a saber: seletividade, linearidade e faixa de aplicação,

precisão, exatidão, limite de detecção, limite de quantificação e robustez (BRASIL, 2011b; RIBANI *et al.*, 2004; INMETRO, 2007; SANTOS, 2015).

Nacionalmente encontram-se disponíveis duas agências credenciadoras para verificar a competência de laboratórios de ensaios, a ANVISA e o INMETRO, os quais disponibilizam guias para o procedimento de validação de métodos analíticos, respectivamente, a Resolução ANVISA RE nº 899, de 29/05/2003 e o documento INMETRO DOQ-CGCRE-008, de março/2003, revisado em junho/2007 (ANVISA, 2003; INMETRO, 2003; RIBANI *et al.*, 2004; INMETRO, 2007).

Em pesquisas que trabalham com uma busca ativa pela detecção dos COVFs no ar de ambiente internos, não se faz necessário o uso e análise de todos os parâmetros de desempenho analítico disponíveis na literatura. Com base em Brasil (2011b), basta a validação com base no limite de detecção, quantificação e linearidade.

3.4.2.1.1 Linearidade

O parâmetro linearidade trata-se da capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (ANVISA, 2003).

A faixa de trabalho linear da curva de calibração deve, necessariamente, contemplar a faixa de concentração esperada para a amostra de ensaio. Sempre que possível, o valor esperado para a amostra de ensaio deve se situar em torno do centro da curva de calibração (BRASIL, 2011b). Conforme afirmam Ribani e colaboradores (2004, p. 774), a “faixa de aplicação é normalmente expressa nas mesmas unidades dos resultados obtidos pelo método”, como a presente tese trata-se de amostragem de ar, os valores foram expressos em $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

Na maior parte dos casos, a relação matemática entre o sinal e a concentração ou massa da espécie de interesse deve ser determinada empiricamente e pode ser expressa como uma equação de reta chamada de curva analítica ($y = ax + b$). A estimativa dos coeficientes de uma curva analítica a partir de um conjunto de medições experimentais pode ser efetuada usando o método matemático conhecido como regressão linear. Além dos coeficientes de regressão a e b , também é possível calcular, a partir dos pontos experimentais, o coeficiente de correlação R (CHUI; ZUCCHINI; LICHTIG, 2001; RIBANI *et al.*, 2004).

Um coeficiente de correlação maior que 0,999 é considerado como evidência de um ajuste ideal dos dados para a linha de regressão. A ANVISA recomenda um coeficiente de

correlação igual a 0,99 e o INMETRO um valor acima de 0,90 (ANVISA, 2003; INMETRO, 2003; INMETRO, 2007).

3.4.2.1.2 Limite de Detecção

O Limite de Detecção (LD) trata-se da concentração ou da massa mínima de analito que pode ser detectada em um nível conhecido confiável (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2006; SANTOS, 2015). Para outros, o mesmo é definido como a concentração do analito que produz um sinal de três vezes a razão sinal/ruído do equipamento (BRASIL, 2011b).

Para a determinação desse parâmetro deve-se diluir o padrão, a critério do analista, injetar em triplicada e calcular o valor médio, podendo esse ser detectado de três maneiras, a saber: 1) até um nível de concentração mínima detectável (método visual); 2) estimar a concentração correspondente a um sinal equivalente a três vezes o ruído (método relação sinal-ruído) ou 3) usar o método baseado em parâmetros da curva analítica (BRASIL, 2011b).

Para o método visual se faz necessário o acréscimo de concentrações conhecidas da substância de interesse, visando distinguir entre ruído e sinal analítico através da visualização da menor concentração aparente (detectável) (SHRIVASTAVA; GUPTA, 2012).

Enquanto que o método da relação sinal-ruído compara entre a medição dos sinais de amostras em baixas concentrações conhecidas do composto de interesse na matriz (GARP, 1999) e um branco (matriz isenta do composto de interesse) destas amostras, sendo as proporções mais aceitas 3:1 ou 2:1.

Por fim, o método da curva analítica, deve ser aplicado usando a fórmula:

$$LD = 3,3 \text{ (S/a)}$$

Onde “S” é a estimativa do desvio padrão da resposta, que pode ser a estimativa do desvio padrão do branco, da equação da linha de regressão ou do coeficiente linear da equação e “a” é o coeficiente angular da curva analítica (BRASIL, 2011b; RIBANI *et al.*, 2004; LEITE, 2008; SHRIVASTAVA; GUPTA, 2012).

3.4.2.1.3 Limite de Quantificação

O Limite de Quantificação (LQ) corresponde à menor concentração da substância em análise que pode ser medida, utilizando um determinado procedimento experimental

(ANVISA, 2003; RIBANI *et al.*, 2004; SANTOS, 2015), demonstrado que os critérios de veracidade e precisão foram atendidos.

Os mesmos critérios de LD podem ser adotados para o LQ, utilizando a relação 10:1, ou seja, o LQ pode ser calculado utilizando o método visual, a relação sinal-ruído ou a relação entre a estimativa do desvio padrão da resposta e a inclinação da curva analítica (RIBANI *et al.*, 2004; SHRIVASTAVA; GUPTA, 2012).

Com base em Huber (2010), o limite de quantificação do método analítico pode ser calculado a partir da seguinte equação:

$$LQ = 10 S / a$$

Em que “a” é o declive da reta de calibração e “S” representa o desvio padrão da linha de base ou, em sua substituição, uma boa aproximação daquele desvio, como por exemplo o desvio padrão residual da curva de calibração.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Tipologia da pesquisa

A presente pesquisa caracterizou-se como explicativa do tipo experimental, visto que, consistiu em determinar um objeto de estudo, selecionar as variáveis que seriam capazes de influenciá-lo, definir as formas de controle e de observação dos efeitos que a variável produz ao objeto (GIL, 2007).

Também foi classificada como uma pesquisa quantitativa e qualitativa do tipo exploratória, sob a abordagem do método hipotético-dedutivo. Portanto, a realização de tal investigação necessitou da coleta de dados (através de questionários, amostras biológicas), observação, levantamento bibliográfico e aplicação de novos métodos para a solução de um problema (SILVA; MENEZES, 2001).

4.2 Aspectos éticos

O projeto acompanhado de um termo de autorização (Anexo 1) solicitando o consentimento da Instituição para a realização da pesquisa foi encaminhado para os gestores da biblioteca pública e do centro comercial, assegurando-lhes sigilo quanto aos aspectos éticos e identificação do local.

O ambiente hospitalar foi o único que requereu o encaminhamento do projeto ao Comitê de Ética do próprio hospital. Após análise de seu colegiado, o projeto recebeu *ad referendum*, por não trabalhar diretamente com seres humanos, tendo recebido a autorização final do diretor geral da instituição.

4.3 Seleção dos locais de coleta

As coletas realizaram-se em ambientes específicos, considerando as diversas características peculiares ao espaço laboral, como o elevado número de ocupantes que transitam permanentemente ou ocasionalmente em seus espaços e suas referências no atendimento de diferentes funções aos cidadãos do município de Fortaleza, CE.

Dentro desse contexto foram selecionados três ambientes ocupacionais:

- Uma biblioteca pública de referência do município de Fortaleza;

- Um centro comercial de referência do município de Fortaleza;
- Um hospital terciário da rede pública do Estado do Ceará.

Após a escolha dos três ambientes ocupacionais, foram selecionados quatro setores específicos por ambiente, visto que, conforme Hess-Kosa (2002), os locais de coleta devem ser indicados com antecedência e planejamento, devendo esses locais estarem enquadrados em uma ou mais categorias: (1) local onde se percebe o pior caso de Qualidade do Ar Interior (QAI); (2) áreas com maior representatividade em tamanho e ocupação; (3) locais de preocupação especial (por exemplo, área hospitalar). Além desses aspectos, consideraram-se os dois tipos de microbiota aérea: de ambiente interno (climatização artificial/natural) e de ambiente externo (climatização natural), conforme o Quadro 1.

Quadro 1 – Ambientes ocupacionais selecionados e seus respectivos setores específicos, considerando os dois tipos de microbiota aérea (climatização artificial e natural).

Ambiente Ocupacional	Tipo de Climatização	Setores Específicos
Biblioteca	Artificial	Acervo Geral
		Setor de Estudos Individuais
		Recepção Principal
		Recepção de Estudos
Centro Comercial	Natural	1º andar (lojas)
		2º andar (lojas)
		Estacionamento 1
		Estacionamento 2
Hospital	Artificial	Unidade de Terapia Intensiva Adulta
		Enfermaria de Transplantes
		Recepção de Emergência
		Recepção Eletiva

Fonte: Elaborado pela autora (2016).

4.3.1 Caracterização dos locais de coleta

4.3.1.1 Biblioteca pública de referência do município de Fortaleza

A biblioteca pública participante da pesquisa foi fundada em 1972, localizada no *Campus do Pici*, está instalada em um prédio próximo ao Açude Santo Anastácio. No 1º andar, situa-se o acervo geral e no 2º, encontram-se a Diretoria, a Divisão de Coordenação de

Bibliotecas, a Divisão de Apoio Administrativo, a Divisão de Processos Técnicos, a Divisão de Desenvolvimento do Acervo, o Setor de Encadernação, o Setor de Coleções Especiais e o Salão de Estudos. Possui um acervo de aproximadamente 468.046 volumes (entre livros, teses, dissertações, periódicos, folhetos, fitas de vídeo e CD-ROMs), dos quais grande parte encontra-se informatizado e disponível para comunidade que a frequenta, apresentando uma média de 30.000 usuários/mês.

4.3.1.2 Centro comercial de referência do município de Fortaleza

O centro comercial selecionado trata-se do maior mercado da região Nordeste, inaugurado em 1809, desde então sofreu consideráveis modificações. Atualmente, o novo mercado compreende 9.690,75 m² e apresenta 559 boxes, 18 banheiros, distribuídos em 05 pavimentos, sendo um deles destinado ao estacionamento, oferecendo rampas, escadas e elevadores para o pleno acesso ao público. Oferece aos turistas e ao povo cearense artigos em couro, rendas, bordados, ouro, alimentos regionais, artigos de decoração e lembranças em geral, com média de 120.000 usuários/mês.

4.3.1.3 Hospital terciário da rede pública do Estado do Ceará

O hospital estudado foi inaugurado em 23 de maio de 1969. Trata-se de um dos maiores hospitais públicos vinculados a Secretaria Estadual de Saúde do Estado do Ceará, de atenção terciária, com atendimento à capital e interior, sendo referência nas especialidades de Cirurgia Geral, Neurologia, Neurocirurgia, Reumatologia, Nefrologia, Transplante Renal, Gineco-obstetrícia, Traumato-ortopedia, Oftalmologia, entre outras.

Também é caracterizado como uma instituição de ensino e pesquisa vinculada a cursos de graduação e pós-graduação, certificado por portaria interministerial (Ministérios da Saúde e Educação). O hospital realiza 1.150 cirurgias, 16 mil consultas e 100 mil exames laboratoriais por mês.

4.4 Análise espacial dos ambientes laborais

A análise espacial dos ambientes pesquisados foi realizada por intermédio de visitas técnicas a cada um dos setores, com o devido preenchimento de um instrumento avaliativo

(Apêndice 1), construído com base nos trabalhos de Borges (2012) e Pantoja, Couto e Paixão (2007).

Concomitantemente foram analisadas as plantas arquitetônicas de alguns setores, seguido da catalogação de fotos e do dimensionamento de todos os setores em croquis com visão 3D projetados através do programa Autodesk Homestyler®.

4.5 Investigaçāo do discernimento do trabalhador sobre a qualidade do ar

Após a análise espacial dos setores específicos, houve a confecção e aplicação de um instrumento, um questionário de risco ocupacional (Apêndice 2), visando investigar o discernimento do trabalhador sobre a qualidade do ar.

Foram realizadas algumas visitas técnicas (mais de duas por setor), visando analisar o trabalhador das mais diferentes jornadas laborais (turnos diurnos, vespertino e noturnos), tendendo a contemplar um público bastante heterogêneo.

Os questionários eram respondidos em datas previamente marcadas com os gestores de cada uma das Instituições participantes. Em cada setor específico, o trabalhador era convidado a participar da pesquisa, e em caso de resposta afirmativa, era entregue um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 2), onde ficava assegurado que a pesquisa não traria nenhuma forma de prejuízo, dano ou transtorno para aqueles que participassem, bem como, que todas as informações obtidas pela análise dos questionários seriam mantidas em sigilo e suas identidades não seriam reveladas.

4.5.1 Confecção do questionário

Para a confecção do instrumento de coleta foi realizada a identificação dos principais aspectos que caracterizam um questionário de risco ocupacional, levando em consideração autores como Bellusci (1998), Bettini (2006), Fleck e colaboradores (1999), Nahas e colaboradores (2009), Nascimento (2011), Silveira (2001), Valinote (2011), entre outros que abordam estes aspectos. Em seguida, houve a adequação das questões para o tema qualidade do ar.

Foram produzidos questionários semiestruturados contendo 20 questões de múltipla escolha, cujo conteúdo levou em consideração informações referentes ao perfil socioeconômico (05 questões), ambiente de trabalho (05 questões), estado de saúde (05 questões) e a qualidade do ar do ambiente de trabalho (05 questões) (Apêndice 2).

4.6 Período e coleta de amostras

Mensalmente foram coletadas amostras dos quatro setores específicos em cada um dos três ambientes ocupacionais, perfazendo, no final, 144 amostras de COVFs e 72 amostras fúngicas.

As coletas tiveram início em setembro/2014 e término em maio/2015, o que permitiu uma análise de cada um dos ambientes selecionados durante as duas estações do ano que historicamente predominam no Estado do Ceará, estação seca (setembro a novembro/2014) e estação chuvosa (março a maio/2015).

4.6.1 Protocolo para análise dos COVFs

4.6.1.1 Reagentes e padrões para análise dos COVFs

Para o presente trabalho os reagentes e padrões utilizados para determinação e preparação das amostras dos COVFs estão listadas no Quadro 2.

Quadro 2 – Listagem de reagentes e padrões utilizados para determinar e preparar as amostras dos COVFs.

Substância	Pureza	Marca
Metanol - MeOH	GC e PA	Vetec®
2-metil-1-propanol	GC (99.8%)	AccuStandart® PS-111C-07 (Lote: 780873)
2-pentanol	GC (99.3%)	AccuStandart® PS-111C-10 (Lote: 15495)
3-metil-1-butanol	GC (100%)	AccuStandart® PS-111C-13 (Lote: 20160)
2-metil-1-butanol	GC (99.0%)	AccuStandart® PS-111C-12 (Lote: 111-12-3808)
1-pentanol	GC (100%)	AccuStandart® PS-111C-09 (Lote: 12978)
2-hexanona	GC (92.6%)	AccuStandart® PS-411C-04 (Lote: 14956)
2-heptanona	GC (100%)	AccuStandart® PS-411C-05 (Lote: 16223)
3-octanona	GC (98.0%)	AccuStandart® PS-411C-09 (Lote: 411-09-3837)
1-octen-3-ol	GC (98.0%)	Santa Cruz SC-237604 (Lote: 3391)
3-octanol	GC (97.0%)	Santa Cruz SC-237876 (Lote: 3479)

Legenda: GC: Grau cromatográfico; PA: Grau para análise. Fonte: Elaborado pela autora (2016).

4.6.1.1.1 Preparo dos padrões dos COVFs

A identificação e quantificação dos COVFs foi realizada utilizando o método do padrão externo com cinco níveis de calibração: 1 a 1000 µg/m³ em metanol (MeOH). Todos os padrões utilizados foram preparados no dia da análise com um volume de injeção de 1 µL e injetados pelo menos 3 vezes.

4.6.1.2 Amostragem de ar

As amostras de ar para análise dos COVFs foram coletadas em cada um dos ambientes e setores selecionados, por sucção do ar com o auxílio de uma bomba de amostragem ativa (Figura 1).

Figura 1 – Bomba de amostragem de ar.



Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Uma parte da presente bomba foi confeccionada durante a tese de Sousa (2011) objetivando trabalhar com fluxo de médias vazões (400-600 mL/min), entretanto, como na presente tese a faixa a ser trabalhada é de baixa vazão, foram adicionadas válvulas em ambas as extremidades para redução da vazão (incluindo as mangueiras), visando adequar a mesma para um intervalo de vazão entre 80 a 100 mL/min, visto que a faixa recomendada para capturar os COVFs está entre 10 a 200 mL/min, conforme preconiza o Método TO-17, da USEPA (USEPA, 1999b), bem como, a faixa escolhida da presente tese é corroborada pela pesquisa de Moularat e colaboradores (2008a), que trabalharam com uma vazão de 100 mL/min, visando a detecção de fungos em ambiente fechado através da identificação de COVFs.

A calibração da bomba foi realizada a cada nova coleta, através de parceria com o Laboratório de Biofísica e Bioinstrumentação – LBBI da Universidade Estadual do Ceará – UECE e para tanto, foi utilizado um fluxômetro (AWM 2150V) com índice de confiança de 98,5% na faixa de operação entre 50 e 300 mL/min de fluxo. O sensor era conectado a um sistema de aquisição de dados (CB – 68LP, National Instruments®) e os valores de fluxo foram obtidos através do *software* LabVIEW 7.1.

A bomba de amostragem ao ser ligada forçava o ar passar por cartuchos específicos, tubos de 70 mm de comprimento e 6 mm de diâmetro (Marca 226-01 SKC-ANASORB CSC),

constituídos de 100 mg de carvão ativado na camada analítica e 50 mg de carvão ativado na camada de controle separados por espuma de poliuretano (Figura 2), conforme recomendado por Harper (2000). O sistema foi montado a uma altura equivalente à área de respiração humana, aproximadamente 1,50 m do chão e longe das paredes (BRASIL, 2003; WÄLINDER *et al.*, 2005; SCHLEIBINGER *et al.*, 2008; ARAKI *et al.*, 2009; SOUSA *et al.*, 2011).

Figura 2 – Cartuchos de 70 mm de comprimento e 6 mm de diâmetro (Marca 226-01 SKC-ANASORB CSC).



Fonte: Elaborado pela autora (2014).

As coletas ocorreram em duplicada por setor específico de cada um dos ambientes selecionados. No ato de coleta os cartuchos de amostragem tiveram suas extremidades abertas e alocados a entrada da bomba de amostragem de ar, posicionados perpendicularmente ao vento, vedados com uso de para-filme, visando uma vedação total (SCHIRMER; LISBOA, 2008) e envoltos em folhas de papel alumínio. Em seguida, eram colocados nos recipientes a base de isopor apropriados e mantidos refrigerados até a eluição e análise (SOUSA, 2011). Todas as análises foram realizadas no dia da coleta, para minimizar os riscos de contaminação e perda do material volátil.

4.6.1.2.1 Otimização do tempo de amostragem

O tempo de coleta das amostras do ar contendo COVFs foi determinado através de experimento realizado no Laboratório de Análise Traço do Departamento de Química Analítica e Físico Química da Universidade Federal do Ceará.

O experimento foi possível com o auxílio de uma bomba a vácuo; a mesma evacuou um dessecador previamente higienizado com o solvente metanol, usado na pesquisa, adicionado de uma placa de Petri contendo uma mistura de 10 padrões externos de COVFs na concentração de 100 µg/m³; a mesma permaneceu aberta durante todo o experimento, utilizando a bomba de

amostragem de ar calibrada para o intervalo de vazão entre 80 a 100 mL/min e com os seguintes tempos de amostragem: 20 min, 40 min, 60 min, 90 min e 120 min. Esse intervalo de tempo foi testado com base em trabalhos publicados, como Moularat e colaboradores (2008a), que usaram uma bomba de vazão de 100 mL/min por período de 30 min de exposição ambiental e o TO-17 que recomenda 50 min (USEPA, 1999b).

A amostragem para cada tempo de coleta foi realizada em triplicada. Em seguida, os cartuchos foram vedados e posteriormente tratados adequadamente para a análise dos COVFs por cromatografia gasosa/espectrometria de massa. Com esse experimento foi possível determinar o melhor tempo para a máxima retenção dos COVFs (presentes na amostra) pelo cartucho.

Logo após o tempo estipulado para a coleta de amostragem, os cartuchos tiveram suas extremidades vedadas com o para-filme e envoltos em filme plástico e folhas de papel alumínio, sendo mantidos refrigerados (SOUSA, 2011) no Laboratório de Análise Traço do Departamento de Química Analítica e Físico Química da Universidade Federal do Ceará.

4.6.1.3 Extração e análise dos cartuchos de adsorvente

Ao chegarem ao Laboratório de Análise Traço, para cada um dos cartuchos coletados a seção principal (100 mg) e controle (50 mg) foram transferidas para tubos rosqueados (vial claro rosqueado de 4 mL), em seguida, era adicionado 1 mL do solvente metanol, havendo a agitação manual e esporádica (a cada 5 minutos) por 30 minutos no total (PASTORELLO, 2008). Todas as etapas ocorreram à temperatura de refrigeração (SOUSA, 2011).

Em seguida, os tubos contendo as amostras eram envoltos por papel alumínio e mantidos em refrigeração dentro de uma caixa térmica até a injeção no CG-EM do Laboratório de Análise Traço do Departamento de Química Analítica e Físico Química da Universidade Federal do Ceará, ocorrendo a análise imediata, com no máximo 3 horas de espera.

Visando ter uma prova em branco do experimento, foram realizadas análises obedecendo ao mesmo processo de eluição em cartuchos sem exposição aos poluentes (SOUSA, 2011).

4.6.1.4 Quantificação dos COVFs

A partir dos resultados obtidos nos cromatogramas foi utilizado a equação descrita abaixo, visando a obtenção das concentrações (C) dos compostos orgânicos voláteis fúngicos monitorados nos pontos e áreas amostrados (NIOSH, 2003).

$$C = [(M_A + M_B) - (M_{B_A} + M_{B_B})] / V$$

Onde:

M_A = massa da substância na camada de coleta da amostra em μg ;

M_B = massa da substância na camada de controle da amostra em μg ;

M_{B_A} = massa da substância na camada de coleta do branco em μg ;

M_{B_B} = massa da substância na camada de controle do branco em μg ;

V = volume de ar amostrado em m^3 .

4.6.1.5 Análises cromatográficas

As análises ocorreram por cromatografia gasosa acoplado a um espectrômetro de massa quadrupolo DSQ (Marca Shimadzu - Modelo QP2010 *Plus*), tendo sido realizadas imediatamente ao término da coleta (no máximo em 6 h depois) visando minimizar o risco de interferências (perdas por volatização).

As condições cromatográficas de análise em CG-EM (Quadro 3) foram construídas a partir dos métodos TO-15 e TO-17, da USEPA (USEPA, 1999a e 1999b) e trabalhos de Araki e colaboradores (2009), Fiedler, Schütz e Geh (2001), Quadros (2008), Schleibinger e colaboradores (2008) e Schuchardt e Kruse (2009).

Quadro 3 – Parâmetros de análise em CG-EM.

Cromatografia gasosa	Coluna cromatográfica	RTX-5MS (Fase estacionária 5% fenil, 95% polidimetilsiloxano) (30 m X 0,25 mm X 0,25 μm)
	Programa de temperatura	Inicial: 35 °C durante 7 min, Aquecimento a 20 °C.min ⁻¹ até 75 °C, Aquecimento a 10 °C.min ⁻¹ até 125 °C (por 2 min), Tempo total de corrida: 16 min.
	Injeção	Modo <i>Splitless</i>
	Volume de injeção	1 μL
	Gás	Hélio

	Controle do fluxo	Velocidade linear
	Pressão	40,3 KPa
	Fluxo total	50,0 mL.min ⁻¹
	Fluxo na coluna	0,90 mL.min ⁻¹
	Velocidade linear	34,2 cm.sec ⁻¹
Especrometria demassa	Modo de ionização	El+ (70eV)
	Faixa de massa	40-350
	Velocidade do scan	1 Scan.S ⁻¹
	Temperatura de fonte	220 °C
	Temperatura de interface	250 °C

Fonte: Elaborado pela autora (2016).

O objetivo do uso do sistema CG-EM na presente pesquisa foi identificar os Compostos Orgânicos Voláteis Microbianos (COVMs), em especial os produzidos por fungos (COVF). Com base nos relatos da literatura, mais de 150 compostos são reportados como COVF (SCHLEIBINGER *et al.*, 2008; ARAKI *et al.*, 2009), em especial cetonas e álcoois, devido ao fato de serem metabólitos voláteis mais estáveis (WILKINS; LARSEN; SIMKUS, 2000). Nesse sentido, foram selecionados 10 COVF, 07 álcoois e 03 cetonas (Quadro 4).

Foram utilizados quatro requisitos para o reconhecimento de um composto no cromatograma, a saber: (1) espectro de fragmentos iônicos conhecidos e catalogados anteriormente; (2) probabilidade de reconhecimento pela biblioteca de espectros superior a 75%; (3) ausência de pico da mesma magnitude na análise de branco do mesmo cartucho; (4) área de pico ao menos três vezes superior à área dos ruídos (picos vizinhos a este no cromatograma) (QUADROS, 2008).

Quadro 4 - Compostos Orgânicos Voláteis Fúngicos selecionados como padrões para a presente pesquisa, devido ao fato de serem reportados com frequência na literatura micológica. Destaca-se ainda seu grupo químico, número CAS, fórmula estrutural, ponto de ebulação, massa molar e pressão de vapor.

Grupo Químico	Composto	Referências	CAS	Fórmula	Ebulição (°C)	Massa Molar	Pressão de vapor (mmHg/20°C)
Álcool	2-metil-1-propanol	[2, 3, 4, 6, 7, 8, 13, 16, 17, 18, 19, 21, 22]	78-83-1		108	74.12 g/mol	8
	2-metil-1-butanol	[3, 4, 11, 17, 19]	137-32-6		127.5	88.148 g/mol	3
	3-metil-1-butanol	[1, 3, 4, 5, 6, 8, 14, 16, 17, 18, 21, 22]	123-51-3		131.1	88.148 g/mol	1.5
	3-octanol*	[1, 4, 7, 14, 19, 21]	589-98-0		175	130.22 g/mol	1
	1-octen-3-ol*	[1, 3, 4, 5, 8, 10, 11, 15, 16, 19]	3391-86-4		174	128.21 g/mol	1
	1-pentanol	[1, 5, 8]	71-41-0		138	88.15 g/mol	1.3
	2-pentanol	[1, 14, 21]	6032-29-7		119.3	88.148 g/mol	1.3
Cetona	2-hexanone*	[1, 7, 10, 14, 16, 21]	591-78-6		127	100.16 g/mol	5
	2-heptanone*	[1, 6, 7, 10, 15, 19, 21, 22]	110-43-0		150-152	114.18 g/mol	2.1
	3-octanone	[1, 5, 6, 8, 9, 10, 15, 16, 19, 21]	106-68-3		169	128.21 g/mol	2

*Forte relação com o gênero *Aspergillus*.

Legenda: [1] ARAKI *et al.*, 2009. [2] COLMAN *et al.*, 2011. [3] FISCHER *et al.*, 2000. [4] KIVIRANTA *et al.*, 1998. [5] KORPI; PASANEN; PASANEN, 1998. [6] KORPI; PASANEN; VIITANEN, 1999. [7] KUSKE; ROMAIN; NICOLAS, 2005. [8] LARSEN; FRISVAD, 1994. [9] OLSSON *et al.*, 2000. [10] PASANEN; LAPPALAINEN; PASANEN, 1996. [11] POLIZZI *et al.*, 2012. [12] ROSALES, 2011. [13] ROSCH *et al.*, 2014. [14] RUDNICKA *et al.*, 2010. [15] SCHLEIBINGER *et al.*, 2008. [16] SCHNURER; OLSSON; BORJESSON, 1999. [17] SCHUCHARDT; KRUSE, 2009. [18] SUNESSON *et al.*, 1996. [19] SUNESSON *et al.*, 1995. [20] WÅLINDER *et al.*, 2005. [21] WESSEN; SCHOEPS, 1996. [22] WILKINS *et al.*, 1995.

Fonte: Elaborado pela autora (2016).

4.6.2 Coleta das amostras fúngicas

Para a coleta de amostras fúngicas, que ocorreram no mesmo período de coleta dos COVF_s, foi utilizado o sistema passivo de monitoramento, através do método da Sedimentação Passiva em placas de Petri de 150 mm de diâmetro, contendo o meio ágar Batata Dextrose (Himedia®) (LI; LIN, 1999; BASTOS, 2005). As placas foram dispostas em cada um dos setores analisados, expostas à mesma quantidade de tempo que a bomba de amostragem de ar e colocadas a uma altura de 1,5 m acima do solo – próximo da área de respiração humana (PEI-CHIN *et al.*, 2000a; PANTOJA; COUTO; PAIXÃO, 2007; PANTOJA *et al.*, 2012).

Após as coletas, as placas de Petri contendo as amostras biológicas foram vedadas com plastfilm, mantidas à temperatura ambiente e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia – LAMIC da Universidade Estadual do Ceará – UECE.

4.6.3 Condições climáticas

Durante todo o período de exposição dos cartuchos e das placas de Petri, tanto os ambientes com climatização natural como artificial, foram monitorados mediante o uso de termo higrômetro calibrado (Incoterm®), para a verificação das temperaturas máxima e mínima e umidade relativa do ar. Já os dados do monitoramento do índice pluviométrico foram fornecidos pela Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos – FUNCEME. Esses dados foram sendo catalogados, pois, de acordo com a literatura, comumente afirma-se que existe relação direta entre a contagem das colônias fúngicas e as condições climáticas da região (TERESA; PONSONI; RADDI, 2001; SOLOMON *et al.*, 2006).

4.7 Análise e processamento laboratorial

4.7.1 COVs

A fração total de COVs em ambientes internos e externos que se originam a partir de micro-organismos não é totalmente conhecida e pode variar de acordo com a natureza e a extensão do crescimento microbiano no interior do ambiente (WÅLINDER *et al.* 2005; AQS, 2010).

Nesse sentido, houve pesquisa, seleção do material de leitura e revisão bibliográfica frente aos protocolos internacionais e adaptações nacionais, visando estabelecer um protocolo acessível à realidade local (ARSEN; FRISVAD, 1994; SUNESSON *et al.*, 1995; WILKINS *et al.*, 1995; PASANEN; LAPPALAINEN; PASANEN, 1996; SUNESSON *et al.*, 1996; WESSEN; SCHOEPS, 1996; KIVIRANTA *et al.*, 1998; KORPI; PASANEN; PASANEN, 1998; KORPI; PASANEN; VIITANEN, 1999; SCHNURER; OLSSON; BORJESSON, 1999; FISCHER *et al.*, 2000; OLSSON *et al.*, 2000; KUSKE; ROMAIN; NICOLAS, 2005; WÅLINDER *et al.*, 2005; SCHLEIBINGER *et al.*, 2008; ARAKI *et al.*, 2009; SCHUCHARDT; KRUSE, 2009; RUDNICKA *et al.*, 2010; COLMAN *et al.*, 2011; ROSALES, 2011; POLIZZI *et al.*, 2012; ROSCH *et al.*, 2014).

Com base na realidade local, foi criado um protocolo para análise dos COVs, conforme encontra-se descrito na metodologia. As etapas do protocolo foram executadas no Laboratório de Análise Traço, do Departamento de Química Analítica e Físico Química da Universidade Federal do Ceará.

As amostras foram injetadas no sistema cromatográfico, através de um injetor manual, com modo de injeção *splitless* e volume de injeção de 1 µL, em uma coluna capilar RTX-5MS (fase estacionária 5% fenil e 95% polidimetilsiloxano), 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura. O hélio foi usado como gás de arraste com uma vazão constante de 0,9 mL·min⁻¹. Por fim, a análise qualitativa foi realizada utilizando um espectrômetro de massa (SCHLEIBINGER *et al.*, 2008; ARAKI *et al.*, 2009).

4.7.1.1 Parâmetros de análise cromatográfica

Para garantir que o presente método analítico gerasse informações confiáveis e interpretáveis sobre as amostras de ar, o mesmo teve que passar por uma avaliação, denominada validação (RIBANI *et al.*, 2004; INMETRO, 2007; SANTOS, 2015).

Com base na ANVISA (2003), a validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tanto, foram analisados alguns parâmetros cromatográficos, dentro eles, a saber: linearidade, limite de detecção e limite de quantificação (ANVISA, 2003; INMETRO, 2003, INMETRO, 2007; BRASIL, 2011b), bem como, devido às especificidades da presente tese, foi adicionado a análise de eficiência do cartucho.

4.7.1.1.1 Linearidade

Para o presente trabalho, foi considerada a relação matemática entre o sinal do detector e a concentração do composto de interesse que foi expressa através das equações das retas e seus respectivos coeficientes de correlação (*R*) (SHABIR, 2003). O coeficiente de correlação maior que 0,99 passou a ser considerado uma evidência de um ajuste ideal dos dados para a linha de regressão, equivalendo a recomendação da ANVISA, bem como foi considerado a sugestão do INMETRO, valores acima de 0,90.

4.7.1.1.2 Limite de detecção (LD)

O LD foi calculado de duas maneiras diferentes: método visual e método baseado em parâmetros da curva analítica, conforme já descrito na revisão de literatura da presente tese (BRASIL, 2011b; RIBANI *et al.*, 2004; LEITE, 2008; SHRIVASTAVA; GUPTA, 2012).

4.7.1.1.3 Limite de quantificação (LQ)

No presente trabalho, os mesmos critérios de LD (BRASIL, 2011b; RIBANI *et al.*, 2004; LEITE, 2008) foram adotados para o cálculo de LQ, utilizando a relação 10:1 (SWARTZ; KRUUL, 1998; ANVISA, 2003; RIBANI *et al.*, 2004; SHRIVASTAVA; GUPTA, 2012).

4.7.1.1.4 Eficiência do cartucho

Visando garantir que o tipo de cartucho selecionado para as coletas ambientais apresentasse eficiência na retenção dos 10 padrões externos de COVFs elegidos para a pesquisa, as seguintes experimentações laboratoriais foram realizadas, a saber:

Experimento I. Com o auxílio de uma bomba a vácuo foram retiradas as moléculas de gás de um dessecador previamente higienizado com o solvente usado na pesquisa; em seguida, adicionou-se um frasco rosqueado contendo uma mistura dos 10 padrões de COVFs na concentração de $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$; o mesmo permaneceu aberto durante 1 h, o mesmo tempo que a bomba de amostragem de ar foi acoplada e direcionou o ar para um cartucho (Figura 3).

Experimento II. Com o auxílio de uma bomba a vácuo foram retiradas as moléculas de gás de um dessecador previamente higienizado com o solvente usado na pesquisa; adicionou-se uma placa de Petri contendo a mistura dos 10 padrões COVFs na concentração de $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$; a mesma permaneceu aberta durante 1 h, o mesmo tempo que a bomba de amostragem de ar foi acoplada e direcionou o ar para um cartucho.

Figura 3 – Dessecador contendo o frasco rosqueado aberto contendo uma mistura dos 10 padrões externos na concentração de $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$, acoplado via mangueira ao cartucho e a bomba de amostragem de ar.



Fonte: Elaborado pela autora (2014).

4.7.2 Amostras fúngicas

Ao chegarem ao laboratório, as placas de Petri permaneciam incubadas à temperatura de 26 - 28 °C durante sete dias, realizando-se observações diárias. A partir do aparecimento de colônias fúngicas era realizada a contagem global das mesmas.

Após a contagem global das colônias, era feita uma triagem através das características macroscópicas, objetivando isolar todos os possíveis gêneros e espécies presentes em cada placa. Dessa forma, as colônias escolhidas eram repicadas para tubos com ágar Batata Dextrose (Himedia®), com o objetivo de purificar as colônias e dar prosseguimento aos procedimentos de identificação.

Quando verificado o crescimento isolado e puro das colônias, as características macromorfológicas das mesmas foram analisadas, constituindo-se na identificação preliminar de uma determinada espécie fúngica. Essa análise foi baseada no estudo dos seguintes aspectos (SIDRIM; ROCHA, 2004):

- a. Bordos: na periferia das colônias fúngicas pôde-se observar muitos desenhos, além do mais, em alguns casos, observou-se uma variação da coloração destes em relação ao centro;
- b. Textura: presença de alguns tipos, por exemplo: colônias algodonosas, colônias furfuráceas, colônias arenosas, colônias veludosas, colônias glabrosas;
- c. Relevo ou Topografia: as colônias apresentaram-se como colônias cerebriformes, rugosas, apiculadas, crateriformes;
- d. Pigmentação: levou-se em consideração o pigmento no verso e no reverso da colônia.

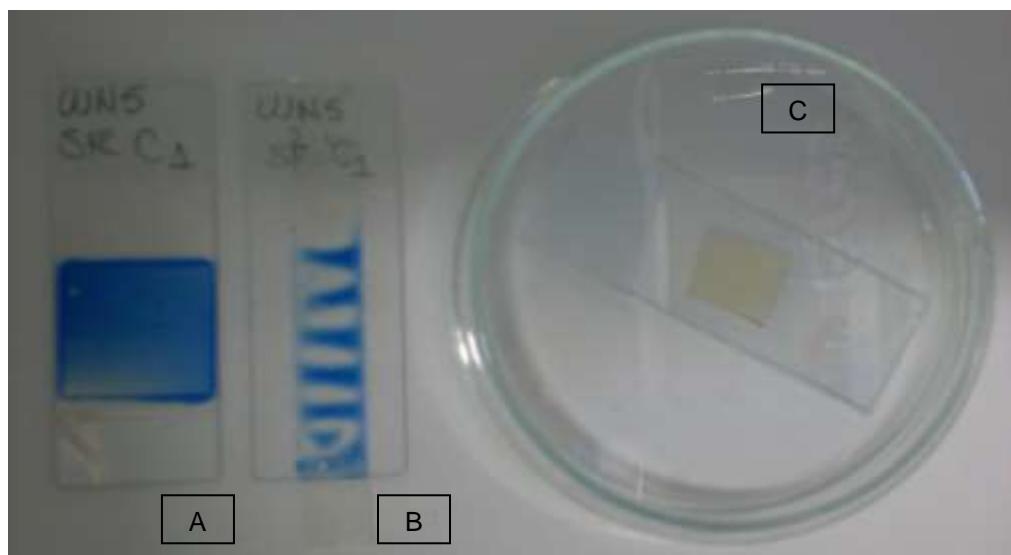
Para a análise microscópica, utilizou-se o corante lactofenol azul-algodão e um pequeno fragmento da colônia, que foi observado através de microscópio óptico. Caso esses achados não conduzissem a um diagnóstico preciso, a identificação laboratorial passava a ser realizada de acordo com os critérios apresentados abaixo.

4.7.2.1 Identificação dos fungos filamentosos

A identificação final das espécies foi realizada de acordo com a metodologia preconizada por Hoog e colaboradores (2000), utilizando-se chaves de identificação e testes fisiológicos para cada grupo. Posteriormente, realizou-se a análise dos achados micromorfológicos, com a confecção de lâminas, onde são empregadas três técnicas: preparação por desagregação (Figura 4A), montagem com fita adesiva transparente

(Figura 4B) e a técnica de microcultivo em lâmina (Figura 4C), preconizadas por Koneman e colaboradores (2001).

Figura 4 – A: Lâmina preparada por desagregação; B: Lâmina montada com fita adesiva transparente; C: Técnica de microcultivo em lâmina.



Fonte: Elaborado pela autora (2015).

4.7.2.2 Identificação dos fungos leveduriformes

As leveduras presentes neste estudo tiveram suas características micromorfológicas visualizadas por microcultivo em ágar fubá (*corn-meal*) com Tween 80 (Figura 5), técnica preconizada por Dalmau (1929), citada por Milan e Zaror (2004). Esta se baseia no princípio de que as leveduras, quando incubadas em meio com Tween 80 e em baixa tensão de oxigênio, apresentam a capacidade de filamentar, o que pode sugerir a espécie de levedura implicada na identificação.

Figura 5 - Placa com o meio *corn-meal* com Tween 80, mostrando esquematicamente os locais onde são feitas as estrias com os inóculos da levedura cuja micromorfologia se quer observar.



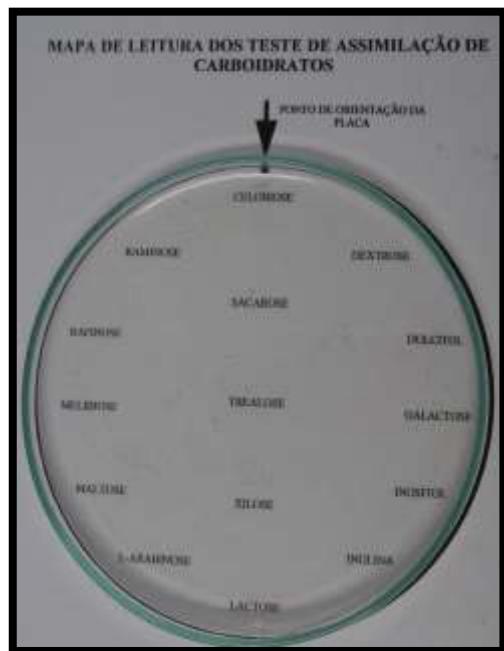
Fonte: Elaborado pela autora (2014).

Para a identificação definitiva, foram realizadas as seguintes provas complementares: assimilação de carboidrato, assimilação de nitrogênio, fermentação de carboidrato, crescimento em meio cromogênico e teste de produção de urease.

- Prova de Assimilação de Carboidrato

A prova de assimilação de carboidrato indica a habilidade de uma levedura utilizar determinado carboidrato como única fonte de carbono. Cada espécie possui padrão próprio de assimilação e os resultados estão condicionados a fatores de permeabilidade e sistemas enzimáticos que catalisam a degradação dos hidratos de carbono (Figura 6) (anexo VI e VII) (MILAN; ZAROR, 2004).

Figura 6 - Placa de Petri com meio para assimilação de carboidrato, pronto para iniciar a distribuição dos açúcares, seguindo a cartela-guia.



Fonte: SIDRIM; ROCHA, 2004.

- Prova de Assimilação de Nitrogênio

A prova de assimilação de nitrogênio indica a habilidade de uma levedura utilizar determinado composto nitrogenado como única fonte de nitrogênio. Cada espécie possui padrão próprio de assimilação e os resultados estão condicionados a fatores de permeabilidade ao sistema redutase que intervêm na redução do nitrato (Figura 7) (Anexos 3 e 4) (MILAN; ZAROR, 2004).

Figura 7 - Placa de Petri com meio para assimilação de nitrogênio, pronto para iniciar a distribuição das fontes nitrogenadas, seguindo a cartela-guia.

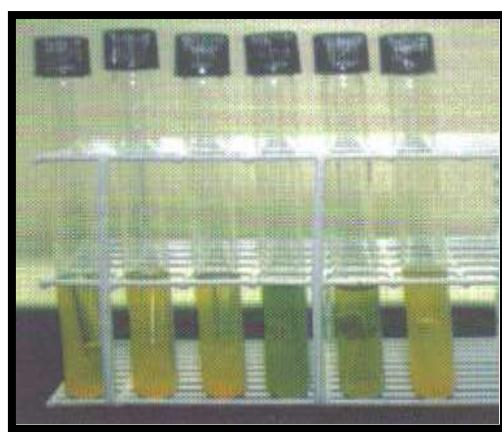


Fonte: SIDRIM; ROCHA, 2004.

- Prova de Fermentação de Carboidrato

A prova de fermentação (Figura 8) baseia-se na habilidade das leveduras fermentarem determinado açúcar na dependência da presença de um sistema de transporte que permitirá a absorção do açúcar a baixas tensões de O₂, havendo a formação de etanol e/ou anidrido carbônico. Essa prova foi executada conforme preconizado por Milan e Zaror (2004) (Anexos 3 e 4).

Figura 8 - Tubos dispostos para leitura do teste de fermentação de carboidrato.

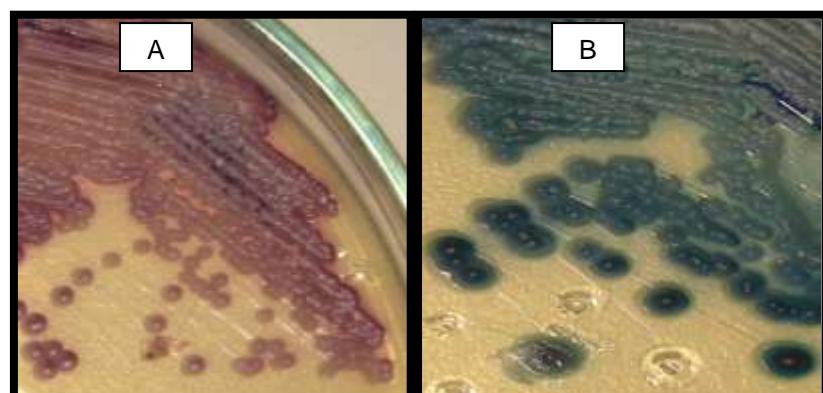


Fonte: SIDRIM; ROCHA, 2004.

- Crescimento em Meio Cromogênico

Utilizou-se o CHROMagar *Candida*® (anexo VI), por meio do qual se pode determinar algumas espécies de *Candida* mediante a visualização de uma pigmentação específica (Figura 9), por exemplo, *C. albicans* (verde claro), *C. tropicalis* (cinza-azulado). Com 48 horas de antecedência do experimento, a levedura a ser analisada era repicada para tubo rosqueado de 125 X 10 mm com meio ágar batata (Anexo 3) e incubada a 37 °C.

Figura 9 - Placas de CHROMagar *Candida*®: A – *Candida* sp., necessários testes adicionais para a identificação da espécie; B – *Candida albicans* em verde.



Fonte: Elaborado pela autora (2014).

Algumas das cepas identificadas foram estocadas em solução salina à temperatura ambiente, havendo a criação de uma micoteca que foi depositada no Laboratório de Microbiologia – LAMIC/UECE, ficando disponível para pesquisas futuras.

4.8 Análise dos dados

Com base nos dados catalogados dos COVFs e das amostras fúngicas foi possível uma análise comparativa dos resultados obtidos em cada tipo de ambiente; bem como relacionar os períodos de variação climática com a concentração e a diversidade de COVFs e fungos anemófilos.

O estudo foi conduzido por análise estatística descritiva. Utilizando-se do teste T Student para amostras pareadas, a análise estatística através do método hierárquico que usa a média aritmética, trata-se do UPGMA (Agrupamento pelas Médias Aritméticas

Não Ponderadas), com uso do índice de Bray–Curtis, que pode ser expresso como uma proporção de similaridade ou dissimilaridade (distância) na abundância das espécies. Em qualquer um dos casos, seus valores vão de um máximo de 1 (dissimilaridade) ao mínimo de 0 (similaridade). Essa padronização no intervalo visa facilitar a interpretação e comparação, e as espécies raras acrescentam pouco ao seu valor (PERES-NETO; VALENTIN; FERNANDEZ, 1995; CRUZ, 2006). Bem como optou-se por usar a Análise de Coordenadas Principais – PCO, que se refere a um conjunto de métodos de análise de dados que explicitam a estrutura dos dados catalogados de maneira espacial, facilitando sua análise e interpretação (HÄRDLE; SIMAR, 2007).

Os programas de estatística usados foram o Oracle® e Fitopac2®. Para todos os testes, o nível de significância de 5% ($p < 0,05$) foi escolhido.

Os dados foram organizados em matrizes de presença/ausência COVs e gêneros/espécies fúngicas para cada ambiente e setores analisados, bem como para as demais variáveis (tipo de climatização, período de coleta e dados climáticos).

A média de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) fúngicas por metro cúbico (UFC/m^3) foram calculadas de acordo com as seguintes definições e fórmula (BOGOMOLOVA; KIRTSIDELI, 2009):

$$N = 5a \times 10^4 (bt)^{-1}$$

Onde:

N = UFC/m³ de ar por ambiente;

a = número de colônias por placa de Petri;

b = superfície da placa de Petri (em cm²);

t = tempo de exposição (em minutos).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise espacial dos ambientes laborais

Com a realização das visitas técnicas a cada um dos setores dos três ambientes selecionados para as coletas e o preenchimento de um instrumento avaliativo (Apêndice 1) foi possível ponderar a respeito do ambiente que os trabalhadores e usuários estão expostos. Concomitantemente, foram analisadas as plantas arquitetônicas de alguns setores e a catalogação de fotos, culminando na construção dos croquis por setor, conforme verificado a seguir.

5.1.1 Biblioteca pública de referência do município de Fortaleza

As atividades desenvolvidas no interior e exterior do prédio da biblioteca não apresentam fontes poluidoras externas. Bem como, não existem áreas destinadas aos fumantes, nem a presença de vegetais e animais dentro dos setores analisados. Na limpeza diária, os mesmos produtos químicos são usados em todos os setores, conforme verificado junto à equipe de limpeza (água sanitária (produto ativo é hipoclorito de sódio); cera para piso (produto ativo é cera de carnaúba) e desinfetante (produto ativo é amônia quaternária)).

Frente à verificação das taxas de renovação de ar constatou-se que existem aberturas para admissão de ar, não sendo autocontroladas e sim manuais. A análise quantitativa por ambiente e setor encontra-se descrita no Quadro 5.

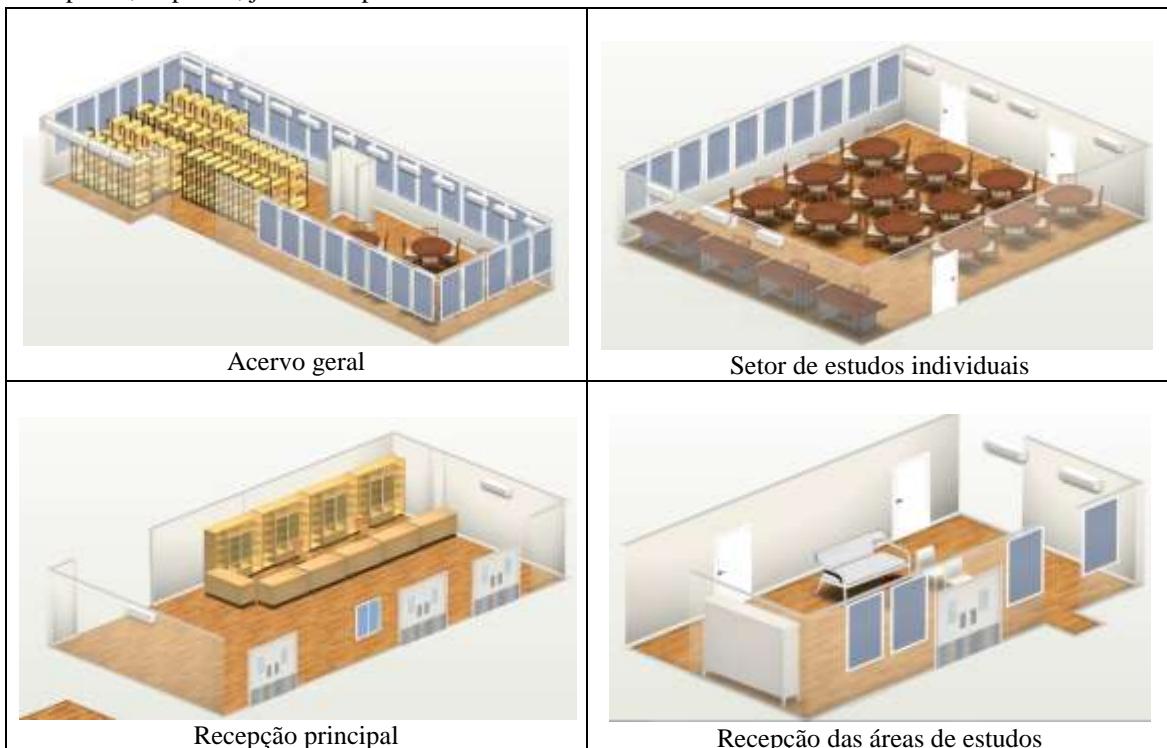
Quadro 5 – Análise quantitativa da biblioteca pública de referência no município de Fortaleza, CE e seus quatro setores específicos, com a descrição do número de portas, janelas, aparelhos de ar condicionado e ventiladores, sendo também aferida a taxa de ocupação humana por ambiente.

Ambiente	Setor	Taxa de ocupação humana	Análise Quantitativa			
			Portas	Janelas	Ar condicionado	Ventiladores
Biblioteca	Acervo Geral	2.000/dia	01	36	20 aparelhos	Ausente
	Setor de Estudos Individuais		03	10	08 aparelhos	Ausente
	Recepção Principal		04	01	02 aparelhos	Ausente
	Recepção de Estudos		03	04	02 aparelhos	Ausente

Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Para cada setor analisado da biblioteca foram confeccionados croquis com visão 3D (Figura 10), visando caracterizar melhor os espaços analisados.

Figura 10 – Croquis com visão 3D dos quatro setores analisados na biblioteca pública de referência no município de Fortaleza, CE, produzidos através do programa Autodesk Homestyler®, são evidenciados, em especial, as portas, janelas e aparelhos de ar condicionado.



Fonte: Elaborado pela autora (2014).

5.1.2 Centro comercial de referência do município de Fortaleza

As atividades desenvolvidas no interior e exterior do prédio do centro comercial não apresentam fontes poluidoras externas e não existem áreas internas destinadas aos fumantes. Em ambos os estacionamentos foi constatada a presença de vegetais (vegetação paisagística, como grama) e animais (aves, como pombos), nos ambientes internos (1º e 2º andares) observou-se a ausência desses. Presença de animais, como aves, é considerada um dado preocupante, visto que, com base na Agência Portuguesa do Ambiente, afirma-se que os animais são fontes alergogênicas, podendo contribuir para a baixa qualidade do ar (APA, 2010).

Na limpeza diária, os mesmos produtos químicos são usados em todos os setores, conforme verificado junto à equipe de limpeza (água sanitária (produto ativo é

hipoclorito de sódio), detergente (produto ativo é alquilbenzeno sulfonato) e desinfetante (produto ativo é amônia quaternária)).

No tocante à verificação das taxas de renovação de ar constatou-se que existem aberturas para admissão de ar para todos os setores, não sendo autocontroladas e sim manuais. A análise quantitativa por ambiente e setor encontra-se descrita no Quadro 6.

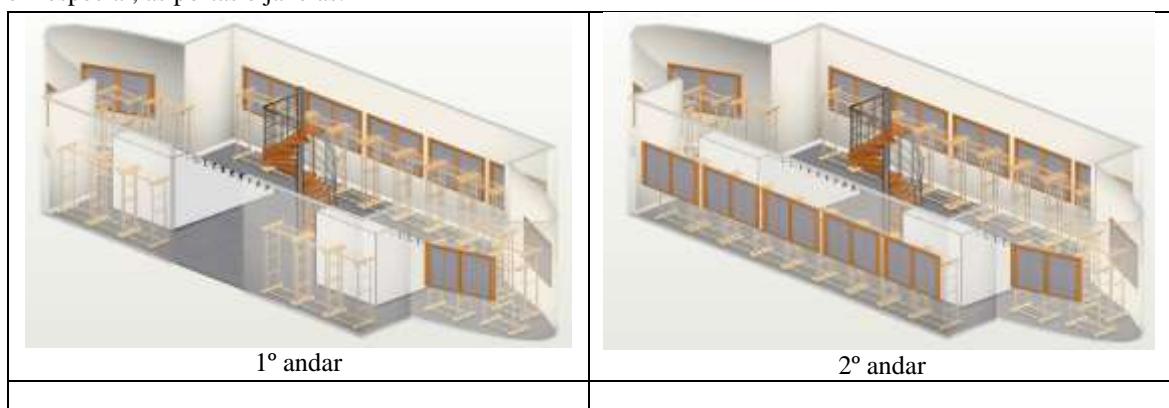
Quadro 6 – Análise quantitativa do centro comercial público de referência no município de Fortaleza, CE e seus quatro setores específicos, com a descrição do número de portas, janelas, aparelhos de ar condicionado e ventiladores, sendo também aferida a taxa de ocupação humana por ambiente.

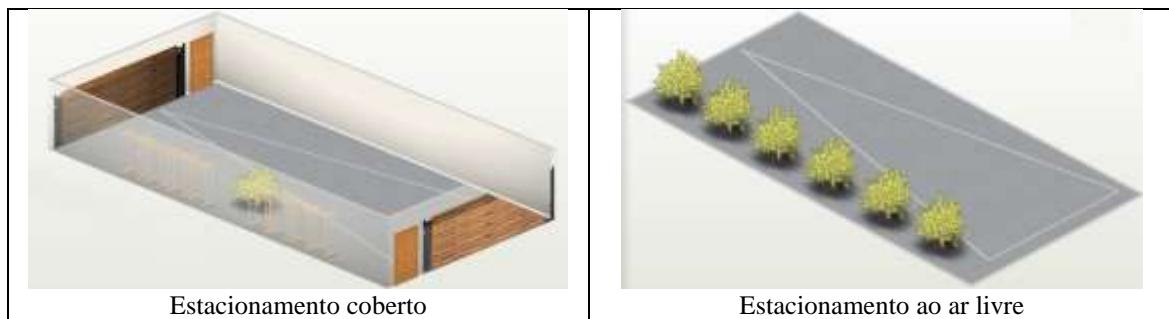
Ambiente	Setor	Taxa de ocupação humana	Análise Quantitativa			
			Portas	Janelas	Ar condicionado	Ventiladores
Centro Comercial	1º andar	4.700/dia	03	01 extensa	Ausente	1/boxe
	2º andar		02	02 extensas	Ausente	1/boxe
	Estacionamento coberto		02	Ausente	Ausente	Ausente
	Estacionamento ao ar livre		00	Ausente	Ausente	Ausente

Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Para cada setor analisado do centro comercial foram confeccionados croquis com visão 3D (Figura 11), visando caracterizar melhor os espaços analisados.

Figura 11– Croquis com visão 3D dos quatro setores analisados no centro comercial público de referência no município de Fortaleza, CE, produzidos através do programa Autodesk Homestyler®, são evidenciados, em especial, as portas e janelas.





Fonte: Elaborado pela autora (2014).

5.1.3 Hospital terciário da rede pública do município de Fortaleza

As atividades desenvolvidas no interior e exterior do prédio do hospital apresentam fontes poluidoras, visto que, nos últimos 24 meses diversos ambientes do hospital têm passado por obras de infraestrutura, bem como, um novo edifício tem sido construído, visando à ampliação de suas instalações. Dentro dos setores analisados não existem áreas destinadas aos fumantes, nem a presença de vegetais e animais.

Na limpeza diária, os produtos químicos usados apresentam divergência, dependendo de qual o setor está sendo considerado, conforme verificado junto à equipe de limpeza; para ambas as recepções eletiva e de emergência são usados água sanitária (produto ativo é hipoclorito de sódio) e desinfetante (produto ativo é amônia quaternária); para a enfermaria de transplantes e UTI. Destaca-se o uso de água com detergente, hipoclorito de sódio a 1%, álcool etílico 70% e fenóis sintéticos a 0,3%. O uso de tais produtos corrobora a literatura, visto ser a mesma rotina de limpeza que a comissão de infecção hospitalar preconiza para a Santa Casa de Misericórdia de Goiânia (SILVA; BRITO, 2012).

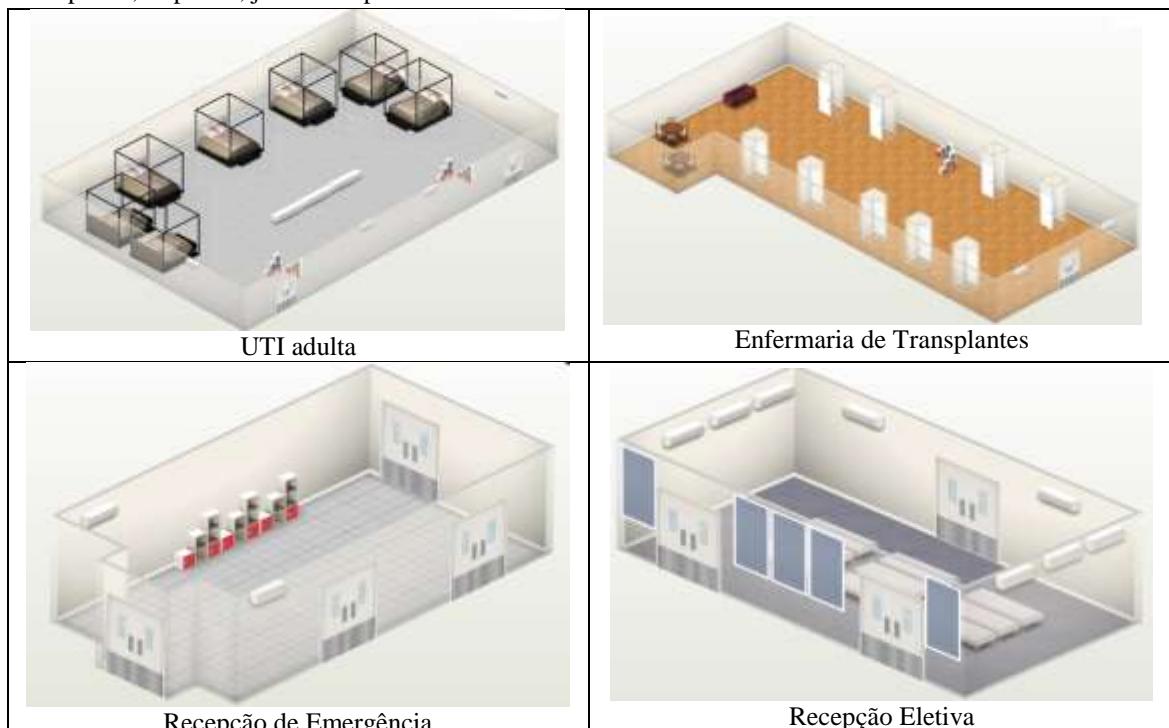
Frente à verificação das taxas de renovação de ar, constatou-se que existem aberturas para admissão de ar, sendo autocontroladas. A análise quantitativa por ambiente e setor encontra-se descrita no Quadro 7 e para cada setor analisado do hospital foram confeccionados croquis com visão 3D (Figura 12), visando caracterizar melhor os espaços analisados.

Quadro 7 – Análise quantitativa do hospital público de referência no município de Fortaleza, CE e seus quatro setores específicos, com a descrição do número de portas, janelas, aparelhos de ar condicionado e ventiladores, sendo também aferida a taxa de ocupação humana por ambiente.

Ambiente	Setor	Taxa de ocupação humana	Análise Quantitativa			
			Portas	Janelas	Ar condicionado	Ventiladores
Hospital	UTI adulta	3.500/dia	02	Ausente	04	Ausente
	Enfermaria transplantes		10	10	02	2/quarto
	Recepção emergência		04	Ausente	02	Ausente
	Recepção eletiva		03	01 extensa	08	Ausente

Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Figura 12 – Croquis com visão 3D dos quatro setores analisados no hospital público de referência no município de Fortaleza, CE, produzidos através do programa Autodesk Homestyler®, são evidenciados, em especial, as portas, janelas e aparelhos de ar condicionado.



Fonte: Elaborado pela autora (2014).

5.2 Análise do discernimento dos trabalhadores sobre o ambiente de trabalho

Foi analisado o entendimento dos trabalhadores dos três ambientes, sobre a qualidade do ar, visando contribuir para melhorias pontuais no monitoramento e controle ambiental. Os dados e a discussão por ambiente e setor estão descritos nos subtópicos abaixo.

5.2.1 Análise quali-quantitativa dos trabalhadores da biblioteca pública

Foram analisados 38 questionários, assim alocados: acervo geral (18 funcionários, sendo quatro desses funcionários responsáveis por um setor de obras raras), setor de estudos individual (10), recepção principal (05), recepção de estudos (05). Em 100% dos ambientes analisados foi observada a climatização artificial disponível para o trabalhador.

Perfil socioeconômico

O perfil socioeconômico avaliado mostrou que a média etária do público analisado foi de 42 anos (23 anos a menor idade e 64 anos a maior idade), constituído de 24 mulheres (63%) e 14 homens (37%), 100% não fumantes, com uma carga horária oscilando de 20 a 40 h/semana. Os funcionários detêm uma média de 12 anos de trabalho em seus cargos, sendo 2 meses o menor tempo e 34 anos o maior tempo de dedicação à carreira dentro da biblioteca.

Perfil do ambiente de trabalho

No tocante à atividade laboral, foi questionada a carga horária extra de trabalho, apenas 8% dos participantes fazem horas extras. Ao serem perguntados sobre a qualidade ambiental dos setores: 55% e 52% consideram boas as condições de limpeza e de temperatura/umidade, respectivamente. Os dados sobre a qualidade ambiental dos setores foram positivos, uma vez que, o efeito da temperatura e da umidade no ambiente deve ser destacado. Apesar de atualmente encontrar-se disponível tecnologia sofisticada para controle de tais variáveis, o setor de preservação e conservação de acervos necessita de meios para correlacioná-las diretamente com a qualidade do ar das bibliotecas, particularmente quando o ambiente sofre variações diárias ou mudança de estação climática (KING; PEARSON; CASSAR, 2001; STRAUSZ, 2001).

Nesse ínterim, a literatura também reporta que o excesso de umidade apressa a acidificação do papel, enquanto a baixa umidade conduz ao dessecamento, deixando-o quebradiço e frágil. Concomitantemente, essa variação de umidade favorece o desenvolvimento de micro-organismos, com destaque para os bioindicadores da qualidade do ar, os fungos (PANTOJA *et al.*, 2012).

Ao indagar sobre o uso de Equipamentos de Proteção Individual – EPIs, 52% responderam que não usam, com destaque para a não utilização de máscaras e luvas, resultados que corroboram a literatura, como observado em estudo anterior (PALLETA; YAMASHITA; PENILHA, 2005), onde afirmam que os profissionais que atuam diretamente nos processos de higienização de documentos em bibliotecas não utilizam os EPIs, podendo vir a acarretar manifestações alérgicas como, dermatites, rinites, irritação ocular e problemas respiratórios. Sabe-se que compete ao empregador adquirir e fornecer os EPIs ao empregado, bem como orientar e treinar, sendo incontestável que as instituições devem analisar o custo-benefício de programas que visam garantir a integridade física e segurança dos seus funcionários (COSTA *et al.*, 2008).

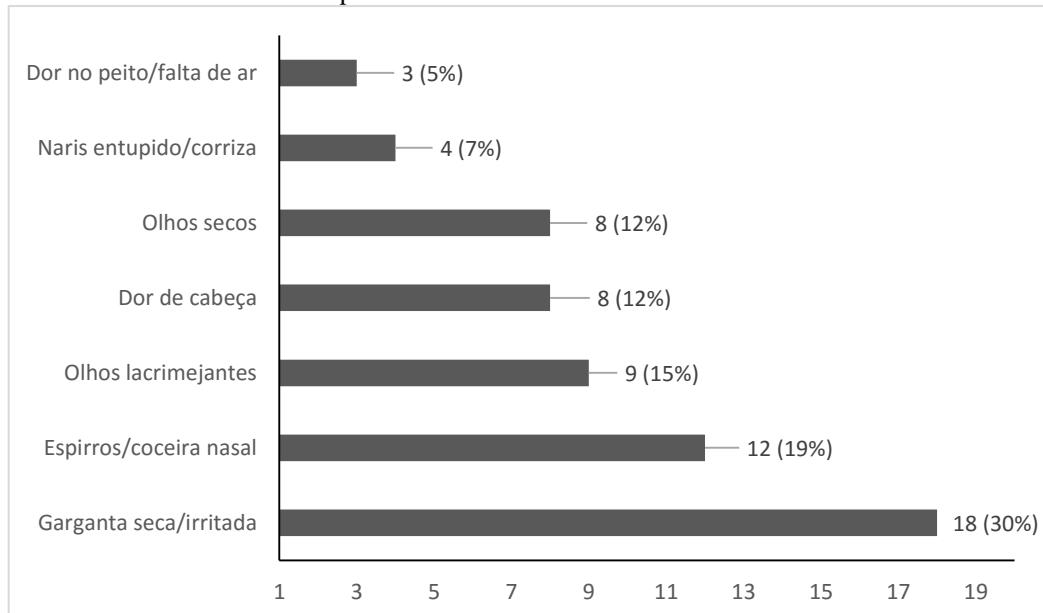
Dentro desse contexto, também foi solicitado que os participantes classificassem o ar de seu ambiente de trabalho; 89% classificaram o ar como empoeirado ou com presença de odores; apenas os funcionários alocados ao setor de obras raras (11% - quatro funcionários) classificaram o ar como limpo, bem como, ao serem questionados sobre o quanto saudável é o ambiente de trabalho, apenas os 11% alocados ao setor de obras raras classificaram como saudável; os demais, 89%, consideraram muito pouco saudável ou ruim. Tais dados apontam existir a preocupação dos gestores com o setor que armazena obras de considerável valor histórico e cultural, em detrimento aos demais setores, sendo que tal atitude não corrobora a literatura. Segundo estudo internacional (FANGER, 2000), a qualidade do ar de interiores mostra ter uma influência significativa e positiva na produtividade de trabalhadores, sendo 6,5% maior a produtividade com boa qualidade do ar. Portanto, há um forte incentivo econômico para melhorar a qualidade do ar de interiores de bibliotecas.

Perfil do estado de saúde

Na categoria do estado de saúde, apenas 07 funcionários (18%) não assinalaram queixas, enquanto que 82% (31 funcionários) apresentaram sinais que podem estar relacionados à SED, devendo ser ponderado, que tais sintomas podem ter causas multifatoriais, como locais de trabalho mal projetados, iluminação inadequada, ruídos, vibrações, fatores psicossociais, *stress* emocional, entre outros, não podendo ser excluída dessa relação também as causas que envolvam a má qualidade do ar laboral (MENDES, 2008; APA, 2010).

Com um total de 07 queixas distintas, destaque para 30% que se queixaram de garganta seca e irritada, 19% espirros e coceira nasal e 15% apresentaram olhos lacrimejantes (Figura 13).

Figura 13 - Distribuição das frequências absoluta e relativa dos sintomas apresentados pelos funcionários da biblioteca pública de referência no município de Fortaleza, CE. Para esse questionamento, o funcionário poderia assinalar mais de uma resposta.

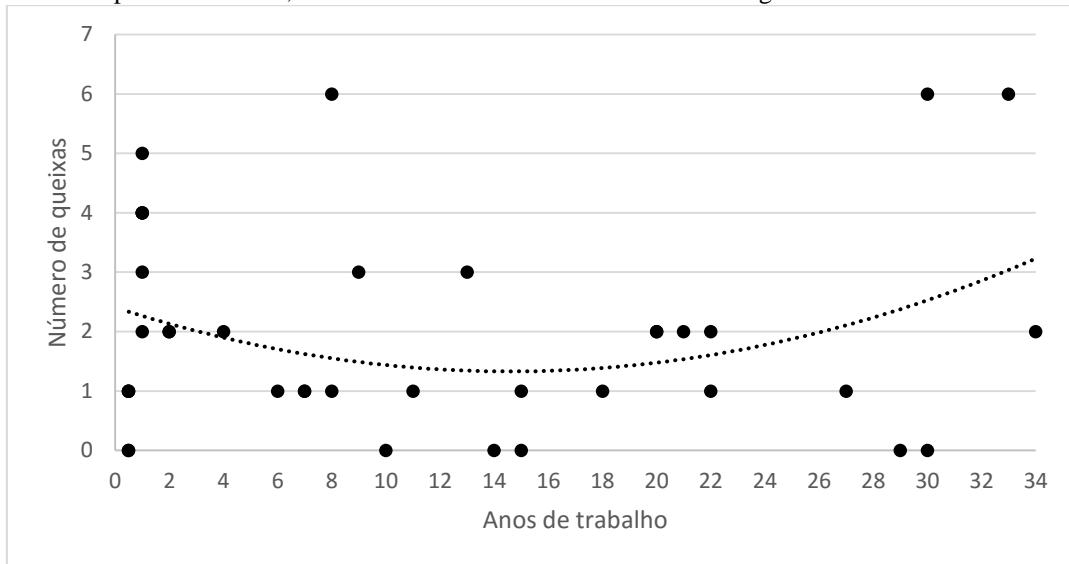


Fonte: Elaborado pela autora (2014).

A situação apresentada pelos funcionários analisados na presente tese assemelha-se ao caso que ocorreu na Biblioteca Central de Manguinhos no Rio de Janeiro durante os anos de 1996 e 1997. A biblioteca em questão sofreu intensa proliferação de fungos, que ocasionaram dores de garganta e de ouvido, alergias respiratórias, sinusite, gripes e pneumonias, devido às baixas temperaturas no ambiente e o tempo de permanência diária de 8 h no local. Após uma análise de 122 funcionários através de questionários, 50% dos trabalhadores se queixaram de problemas dermatológicos e 37,7% de problemas respiratórios. Após a constatação do problema foi criada uma comissão de saúde com o objetivo de monitorar a qualidade do ambiente (STRAUSZ, 2001).

Ainda sobre esse aspecto, constata-se que quanto maior o tempo de trabalho (em anos) em seus cargos maior o número de queixas, havendo aumento da ocorrência a partir dos 18 meses (1 ano e meio) de prestação de serviço (Figura 14).

Figura 14 - Diagrama de dispersão entre o número de queixas e tempo de prestação de serviço em anos, havendo uma maior ocorrência a partir do 1 ano e meio de carga laboral na biblioteca pública de referência no município de Fortaleza, CE. A linha de tendência é evidenciada no gráfico.



Fonte: Elaborado pela autora (2014).

Quando questionados a respeito das queixas, a administração da biblioteca sobre a qualidade do ar do ambiente de trabalho, 71% nunca se queixaram, dados que vão de encontro à própria legislação brasileira, a qual afirma que o trabalhador deve levar a queixa ao seu superior imediato para a investigação e resolução de qualquer situação de desconforto dentro do ambiente de trabalho (TEIXEIRA, 2013). Ao serem inquiridos sobre o quanto saudável é o ar de seu ambiente de trabalho, 53% o consideram muito pouco saudável e 37% avaliam como ruim sua capacidade respiratória atual. Os resultados apontam a importância de se investir mais na educação, como um instrumento eficaz no processo de conscientização e na luta contínua para tentar diminuir os agravos à saúde do trabalhador (LIMA; MORORO, 2009).

Ainda nessa categoria, questionou-se o conhecimento sobre a SED, sendo que 100% nunca ouviram a respeito, dado considerado alarmante. Tal falta de informação e desconhecimento sobre a SED e suas consequências fazem os funcionários, geralmente, não se preocuparem com qualidade do ar e outros fatores ocupacionais, devido as possíveis causas estarem escondidas em elementos invisíveis e aparentemente inofensivos (CASTRO, 2007), bem como, ser fato, que os sintomas dessa síndrome contribuem para a improdutividade no trabalho, já que os funcionários ficam debilitados para realizar suas atividades (MANO, 2000).

Perfil da qualidade do ar

Frente a categoria qualidade do ar do ambiente de trabalho, constatou-se que 37% já faltaram mais de 09 dias devido a problemas de saúde nos últimos 12 meses. Bem como, ao indagar sobre a frequência com qual os funcionários fazem de exames de rotina (como exame de sangue, urina, raio X), 74% raramente realizam. Ao rotularem sua saúde, apenas 18% consideram ruim, a maioria (68%) classificam como boa, 29% responderam que após um dia de trabalho apresentam esgotamento físico e mental e, por fim, 45% percebem uma possível influência negativa de seu trabalho em sua qualidade de vida. O percentual de faltas ao trabalho apresentado coaduna a literatura, por exemplo, segundo alguns pesquisadores os bioaerossóis de ambientes internos têm sido apontados como uma das principais causas de problemas respiratórios que culminam com a ausência de estudantes à escola e profissionais ao trabalho, ou a baixa produtividade em ambientes ocupacionais (LI; KUO, 1992; SCHLEIBINGER *et al.*, 2008; LEE; LEE; BAE, 2014).

Em linhas gerais, os resultados obtidos revelam percentual elevado para a presença de sintomas indicativos da Síndrome dos Edifícios Doentes, bem como a fragilidade ou mesmo ausência de conhecimento dos trabalhadores da biblioteca sobre a referida síndrome, indicando, com base no discernimento dos trabalhadores, a necessidade de implementar normas mínimas no trato com as unidades documentais e o espaço físico das bibliotecas, bem como, contribuir com a compilação de dados epidemiológicos da SED que podem repercutir ainda na conservação da saúde de seus usuários.

5.2.2 Análise quali-quantitativa dos trabalhadores do centro comercial

Foram analisados 22 questionários, respondidos por 12 trabalhadores provenientes (55%) dos 1º e 2º andares e 10 trabalhadores (45%) dos estacionamentos do centro comercial de referência no município de Fortaleza-Ce. Em 100% dos ambientes analisados foi observada a climatização natural disponível para o trabalhador.

Perfil socioeconômico

O perfil socioeconômico analisado mostrou ser constituído de 08 mulheres e 14 homens, cuja média de idade do público envolvido na pesquisa foi de 31 anos, sendo 18 anos a menor idade e 45 anos a maior idade, 73% não fumantes, com carga horária de 40 às 48 h/semanal e uma média de 5 anos de trabalho em seus cargos, o indivíduo com o menor e maior tempo em seu cargo é de 1 mês e 15 anos, respectivamente.

Perfil do ambiente de trabalho

No tocante à atividade laboral foi questionado se são submetidos a uma carga horária extra de trabalho; todos assinalaram sim a essa afirmativa, enquanto, sobre o uso de equipamentos de proteção individual, 100% não usam na rotina. Constatação preocupante, em especial, aos trabalhadores dos estacionamentos, pois esses devem fazer uso de EPIs, como sinalizadores de corpo, ferramentas e instrumentos próprios para a plena execução de seu trabalho, sendo o empregador obrigado a disponibilizar e o empregado obrigado a fazer o uso, isso corroborando com as regras dos sindicatos dessa categoria (SINDPARK, 2010)

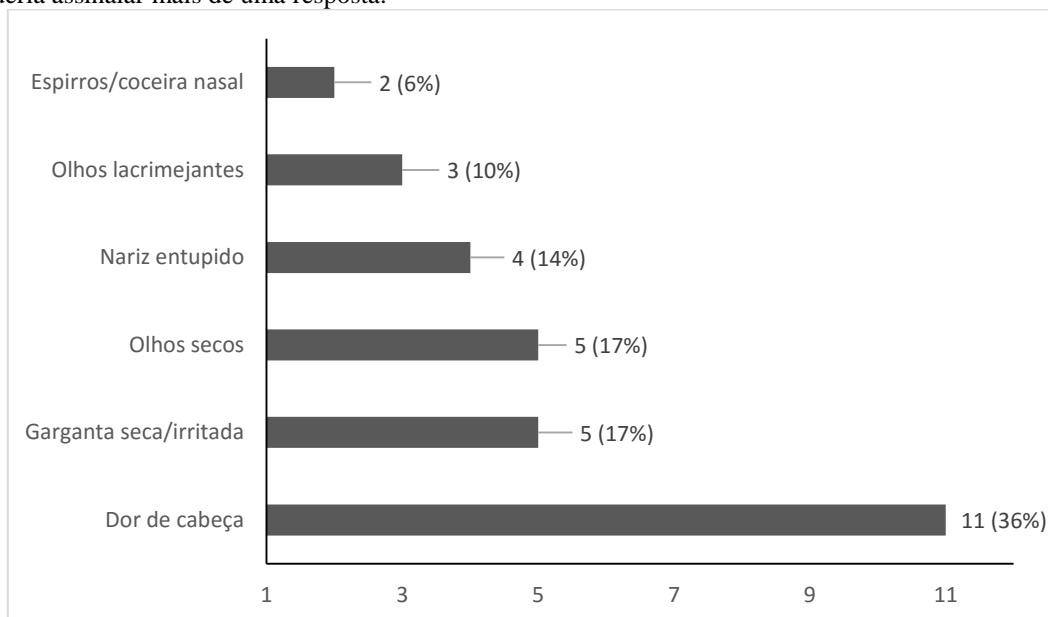
Quanto às condições de limpeza do ambiente de trabalho, 01 funcionário classificou como muito boa e os demais como boa. Entretanto, quando questionados a respeito das condições de temperatura e umidade do ambiente em que estão inseridos, apenas 9% classificaram como boa, 91% a avaliaram como ruim. Foi também solicitado que classificassem o ar de seu ambiente laboral. Dentre as opções, observou-se que os funcionários do 1º andar classificam o ar com presença de odores (27%), possivelmente devido à proximidade com a praça de alimentação, enquanto os trabalhadores dos estacionamentos e do 2º andar, como empoeirado (72%).

No geral, tais dados são embasados pela literatura, já que, geralmente, os estabelecimentos que possuem sistemas de climatização natural não disponibilizam conforto térmico e pode ocorrer migração de fumaça entre os ambientes. Seus gestores fazem a escolha, devido ao sistema de climatização artificial poder representar 40 a 50% do consumo anual total de energia de uma edificação comercial (NICOL; HUMPHREYS; ROAF, 2012), logo, o aspecto econômico é fator determinante.

Perfil do estado de saúde

A categoria do estado de saúde merece destaque, pois ao perguntar sobre frequência de sintomas, 95% apresentam sintomas, em especial os que estão inseridos nos estacionamentos (100% desses apresentavam sintomas). As maiores queixas foram dores de cabeça, olhos secos, garganta seca e irritada, nariz entupido, olhos lacrimejantes, espirros e coceira nasal (Figura 15). Dados que não corroboraram trabalho de Costa e Brickus (2000), visto que, eles compararam a incidência de sintomas da Síndrome do Edifício Doente entre funcionários de um *shopping center* com ar condicionado central e funcionários de lojas localizadas em ruas com ventilação natural, e os resultados indicaram que houve maior prevalência de sintomas nos funcionários do *shopping center*.

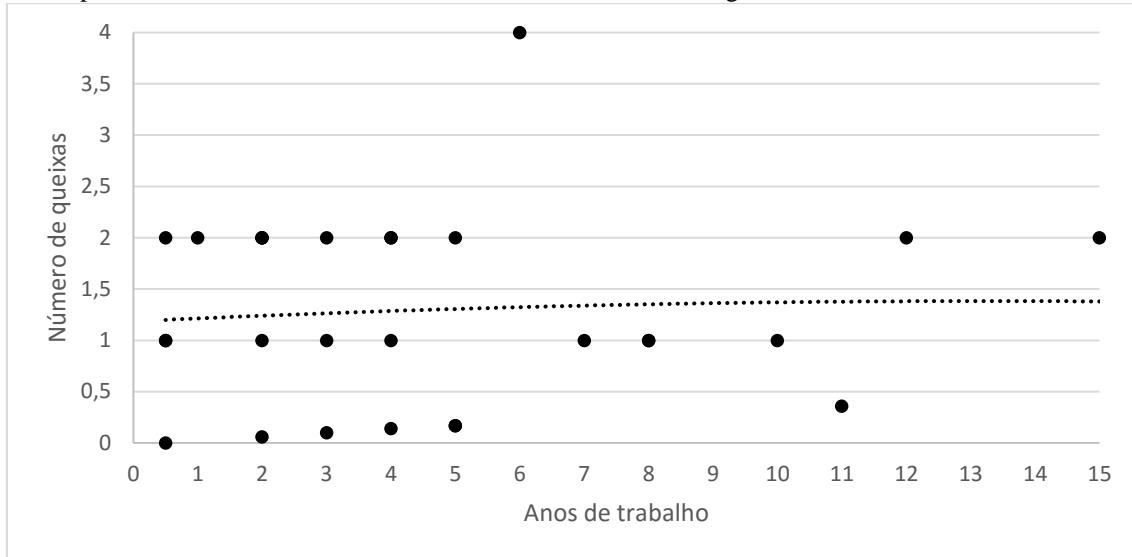
Figura 15 - Distribuição das frequências absoluta e relativa dos sintomas apresentados pelos funcionários do centro comercial de referência no município de Fortaleza, CE. Para esse questionamento, o funcionário poderia assinalar mais de uma resposta.



Fonte: Elaborado pela autora (2014).

Ainda dentro dessa temática, constatou-se que quanto maior o tempo de trabalho (em anos) em seus cargos maior o número de queixas, havendo uma maior ocorrência a partir dos 6 meses de prestação de serviço (Figura 16).

Figura 16 - Diagrama de dispersão entre o número de queixas e tempo de prestação de serviço em anos, havendo uma maior ocorrência a partir dos 6 meses de carga laboral no centro comercial de referência no município de Fortaleza, CE. A linha de tendência é evidenciada no gráfico.



Fonte: Elaborado pela autora (2014).

Diante dessa situação foi questionado se eles costumam queixar-se à administração do *shopping center*; 100% nunca se queixaram, bem como nunca ouviram falar a respeito da Síndrome dos Edifícios Doentes (SED). O aspecto de não se queixar ao gestor responsável é tema recorrente na literatura, visto que, o funcionário teme criar um mal-estar no ambiente laboral, bem como receia perder seu emprego como afirma o psiquiatra Hirigoyen (2006). Quando perguntado a respeito do quão saudável é o ar de seu ambiente de trabalho, os trabalhadores dos 1º e 2º andares classificaram como muito pouco saudável, enquanto os funcionários dos estacionamentos classificaram como não saudável.

Perfil da qualidade do ar

Por fim, abordou-se sobre a frequência de exames de rotina (exame de sangue, urina, raio X etc): 27% fazem sempre e 73% raramente. Ao questionar sobre quantos dias inteiros esteve fora do trabalho devido a problemas de saúde nos últimos 12 meses, 82% já faltaram mais de 9 dias devido a problemas de saúde. Foi solicitado que eles classificassem seu estado de saúde atual; 55% classificaram como bom e 45% como ruim. Ao perguntar sobre o esgotamento físico ou mental após um dia de trabalho, 95% afirmam apresentar esse esgotamento, e indagou-se sobre a influência negativa de seu trabalho em

sua qualidade de vida, sendo que 81% dizem que percebem constantemente essa influência negativa e 19% raramente a percebem.

5.2.3 Análise quali-quantitativa dos trabalhadores do hospital público

Foram analisados 22 questionários, respondidos por 07 trabalhadores da UTI adulta (32%), 07 da enfermaria de transplantes (32%), 04 da recepção de emergência (18%) e 04 da recepção eletiva (18%) do hospital terciário de referência no município de Fortaleza-Ce. Em 100% dos ambientes analisados foi observada a climatização artificial disponível para o trabalhador.

Perfil socioeconômico

Os 22 trabalhadores analisados são constituídos por 64% mulheres e 36% homens; a média de idade do público analisado trata-se dos 44 anos, sendo 28 anos a menor idade e 61 anos a maior idade; 100% não fumantes, com carga horária de 40 h/semana e uma média de 07 anos de trabalho em seus cargos, sendo 01 (hum) ano o menor tempo em seu cargo e 15 anos o maior tempo.

Perfil do ambiente de trabalho

Frente à atividade laboral, foi questionado se são submetidos a uma carga horária extra de trabalho, sendo que todos assinalaram sim a essa afirmativa. Entretanto, sobre o uso de equipamentos de proteção individual, os laborais da UTI e enfermaria de transplantes usam sempre, mas os que estão alocados nas recepções de emergência e eletiva não usam, dado preocupante, visto que, de acordo com Lopes (2008), a utilização do EPI no atendimento pré-hospitalar é fundamental para a proteção do profissional. No entanto, tais precauções nem sempre são adotadas, mesmo a realidade mostrando alto índice de acidentes de trabalho com exposição a material biológico entre profissionais de saúde, que poderia ser evitado caso estivessem usando corretamente o EPI. Embora o uso do EPI não impeça que o trabalhador sofra o acidente, reduz o seu risco.

É fato que o ambiente hospitalar apresenta espaços, serviços e ocupantes que faz com que seja classificado como uma área muito peculiar e característica, diferente de qualquer edifício comercial ou industrial (LEUNG; CHAN, 2006). Este aspecto torna,

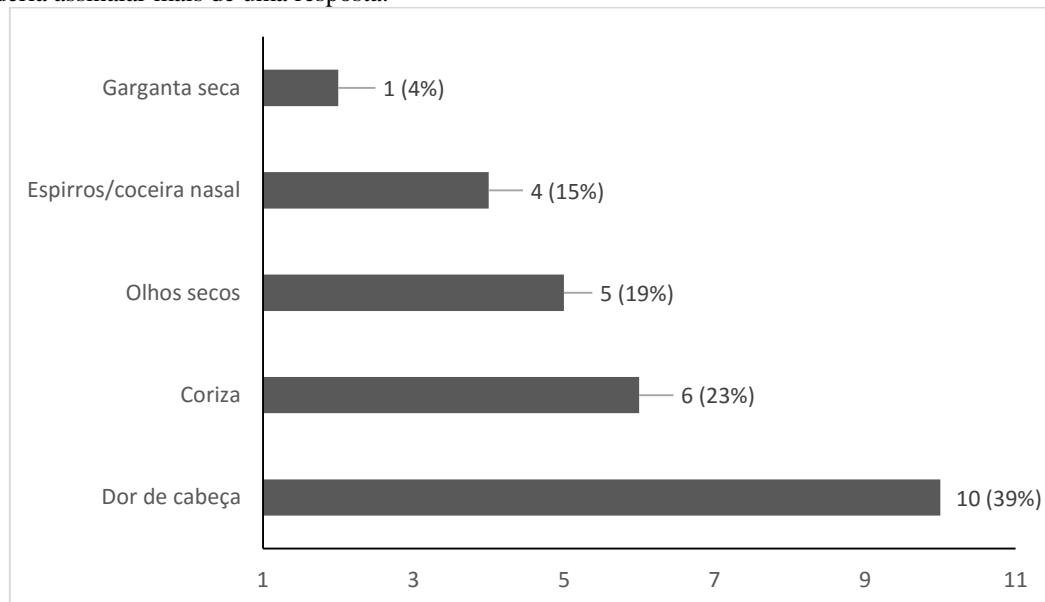
assim, o ambiente hospitalar bastante complexo sob o ponto de vista da gestão de sua QAI (MATOS, 2014). No tocante à qualidade ambiental dos setores analisados 96% e 64% consideram boas as condições de limpeza e de temperatura/umidade, respectivamente, e 46% classificam o ar com presença de odores.

Perfil do estado de saúde

Frente aos sintomas, 91% podem vir a apresentar relação com a Síndrome dos Edifícios Doentes, como dores de cabeça (39%) e coriza (23%), os mais citados, seguidos de outros, como olhos secos, espirros e garganta seca (Figura 17).

Dados que corroboram a literatura, que relatam a irritação e obstrução nasal, desidratação e irritação da pele, irritação e secura na garganta e nos olhos, dores de cabeça, letargia e cansaço generalizado que leva à perda de concentração, esses, os mais citados pelo trabalhador (SCHIRMER *et al.*, 2008; MATOS, 2014).

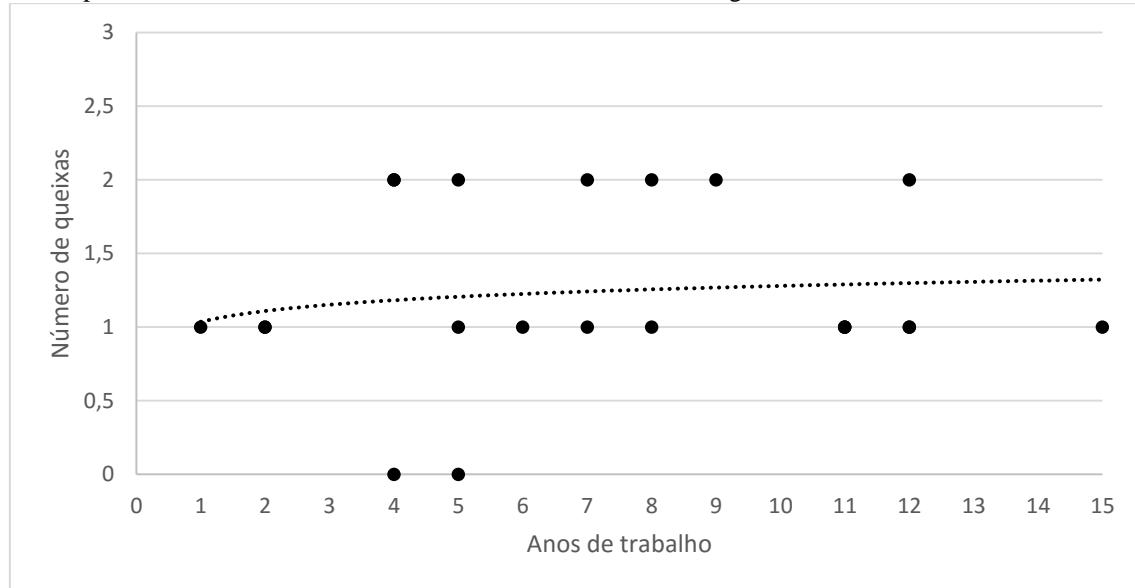
Figura 17 - Distribuição das frequências absoluta e relativa dos sintomas apresentados pelos funcionários do hospital público de referência no município de Fortaleza, CE. Para esse questionamento, o funcionário poderia assinalar mais de uma resposta.



Fonte: Elaborado pela autora (2014).

Ainda dentro dessa temática, constatou-se que quanto maior o tempo de trabalho (em anos) em seus cargos maior o número de queixas, havendo uma maior ocorrência a partir dos 04 anos de prestação de serviço (Figura 18).

Figura 18 - Diagrama de dispersão entre o número de queixas e tempo de prestação de serviço em anos, havendo uma maior ocorrência a partir dos 04 anos de carga laboral no hospital público de referência no município de Fortaleza, CE. A linha de tendência é evidenciada no gráfico.



Fonte: Elaborado pela autora (2014).

Ao serem questionados a respeito do conhecimento sobre a SED, 68% nunca ouviram a respeito, bem como, 90% nunca se queixaram ao gestor responsável. Apesar das percentagens serem baixas, foi o grupo laboral que mais esclarecimento apresentou em comparação ao trabalhador da biblioteca e centro comercial.

Sobre o quanto saudável é o ar ambiente de seu setor, todos os trabalhadores da UTI adulta e enfermaria de transplantes consideram saudável (64%), entretanto, os vinculados às recepções classificam como não tão saudável (36%). Ao serem questionados sobre como classificariam sua capacidade respiratória, 64% a avaliaram como boa e 36% rotularam como ruim.

Perfil da qualidade do ar

Ao serem perguntados a respeito dos exames de rotina, 100% realizam com frequência, mas 86% já faltaram mais de 09 dias devido a problemas de saúde nos últimos meses. Foi solicitado que eles qualificassem seu estado de saúde: 64% consideram bom e 36% ruim, sobre o esgotamento físico ou mental após um dia de trabalho, 100% afirmam apresentarem, e, por fim, 100% reportam perceber a influência negativa de seu trabalho em sua qualidade de vida.

Dentro desse contexto, espera-se que a SED seja mais divulgada dentro dos três ambientes pesquisados (seus gestores receberão um relatório de todos os dados catalogados pela presente tese) e outros espaços ocupacionais, bem como, a QAI melhore e seja notória pelos trabalhadores, devido, em especial, ao Decreto-Lei n.º 118/2013, que considera da maior importância os limiares de proteção para as concentrações de poluentes do ar interior, de forma a salvaguardar os mesmos níveis de proteção de saúde e de bem-estar aos ocupantes dos edifícios. Com base nesse Decreto-Lei, deixa-se claro a obrigação de se proceder ao controle das fontes de poluição e à adoção de medidas preventivas, tanto no nível da concepção dos edifícios, como do seu funcionamento, de forma a cumprir os requisitos legais para a redução de possíveis riscos à saúde pública (BRASIL, 2013).

Em linhas gerais, visando ter um apanhado generalista dos dados informados para os três ambientes, a Tabela 1 disponibiliza esses comparativos mirando na fácil visualização e identificação frente a análise do discernimento laboral (ver Tabela 1).

Tabela 1 – Comparação dos dados provenientes dos três ambientes frente aos seus perfis socioeconômicos, atividade laboral, estado de saúde e qualidade do ar.

Ambiente	Perfil Sócioeconômico	Perfil da atividade laboral	Perfil do estado de saúde	Perfil da qualidade do ar
Biblioteca Central	38 funcionários 63% mulheres 37% homens 42 anos (média etária) 12 anos (média laboral) 100% não fumantes	55% e 52% consideram boas as condições de limpeza e de temperatura/umidade 52% não usam EPIs 89% classificaram o ar como empoeirado ou com presença de odores	82% com sintomas 71% nunca se queixaram; 100% nunca ouviram a respeito SED	37% faltaram 74% raramente realizam exames de rotina 45% influência negativa de seu trabalho em sua qualidade de vida
	22 funcionários 64% homens 36% mulheres 31 anos (média etária) 5 anos (média laboral) 73% não fumantes	91% consideram ruim as condições de temperatura e umidade do ambiente 100% não usam EPIs 28% com presença de odores e 72% como empoeirado.	95% com sintomas 100% nunca se queixaram 100% nunca ouviram a respeito SED	82% faltaram 27% realizam exames de rotina 81% influência negativa de seu trabalho em sua qualidade de vida
	22 funcionários 64% mulheres 36% homens 44 anos (média etária) 7 anos (média laboral) 100% não fumantes	96% e 64% consideram boas as condições de limpeza e de temperatura/umidade 36% responderam que não usam EPIs 46% classificam o ar com presença de odores	91% com sintomas 90% nunca se queixaram; 36% avaliam como ruim sua capacidade respiratória atual 68% nunca ouviram a respeito SED	86% faltaram mais de 09 dias 100% realizam exames de rotina 100% influência negativa de seu trabalho em sua qualidade de vida

Fonte: Elaborado pela autora (2016).

5.3 Análise dos COVFs

Visando uma eficiente análise dos COVFs provenientes do ar dos ambientes selecionados para a presente pesquisa, foi criado um protocolo aplicado ao sistema de cromatografia gasosa/espectrometria de massa (CG-EM), conforme descrição feita na seção 4.6.1.3.

Após inúmeros testes com diferentes programas de temperatura no sistema CG-EM, com uma mistura contendo os 10 padrões de COVFs (07 álcoois e 03 cetonas, 100 µg/m³), foi possível separar os 10 padrões, com uma corrida de 16 minutos no total, conforme constatado na Figura 19.

Figura 19 - Cromatograma da mistura contendo 10 padrões (07 álcoois e 03 cetonas) na concentração de 100 µg/m³.



Picos: 1 (2-metil-1-propanol), 2 (2-pentanol), 3 (3-metil-1-butanol), 4 (2-metil-1-butanol), 5 (1-pentanol), 6 (2-hexanona), 7 (2-heptanona), 8 (3-octanona), 9 (1-octen-3-ol) e 10 (3-octanol).

Fonte: Elaborado pela autora (2015).

5.3.1 Otimização do tempo de amostragem

Após a coleta de amostragem de ar proveniente do experimento descrito no subtópico 4.6.1.2.1, frente aos seguintes tempos de amostragem: 20 min, 40 min, 60 min, 90 min e 120 min, salientando que todas as amostras foram analisadas em triplicada de cartucho.

Os resultados obtidos mostraram que uma amostragem de 60 minutos se trata do melhor tempo para a máxima captação de amostra em uma faixa de fluxo de 80 a 100 mL/min, isto é, os primeiros 60 minutos seriam suficientes para saturar a seção principal

do cartucho de amostragem (Tabela 2). A partir desse tempo, há a estabilização ou redução das áreas obtidas.

Tabela 2 – Média das áreas de pico dos dez COVFs obtidos para diferentes tempos de amostragem de 20 min, 40 min, 60 min, 90 min e 120 min.

COVFS	N = 3				
	20 min	40 min	60 min	90 min	120 min
2-metil-1-propanol	512	724	992	950	876
2-pentanol	2502	3486	8402	7821	7203
3-metil-1-butanol	3147	3898	5454	4980	4213
2-metil-1-butanol	2998	4223	6912	6501	5438
1-pentanol	3845	4105	4892	4886	4458
2-hexanona	978	1584	3264	2982	2759
2-heptanona	893	1278	2085	2091	1987
3-octanona	801	1025	1679	1655	1511
1-octen-3-ol	2785	3056	3490	3495	3213
3-octanol	4089	5134	6012	5834	5335

Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Logo, a escolha do tempo de amostragem de 60 minutos, trata-se do melhor tempo para a máxima retenção dos COVFs (presentes na amostra) no cartucho, dado que corrobora com a literatura, conforme observado pelos autores como Moularat e colaboradores (2008b). Os mesmos afirmam ter usado bomba com fluxo de 100 mL/min por um período de 30 min em ambientes internos artificialmente contaminados. Com tal protocolo foi possível obter bons resultados, bem como, conforme preconiza o Método TO-17, da USEPA, deve-se trabalhar com o fluxo de 10-200 mL/min durante 35 a 50 min, quando busca-se a máxima retenção de COVFs em cartuchos (USEPA, 1999b).

As médias, o desvio padrão e os coeficientes de variação calculados para o tempo de retenção de 60 minutos encontram-se na Tabela 03. Destaque é dado aos resultados do coeficiente de variação (CV%), que variou dentro do intervalo de 2,04% até 10,41%. Os resultados do coeficiente mostraram baixa dispersão para os valores em torno da média, dados que são respaldados pela literatura, conforme os órgãos NIOSH e OSHA, os quais recomendam valores abaixo de 10,6% (RIBANI *et al.*, 2004).

Tabela 3 – Análise da média, desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) para as áreas observadas no tempo de 60 min, frente aos dez COVFs detectados.

COVFS	N = 3		
	Média das áreas dos picos	DP	CV (%)
2-metil-1-propanol	992	101,59	10,23
2-pentanol	8402	264,6	3,14
3-metil-1-butanol	5454	209,8	3,84
2-metil-1-butanol	6912	720,1	10,41
1-pentanol	4892	100,20	2,04
2-hexanona	3264	319,8	9,79
2-heptanona	2085	143,99	6,90
3-octanona	1679	112,97	6,72
1-octen-3-ol	3490	354,92	10,17
3-octanol	6012	284,26	4,72

Fonte: Elaborado pela autora (2016).

5.3.2 Avaliação dos Parâmetros de Análise Cromatográfica

Abaixo, são contemplados os resultados dos parâmetros de validação cromatográfica, analisados, a saber: linearidade, limite de detecção e limite de quantificação, conforme determina a ANVISA (2003) e o INMETRO (2003; 2007), bem como, devido às especificidades da presente tese, foi adicionada a análise de eficiência do cartucho.

5.3.2.1 Linearidade

O parâmetro linearidade trata-se da capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que as respostas obtidas do detector são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (ANVISA, 2003). É recomendado que a mesma seja determinada pela análise de, no mínimo, 5 concentrações diferentes. Diante dessa indicação, as concentrações 1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, 50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ e 1000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ foram analisadas. Bem como, com base em diferentes autores, ao se tratar de COVFs, as concentrações encontradas nos ambientes oscilam de 1 a 1000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (KUSKE; ROMAIN; NICOLAS, 2005; POSUDIN, 2008; AQS, 2010).

Para o presente trabalho, foi considerada a relação matemática entre o sinal do detector (área do pico) e a concentração do composto de interesse, que foi expressa

através das equações das retas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) e correlação (R) (SHABIR, 2003). Na Tabela 4 são mostradas as equações das curvas analíticas construídas para cada um dos padrões analisados, bem como os coeficientes de determinação e correlação.

Tabela 4 – Dados experimentais obtidos para cada padrão externo, expressos através da equação da reta ($y = ax + b$), coeficientes de determinação e correlação.

COVFs	Equação da reta	Coeficiente de determinação (R^2)	Coeficiente de correlação (R)	Faixa de trabalho ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)
2-metil-1-propanol	$y = 3610,6x - 138,64$	0,9963	0,9981	1-1000
2-pentanol	$y = 88355x - 1197,8$	0,9996	0,9997	1-1000
3-metil-1-butanol	$y = 53084x + 9637$	0,9844	0,9921	1-1000
2-metil-1-butanol	$y = 59451x + 555,25$	0,9976	0,9987	1-1000
1-pentanol	$y = 51210x - 317,25$	0,9979	0,9989	1-1000
2-hexanona	$y = 37200x + 1278,9$	0,9758	0,9878	1-1000
2-heptanona	$y = 17185x + 1828,5$	0,9099	0,9538	1-1000
3-octanona	$y = 22726x + 235,68$	0,9977	0,9988	1-1000
1-octen-3-ol	$y = 31173x - 713,67$	0,9733	0,9865	1-1000
3-octanol	$y = 13657x + 1231,4$	0,9925	0,9962	1-1000

Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Com base na análise dos resultados, observou-se que o coeficiente de correlação mostrou-se maior que 0,99 para as análises de todos os padrões, com exceção de 2-hexanona ($R = 0,9878$), 2-heptanona ($R = 0,9538$) e 1-octen-3-ol ($R = 0,9865$). Mesmo assim, todos os resultados são considerados uma evidência de um ajuste satisfatório dos dados para a linha de regressão, equivalendo à recomendação da ANVISA para os valores acima a 0,99, bem como, respalda-se na sugestão do INMETRO, aceitando valores acima de 0,90.

5.3.2.2 Limite de detecção e quantificação

O LD foi calculado de duas maneiras distintas: método visual e método baseado em parâmetros da curva analítica. No presente trabalho, os mesmos critérios de LD podem ser adotados para o LQ, utilizando a relação 10:1 (RIBANI *et al.*, 2004; SHRIVASTAVA; GUPTA, 2012).

Com base nas ponderações realizadas acima, os resultados catalogados para LD e LQ são demonstrados na Tabela 5. Destaca-se que os valores de LD e LQ mostraram boa detecção por parte do sistema do equipamento, sendo considerado para a presente tese, os limites de detecção provenientes do método visual, por se tratar de um método confiável e que apresentou as menores concentrações, bem como, ao comparar com os dados originários da curva analítica, os valores foram muito próximos.

Tabela 5 – Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) calculados através do método visual e do método da curva analítica.

COVFs	LD ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)		LQ ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)
	Curva Analítica	Método Visual	
2-metil-1-propanol	0,0400	0,0300	0,300
2-pentanol	0,0060	0,0050	0,050
3-metil-1-butanol	0,0030	0,0025	0,025
2-metil-1-butanol	0,0030	0,0025	0,025
1-pentanol	0,0060	0,0040	0,040
2-hexanona	0,0400	0,0400	0,400
2-heptanona	0,0060	0,0050	0,050
3-octanona	0,0070	0,0070	0,070
1-octen-3-ol	0,0080	0,0070	0,070
3-octanol	0,0300	0,0300	0,300

Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Com base nos trabalhos sobre os COVFs, o limite de detecção observado por Moularat e colaboradores (2008a) e Moularat e colaboradores (2008b) foi de $0,007\mu\text{g}/\text{m}^3$, enquanto para Schleibinger e colaboradores (2008) em torno de $0,001\mu\text{g}/\text{m}^3$, mostrando os dados da presente tese estarem corroborados pela literatura.

5.3.2.3 Eficiência do cartucho

Visando garantir que o tipo de cartucho selecionado para as coletas ambientais apresentasse eficiência na retenção dos 10 padrões externos de COVFs elegidos para a pesquisa, 02 experimentos foram realizados conforme descrito na seção 4.7.1.1.4.

Para o experimento I os resultados não foram pertinentes, visto que, ao ser adicionado um frasco rosqueado contendo uma mistura dos 10 padrões na concentração

de 100 µg/m³, permanecendo aberto por 1 h. Em seguida, com a análise em CG-EM não foi possível detectar os 10 padrões (Tabela 5), podendo esse resultado ser justificado pela pequena área de dispersão da mistura preparada. Por se tratar de um frasco rosqueado, sua área de abertura é muito pequena.

Entretanto, para o experimento II, os resultados foram conclusivos de que o cartucho selecionado é capaz de reter os 10 padrões pesquisados, visto que, no lugar do frasco, utilizou-se uma placa de Petri pequena contendo uma mistura dos 10 padrões na concentração de 100 µg/m³. A mesma permaneceu aberta durante 1 h, o mesmo tempo que a bomba de amostragem de ar foi acoplada e direcionou o ar para um cartucho. Em seguida, com a análise em CG-EM, foi possível determinar a presença dos 10 padrões (Tabela 6).

Tabela 6 – Ausência ou presença dos 10 padrões externos de COVFs elegidos para a pesquisa, frente ao experimento I (uso de um frasco rosqueado para dispersar a mistura) e experimento II (uso de uma placa de Petri pequena para dispersar a mistura).

COVFs	Experimento I	Experimento II
2-metil-1-propanol	-	+
2-pentanol	+	+
3-metil-1-butanol	+	+
2-metil-1-butanol	-	+
1-pentanol	-	+
2-hexanona	-	+
2-heptanona	+	+
3-octanona	+	+
1-octen-3-ol	-	+
3-octanol	-	+

Legenda: (+) presença; (-) ausência. Fonte: Elaborado pela autora (2016).

O cartucho escolhido é indicado para amostragem de gases e vapores, apresentando afinidade por compostos polares voláteis, como álcoois, aldeídos, cetonas, entre outros (temperatura de ebulição > 75 °C), logo, os resultados do presente estudo corroboram outros trabalhos, como Harper (2000), Piceli (2005), Perkin-Elmer (2007) e Quadros (2008). De acordo com Wessen e Schoeps (1996), através desse tipo de composição do cartucho é possível determinar voláteis com precisão suficiente no ar interior de edifícios não industriais.

5.3.3 Análise Qualitativa dos COVFs

Através de coletas mensais nos quatro setores específicos em cada um dos três ambientes ocupacionais, em duplicada, perfizeram 144 amostras analisadas do ar em busca de COVFs, sendo 48 amostras de cada ambiente e 12 amostras de cada setor específico.

Do total de 144 amostras, 61% (88 amostras) foram positivas para os COVFs, sendo o ambiente hospitalar o mais crítico. Das 48 amostras do hospital analisadas, 75% foram positivas (36 amostras), seguido da biblioteca com 62,5% (30 amostras positivas) e o centro comercial com 46% (22 amostras positivas). Na Tabela 7 encontra-se a distribuição dessas 88 amostras positivas por setor específico de cada ambiente.

Tabela 7 – Distribuição das 88 amostras positivas para os COVFs em cada um dos setores e ambientes monitorados pela pesquisa, durante o período total de coleta.

Ambiente	Setor	Período de Coleta					
		Set/2014	Out/2014	Nov/2014	Mar/2015	Abr/2015	Mai/2015
	Acervo Geral	2	2	1	2	1	1
Biblioteca	Setor de Estudos Individuais	2	1	0	2	0	1
	Recepção Principal	2	1	2	2	1	0
	Recepção de Estudos	1	1	0	2	2	1
	1º andar	1	1	1	2	2	1
Centro	2º andar	1	1	0	2	0	0
Comercial	Est. coberto	1	1	2	2	2	0
	Est. ar livre	0	1	0	0	0	1
Hospital	UTI adulta	1	1	0	2	2	2
	Enf. transplantes	2	2	2	2	2	0
	Recepção emergência	2	2	1	2	2	0
	Recepção eletiva	1	2	0	2	2	2

Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Na Tabela 8 são descritos os resultados em ausência ou presença dos COVFs que foram monitorados frente aos ambientes e setores analisados.

Tabela 8 – Distribuição dos COVFs por ausência ou presença em cada um dos setores e ambientes monitorados pela pesquisa.

Ambiente	Setor	COVFs									
		2m1p	2p	3m1b	2m1b	1p	2hx	2hp	3oc	13ol	3ol
	Acervo Geral	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
Biblioteca	Setor de Estudos Individuais	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-

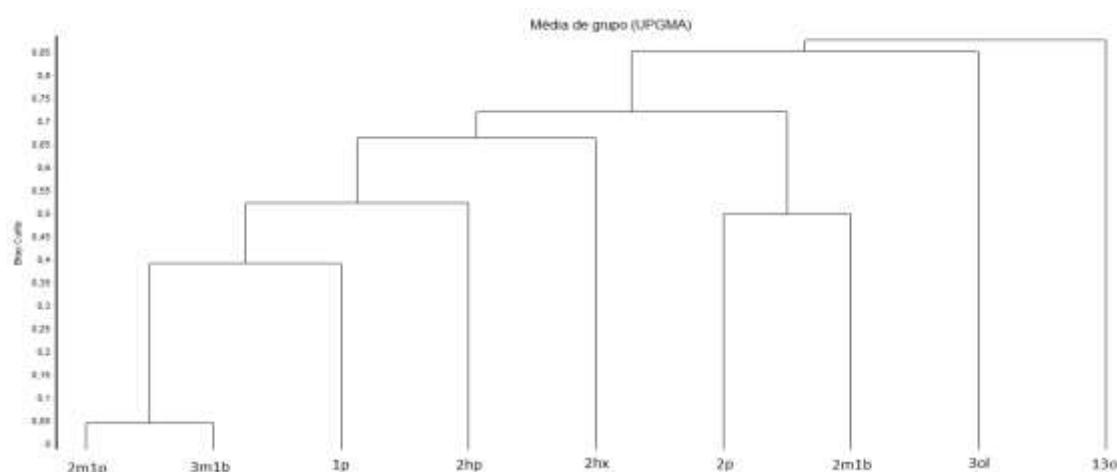
		Recepção Principal	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
		Recepção de Estudos	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Centro	1º andar		+	-	+	-	+	-	+	-	-	-
	2º andar		+	-	+	-	+	+	-	-	-	-
Comercial	Est. coberto		+	+	+	-	+	+	-	-	-	-
	Est. ar livre		+	-	+	-	-	+	-	-	-	-
Hospital	UTI adulta		+	-	+	-	-	-	-	+	+	-
	Enf. transplantes		+	-	+	-	-	-	+	-	+	-
	Recepção emergência		-	-	-	+	+	-	+	-	-	+
		Recepção eletiva	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-

Legenda: (+) presença; (-) ausência; 2m1p (2-metil-1-propanol), 2p (2-pentanol), 3m1b (3-metil-1-butanol), 2m1b (2-metil-1-butanol), 1p (1-pentanol), 2hx (2-hexanona), 2hp (2-heptanona), 3oc (3-octanona), 13ol (1-octen-3-ol) e 3ol (3-octanol). Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Constatou-se que dos 10 COVs que foram monitorados, 09 foram detectados em pelo menos um dos setores analisados. Apenas a 3-octanona não foi observada em nenhum ambiente pesquisado.

Visando buscar uma relação entre a distribuição dos achados acima, foi aplicada uma análise através do método hierárquico que usa a média aritmética. Trata-se do UPGMA (Agrupamento pelas Médias Aritméticas Não Ponderadas), com uso do índice de Bray–Curtis, em que 0 significa que os dois ou mais sítios têm a mesma composição, isto é, existe similaridade (PERES-NETO; VALENTIN; FERNANDEZ, 1995; CRUZ, 2006); para visualização, foi construído um dendograma de similaridade entre a distribuição dos COVs dentro dos setores específicos. Os resultados são observados na Figura 20.

Figura 20 – Dendrograma de similaridade entre os COVs, quanto maior similaridade (mais próximo do zero) identifica-se os próximos agrupamentos a serem formados. Os números do eixo y indicam o índice de Bray–Curtis e no eixo x os COVs.



Legenda: 2m1p (2-metil-1-propanol), 2p (2-pentanol), 3m1b (3-metil-1-butanol), 2m1b (2-metil-1-butanol), 1p (1-pentanol), 2hx (2-hexanona), 2hp (2-heptanona), 3oc (3-octanona), 13ol (1-octen-3-ol) e 3ol (3-octanol). Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Com base nessa análise constata-se que dois COVFs apresentam forte similaridade, o 2-metil-1-pentanol e o 3-metil-1-butanol, podendo-se afirmar que, quando um encontra-se presente no ambiente, existe forte probabilidade do outro também se fazer presente.

A discussão dos dados quantitativos e qualitativos por ambiente e setor foram feitas nos subtópicos específicos a seguir (subtópicos 5.3.4.1, 5.3.4.2 e 5.3.4.3).

5.3.4 Análise Quantitativa dos COVFs

5.3.4.1 Análise Quantitativa dos COVFs na Biblioteca

No total, 48 amostras da biblioteca foram analisadas frente aos COVFs, sendo que 62,5% foram positivas a 5 dos 10 compostos monitorados (ver Tabela 9), em pelo menos um dos setores analisados, com destaque para o 2-metil-1-propanol (média de concentração = $71,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$). A presença desse composto já foi observada no ar de áreas urbanas e industriais de Buenos Aires, Argentina (COLMAN *et al.*, 2011), cujos autores afirmaram existir uma forte relação de sua presença com o metabolismo da espécie *Aspergillus niger* e os gêneros *Penicillium* e *Cladosporium*, achados que corroboram ao da presente tese (subtópico 5.4.1).

Tabela 9 – Distribuição das médias, desvio-padrão e valor p dos COVFs ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) por setor específico da biblioteca pública de referência no município de Fortaleza, CE.

Composto	Setores					Valor p
	Acervo Geral	Setor de Estudos Individuais	Recepção Principal	Recepção de Estudos	Média ± DP	
2-metil-1-propanol	83	80,2	53,2	72,9	$71,5 \pm 13,44$	0,89
2-pentanol	5,3	nd	nd	4,6	$5 \pm 2,87$	0,01*
3-metil-1-butanol	nd	20,5	19,5	28,3	$22,8 \pm 12,04$	0,45
2-metil-1-butanol	30	7,3	22,2	15,2	$19,2 \pm 9,7$	0,64
1-pentanol	nd	nd	14,5	nd	$14,5 \pm 7,25$	0,25

Legenda: nd: não detectado; *diferença significativa. Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Os demais COVFs aparecem em concentrações menores. As médias apresentadas foram para o 3-metil-1-butanol (média de concentração = $22,8 \mu\text{g}/\text{m}^3$), 2-metil-1-butanol (média de concentração = $19,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$), 1-pentanol (média de

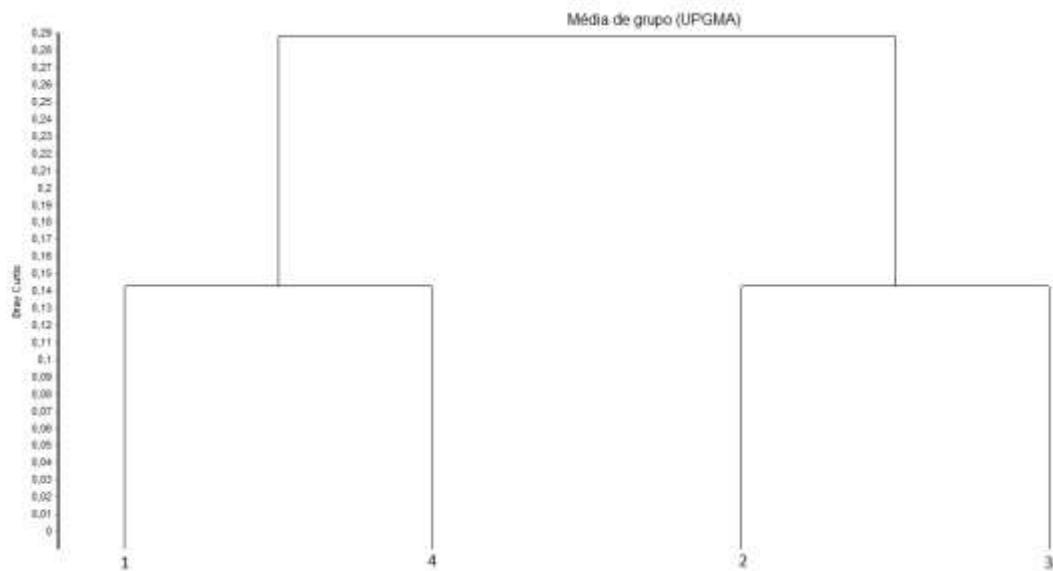
concentração = 14,5 µg/m³) e 2-pentanol (média de concentração = 5 µg/m³). Com base na literatura, a medição de baixa dosagem continua a ser o principal problema em detectar COVFs. Um estudo de Matysik, Herbarth e Mueller (2008) mostrou a aplicação de microextração em fase sólida ser muito sensível a baixas concentrações, sendo inadequado para medidas internas reais em estudos epidemiológicos. No entanto, devem ser feitos esforços para detectar até mesmo pequenas concentrações de COVFs na vida diária e para encontrar uma melhor correlação de fungos, COVFs e efeitos na saúde (MATYSIK; HERBARTH; MUELLER, 2008).

Ao analisar as médias dos COVFs e a presença nos setores da biblioteca, valores de p foram calculados (Tabela 8). Através dos mesmos, constatou-se que apenas o 2-pentanol apresentou o valor de $p < 0,05$, logo, há probabilidade de existirem diferenças significativas entre esse composto e os setores específicos (acervo geral e recepção de estudos), isto é, a presença de 2-pentanol tem forte probabilidade ao acaso de se observar novamente nesses dois setores.

Ainda sobre os ambientes e a presença dos COVFs, os mesmos foram analisados através do método hierárquico (ver Figura 21), sendo possível constatar que os COVFs do acervo geral têm relação com os achados presentes na recepção de estudos. Similarmente, foi observado entre o setor de estudos individuais e a recepção principal, o que não era geograficamente previsível, já que esses ambientes estão distantes.

Ao constatar sobre esse aspecto, o dendograma também apresenta que esses dois grupos separadamente têm a mesma distância ao zero, logo, ao analisar o somatório dos ambientes similares, os dois grupos, cada um formado por dois setores, apresentam similaridade entre si.

Figura 21 – Dendograma de similaridade entre os setores específicos da biblioteca pública de referência no município de Fortaleza, CE, quanto maior similaridade (mais próximo do zero). Os números do eixo y indicam o índice de Bray–Curtis e no eixo x os setores específicos.



Legenda: 1 (Acervo Geral), 2 (Setor de Estudos Individuais), 3 (Recepção Principal), 4 (Recepção de Estudos). Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Analizar os achados dos COVFs entre si também desponta como um aspecto de suma importância. Visando buscar uma relação entre esses achados, foi aplicada uma análise estatística através do método de correlação simples entre variáveis por meio do teste T Student, visando comparar o nível de significância e a correlação entre os achados. Com os resultados da Tabela 10, pode-se constatar que a presença no ar do 2-metil-1-propanol é significativa ao nível de 1% ou 5% de probabilidade com todos os demais COVFs encontrados na biblioteca.

Tabela 10 – Resultados de correlação através do teste T e o real nível de significância entre os achados de COVFs provenientes da biblioteca pública de referência no município de Fortaleza, CE.

Correlação	Coeficiente de Correlação de Pearson	Nível de significância
2m1p x 2p	0,9291	**
2m1p x 3m1b	0,9779	**
2m1p x 2m1b	-0,8910	*
2m1p x 1p	-0,9140	*
2p x 3m1b	0,0758	ns
2p x 2m1b	0,0801	ns
2p x 1p	0,0607	ns
3m1b x 2m1b	0,0147	ns
3m1b x 1p	0,0021	ns
2m1b x 1p	-0,0507	ns

Legenda: ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns não significativo ($p \geq 0,05$); 2m1p (2-metil-1-propanol), 2p (2-pentanol), 3m1b (3-metil-1-butanol), 2m1b (2-metil-1-butanol), 1p (1-pentanol), 2hx (2-hexanona), 2hp (2-heptanona), 3oc (3-octanona), 13ol (1-octen-3-ol) e 3ol (3-octanol). Fonte: Elaborado pela autora (2016).

5.3.4.2 Análise Quantitativa dos COVFs no Centro Comercial

No total, 48 amostras do centro comercial foram analisadas frente aos COVFs: 46% foram positivas a 6 dos 10 compostos monitorados (ver Tabela 11), em pelo menos um dos setores analisados, com destaque para o 2-metil-1-propanol (média de concentração = 69,4 µg/m³) e o 3-metil-1-butanol (média de concentração = 26 µg/m³).

Tabela 11 – Distribuição das médias, desvio-padrão e valor p dos COVFs (µg/m³) por setor específico do centro comercial de referência no município de Fortaleza, CE.

Composto	Setores				Média ± DP	Valor p
	1º andar	2º andar	Est. coberto	Est. ar livre		
2-metil-1-propanol	151,11	31,51	74,12	20,86	69,4 ± 71,6	0,09
2-pentanol	nd	nd	4,69	nd	4,69 ± 0,98	0,09
3-metil-1-butanol	36,61	28,35	16,65	21,03	26 ± 11,8	0,57
1-pentanol	7,12	6,9	8,36	nd	7,5 ± 2,95	0,49
2-hexanona	nd	5,79	4,07	7,32	6 ± 2,43	0,45
2-heptanona	2,75	nd	nd	nd	2,75 ± 3,68	0,38

Legenda: nd: não detectado. Fonte: Elaborado pela autora (2016).

A elevada concentração do 2-metil-1-propanol assemelha-se ao achado da biblioteca analisada. A presença do 2-metil-1-propanol já foi descrita por Pastore e colaboradores (1994), através do isolamento de uma linhagem da levedura *Geotrichum* sp. proveniente da fruta do mamão, frente estudos que visam seu papel na qualidade do ar. Existem autores, como Wessén e Schoeps (1996), que descreveram seu uso para detectar o crescimento microbiano no ambiente. Bem como, é possível que este composto seja um indicador de recente crescimento fúngico presente no ar (WILKINS; LARSEN; SIMKUS, 2000; WILKINS, 2002). Logo, pode existir uma fonte relativamente recente de contaminação do ar nos quatro setores monitorados, mas que não pode ser detectado pontualmente na presente pesquisa.

Enquanto o 3-metil-1-butanol foi relatado como um produto metabólico do gênero *Trichoderma* (ROSALES, 2011), achado fúngico presente nos dois estacionamentos pesquisados. Os demais COVFs aparecem em concentrações menores. As médias apresentadas foram para 1-pentanol (média de concentração = 7,5 µg/m³), 2-hexanona (média de concentração = 6 µg/m³), 2-pentanol (média de concentração = 5 µg/m³) e 3-heptanona (média de concentração = 2,75 µg/m³).

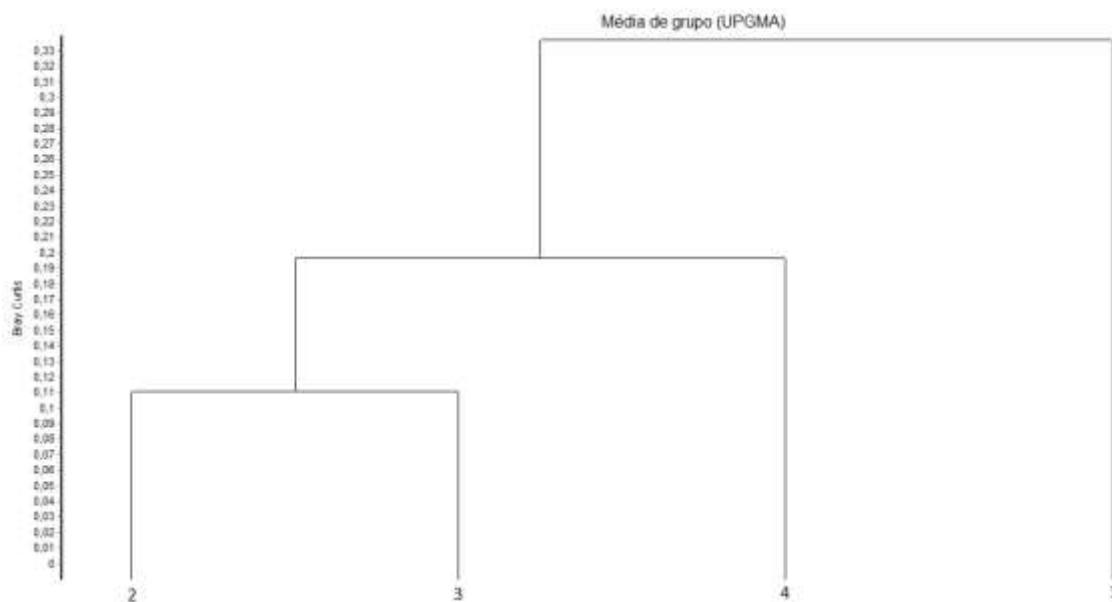
Mesmo estando presentes em concentrações baixas, sua detecção no ambiente deve ser considerada, pois relato na literatura aponta que certos sintomas (dores de

cabeça, irritação dos olhos, entre outros) podem ser produzidos por COVs em concentrações de 5 a 25 µg/m³ (NURMATOV *et al.*, 2013).

Com base na análise entre as médias dos COVFs e a presença nos setores do centro comercial, valores de p foram calculados (Tabela 9). Através dos mesmos, constatou-se que nenhum dos compostos e seus setores apresentaram o valor de $p < 0,05$, isto é, a presença em conjunto desses compostos tem fraca probabilidade ao acaso de se observar nesses setores.

Ainda sobre os ambientes e a presença dos COVFs, os mesmos foram analisados através do método hierárquico (ver Figura 22), sendo possível constatar que os COVFs do 2º andar têm relação com os achados presentes no estacionamento coberto.

Figura 22 – Dendograma de similaridade entre os setores específicos do centro comercial de referência no município de Fortaleza, CE, quanto maior similaridade (mais próximo do zero). Os números do eixo y indicam o índice de Bray–Curtis e no eixo x os setores específicos.



Legenda: 1 (1º andar), 2 (2º andar), 3 (Estacionamento coberto), 4 (Estacionamento ar livre). Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Conforme realizado para a biblioteca, foram analisados os achados dos COVFs entre si também. Para tanto, realizou-se uma análise estatística através do método de correlação simples entre variáveis por meio do teste T Student, visando comparar o nível de significância e a correlação entre os achados.

Os resultados da Tabela 12 apontaram que o 2-pentanol apresenta relação significativa ao nível de 1% com o 3-metil-1-butanol, seguido do 2-pentanol relacionado com o 1-pentanol e o 2-hexanona ao nível de 5% de probabilidade; o mesmo foi

observado entre o 2-metil-1-propanol com o 2-pentanol, 1-pentanol, 2-hexanona e 2-heptanona.

Tabela 12 – Resultados de correlação através do teste T e o real nível de significância entre os achados de COVFs provenientes do centro comercial de referência no município de Fortaleza, CE.

Correlação	Coeficiente de Correlação de Pearson	Nível de significância
2p x 3m1b	0,9260	**
2m1p x 2p	0,8471	*
2m1p x 1p	0,8115	*
2m1p x 2hx	0,8044	*
2m1p x 2hp	0,9021	*
2p x 1p	0,8594	*
2p x 2hx	0,9248	*
2m1p x 3m1b	0,0312	ns
2p x 2 hp	0,0599	ns
3m1b x 1p	0,0433	ns
3m1b x 2hx	0,0186	ns
3m1b x 2hp	0,0075	ns
1p x 2hx	0,0113	ns
1p x 2hp	-0,0346	ns
2hx x 2hp	0,0769	ns

Legenda: ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns não significativo ($p \geq 0,05$); 2m1p (2-metil-1-propanol), 2p (2-pentanol), 3m1b (3-metil-1-butanol), 2m1b (2-metil-1-butanol), 1p (1-pentanol), 2hx (2-hexanona), 2hp (2-heptanona), 3oc (3-octanona), 13ol (1-octen-3-ol) e 3ol (3-octanol). Fonte: Elaborado pela autora (2016).

5.3.4.3 Análise Quantitativa dos COVFs no Hospital

No total, 48 amostras do hospital foram analisadas frente aos COVFs, sendo que 75% foram positivas (36 amostras) a 7 dos 10 compostos monitorados (Tabela 13), em pelo menos um dos setores analisados, com destaque para o 2-heptanona (média de concentração = $179,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$) e 2-metil-1-propanol (média de concentração = $86,16 \mu\text{g}/\text{m}^3$). O 2-heptanona já foi descrito por Rudnicka e colaboradores (2010), comumente emitida a partir de fluidos humanos (por exemplo, sangue, urina, respiração, pele).

Tabela 13 – Distribuição das médias, desvio-padrão e valor p dos COVFs ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) por setor específico do hospital terciário do município de Fortaleza, CE.

Composto	Setores				Média ± DP	Valor p
	UTI	Enfermaria de Transplantes	Recepção Emergência	Recepção Eletiva		
2-metil-1-propanol	17,76	154,28	nd	86,45	$86,16 \pm 42,58$	0,08
3-metil-1-butanol	17,16	7,17	nd	25,67	$16,67 \pm 7,95$	0,16
2-metil-1-butanol	nd	nd	8,82	nd	$8,82 \pm 0,87$	0,09
1-pentanol	nd	nd	26,49	17,57	$22,03 \pm 9,75$	0,04*
2-heptanona	nd	42,29	37,14	458,50	$179,31 \pm 11,32$	0,12
1-octen-3-ol	19,21	25,61	nd	nd	$22,41 \pm 3,70$	0,34
3-octanol	nd	nd	15,23	nd	$15,23 \pm 2,77$	0,41

Legenda: nd: não detectado; *diferença significativa. Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Enquanto, o 2-metil-1-propanol foi também observado por Rosch e colaboradores (2014), com máxima concentração em 57,49 µg/m³, tais dados não corroboram ao presente estudo, visto a média ter sido 86,16 µg/m³, tendo a máxima concentração observada de 160,64 µg/m³ proveniente da UTI no mês de outubro/2014.

Os demais COVFs aparecem em concentrações menores. As médias apresentadas foram para 1-pentanol (22,03 µg/m³), 1-octen-3-ol (22,41 µg/m³), 3-metil-1-butanol (16,67 µg/m³), 3-octanol (15,23 µg/m³) e 2-metil-1-butanol (8,82 µg/m³). Apesar desses últimos compostos apresentarem concentrações menores, deve ser dada a devida atenção ao achado, visto que, Wålinder e colaboradores (2008) terem analisados voluntários humanos expostos a 10 µg/m³ de 1-octen-3-ol por 2 horas e relatado irritação dos olhos, nariz e garganta, enquanto, no presente estudo, a concentração de 1-octen-3-ol foi exatamente o dobro da reportada pelos pesquisadores, tornando o dado um alerta microbiológico.

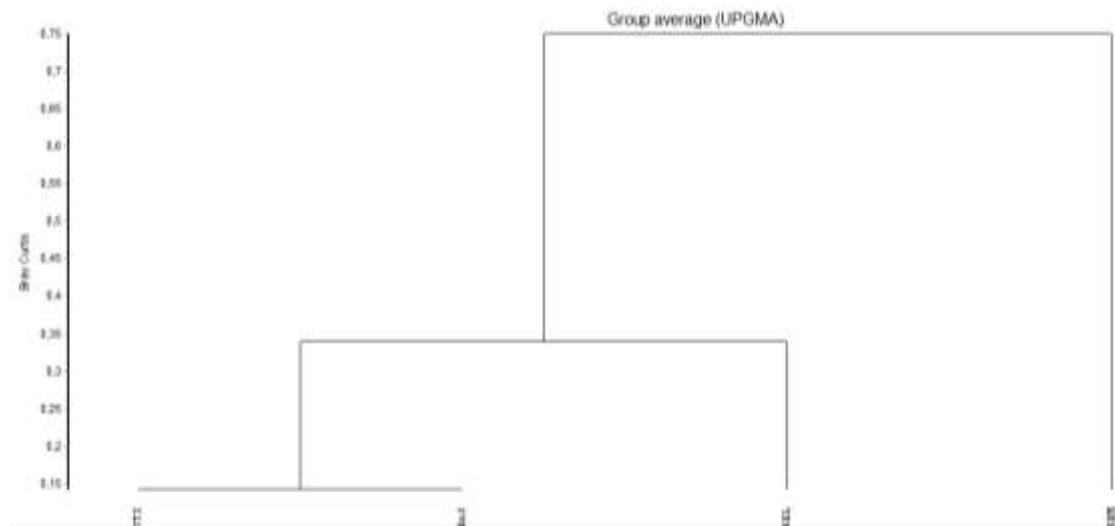
O 1-octen-3-ol foi observado apenas no ambiente hospitalar, especificamente na Recepção de Emergência. Sua presença já foi detectada por autores como Wieslander e Norback (2010), sendo associado a plastificantes, que poderia ser proveniente de tintas à base de água. Bem como, esse composto já foi reportado apresentando uma alta correlação com materiais de construção e aparelhos de ar condicionado, sendo a influência da temperatura e da umidade relativa sobre o crescimento e metabolismo fúngico, diferente para as diversas espécies fúngicas (POLIZZI *et al.*, 2012)

Ao analisar as médias dos COVFs e a presença nos setores do hospital, valores de p foram calculados (Tabela 10). Através dos mesmos, constatou-se que apenas o 1-pentanol apresentou o valor de $p < 0,05$, logo, há probabilidade de existirem diferenças significativas entre esse composto e os setores específicos (recepções de emergência e a eletiva), isto é, a presença de 1-pentanol tem forte probabilidade ao acaso de se observar novamente nesses dois setores.

Também para a análise desses dados foi construído um dendograma de similaridade entre a presença de COVFs e os setores analisados, com uso da análise de similaridade de Bray–Curtis, teste utilizado para quantificar a similaridade de composição entre dois sítios diferentes (Figura 23), em que 0 significa que os dois locais têm a mesma composição (isto é, eles partilham todas as espécies), situação observada entre a Unidade Terapia Intensiva e a Enfermaria de Transplantes, logo, esses lugares apresentam a

mesma composição do COVFs, nesse sentido, os gestores das Comissões de Infecção Hospitalar podem tomar medidas de controle semelhantes para ambos os setores.

Figura 23 – Dendograma de similaridade entre os setores específicos do hospitalterciário do município de Fortaleza, CE, quanto maior similaridade (mais próximo do zero). Os números do eixo y indicam o índice de Bray–Curtis e no eixo x os setores específicos.



Legenda: UTI (Unidade de Terapia Intensiva), ENF (Enfermaria de Transplante), REL (Recepção Eletiva), REM (Recepção de Emergência). Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Conforme realizado para a biblioteca e o centro comercial, foram analisados os achados dos COVFs entre si, com uso da análise estatística através do método de correlação simples entre variáveis por meio do teste T Student.

Ao observar a Tabela 14 verificou-se que 2-metil-1-propanol apresenta relação significativa ao nível de 1% de probabilidade com o 2-metil-1-butanol, 1-pentanol, 1-octen-3-ol e 3-octanol, seguido do 3-metil-1-butanol relacionado com o 2-metil-1-butanol e 3-octanol. Ao nível de 5% de probabilidade destaca-se o 2-metil-1-propanol com o 3-metil-1-butanol e, por fim, 2-metil-1-butanol com o 1-pentanol.

Tabela 14 – Resultados de correlação através do teste T e o real nível de significância entre os achados de COVFs provenientes do hospital terciário do município de Fortaleza, CE.

Correlação	Coeficiente de Correlação de Pearson	Nível de significância
2m1p x 2m1b	0,9737	**
2m1p x 1p	0,9811	**
2m1p x 13ol	0,9035	**
2m1p x 3ol	0,9147	**
3m1b x 2m1b	0,9017	**
3m1b x 3ol	0,8765	**
2m1p x 3m1b	0,8566	*
2m1b x 1p	0,8281	*
2m1p x 2hp	0,0653	ns
3m1b x 1p	0,0857	ns

3m1b x 2hp	0,0037	ns
3m1b x 13ol	0,0824	ns
2m1b x 2hp	0,0631	ns
2m1b x 13ol	0,0905	ns
2m1b x 3ol	0,0805	ns
1p x 2hp	0,0172	ns
1p x 13ol	0,0901	ns
1p x 3ol	0,0131	ns
2hp x 13ol	0,0987	ns
2hp x 3ol	0,0362	ns
13ol x 3ol	0,0801	ns

Legenda: ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns não significativo ($p \geq 0,05$); 2m1p (2-metil-1-propanol), 2p (2-pentanol), 3m1b (3-metil-1-butanol), 2m1b (2-metil-1-butanol), 1p (1-pentanol), 2hx (2-hexanona), 2hp (2-heptanona), 3oc (3-octanona), 13ol (1-octen-3-ol) e 3ol (3-octanol). Fonte: Elaborado pela autora (2016).

5.4 Análise das Amostras Fúngicas

Semelhante às coletas dos COVFs, foram analisados os quatro setores específicos em cada um dos três ambientes ocupacionais, perfazendo 72 coletas; dessas, 100% foram positivas para fungos.

Os resultados da análise quantitativa, realizada com base na fórmula descrita na seção 4.8, mostraram elevado número de unidades formadoras de colônia por metro cúbico (UFC/m³). Com base na média de UFC/m³ calculada para cada setor específico (Tabela 15), todos valores encontram-se acima do recomendado pela ANVISA, que é de no máximo 750 UFC/m³ para ambientes com climatização artificial (BRASIL, 2003).

Ao analisar as médias por ambiente, o centro comercial apresentou a maior média (2.407 UFC/m³), seguido da biblioteca (2.213 UFC/m³) e hospital (1.026 UFC/m³). Frente aos setores específicos, destaque deve ser dado ao acervo geral da biblioteca (3.497 UFC/m³), seguido do estacionamento coberto do centro comercial (3.245 UFC/m³), esses despontando como os setores mais biocontaminados.

Tabela 15 – Análise quantitativa (média de unidades formadoras de colônia fúngica por metro cubico – UFC/m³) por ambiente e setores analisados, durante as estações seca e chuvosa que predominam no município de Fortaleza, Ceará.

Ambiente	Setor	Média UFC/m ³
Biblioteca	Acervo Geral	3.497
	Setor de Estudos Individuais	1.287
	Recepção Principal	1.465
	Recepção de Estudos	2.602
1º andar		1.514

Centro Comercial	2º andar	2.269
	Estacionamento coberto	3.245
	Estacionamento ar livre	2.599
Hospital	UTI adulta	833,5
	Enfermaria transplantes	1.086
	Recepção emergência	1.308
	Recepção eletiva	877,5

Fonte: Elaborado pela autora (2016).

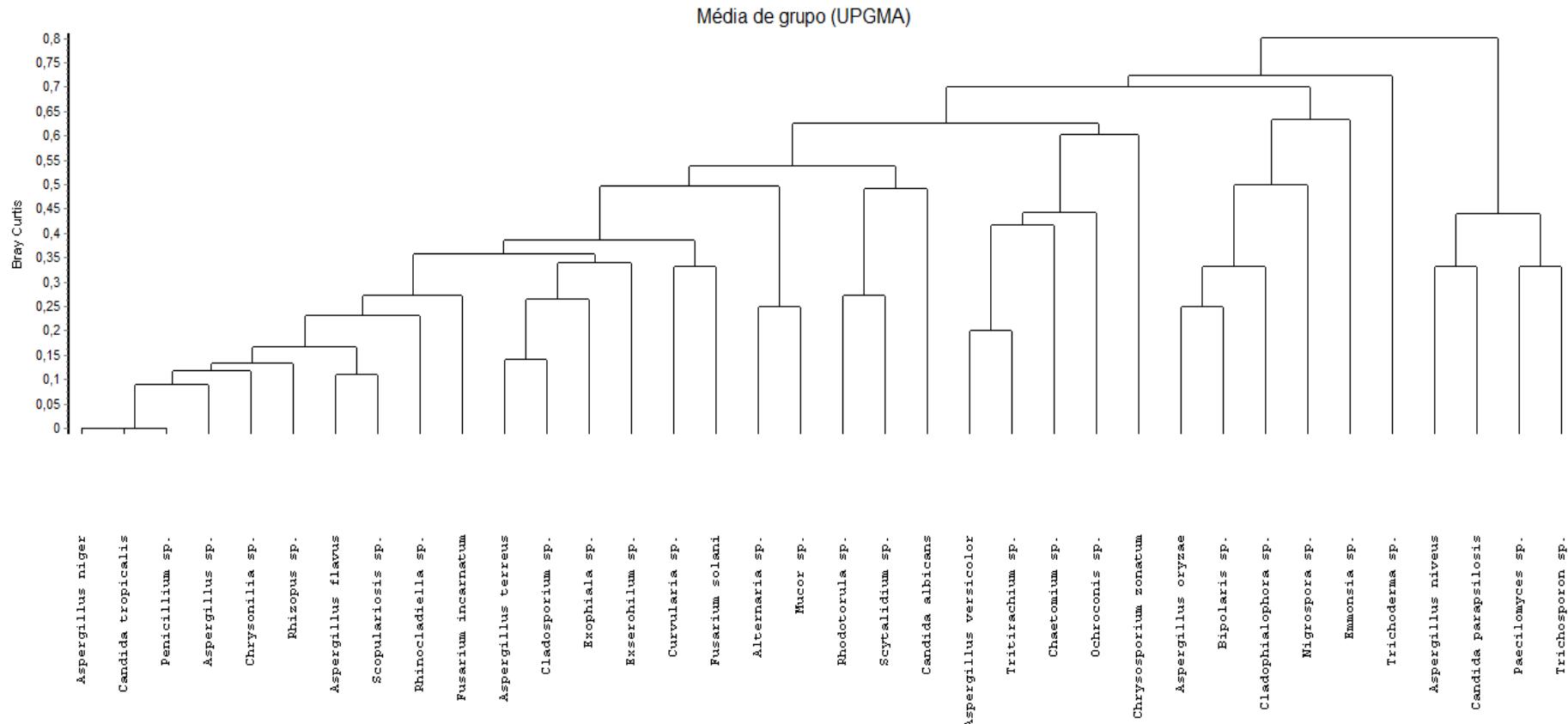
No tocante à análise qualitativa, foram identificados 28 gêneros e 12 espécies no total; para a biblioteca, 21 gêneros e 10 espécies fúngicas, para o centro comercial foram 20 gêneros e 09 espécies fúngicas, enquanto que o hospital apresentou 17 gêneros e 10 espécies fúngicas. As identificações taxonômicas encontram-se descritas nas seções 5.4.1, 5.4.2 e 5.4.3.

No tocante a composição do espectro de fungos anemófilos dos três ambientes analisados, este é formado predominantemente por hialinos, correspondendo a 18 gêneros (do total de 28 gêneros). Estudos aerobiológicos realizados em países temperados apontam os fungos demáceos, em especial o gênero *Cladosporium* sp., como os membros preponderantes no ar e na poeira (SOLOMON *et al.*, 2006). No presente estudo, a incidência de fungos demáceos foi menor que a representada pelo hialinos, apenas 10 gêneros (do total de 28 gêneros). Os únicos representantes do grupo das leveduras foram os gêneros *Candida* sp., *Trichosporon* sp. e *Rhodotorula* sp.

Visando buscar uma relação entre os achados, foi aplicada uma análise através do método hierárquico que usa a média aritmética. Trata-se do UPGMA com uso do índice de Bray–Curtis, em que 0 significa que os dois ou mais sítios têm a mesma composição, isto é, existe similaridade (PERES-NETO; VALENTIN; FERNANDEZ, 1995; CRUZ, 2006). Os resultados são observados na Figura 24.

Com essa análise existem três achados fúngicos, o *Aspergillus niger*, a *Candida tropicalis* e o *Penicillium* sp. que apresentam similaridade, logo, quando um encontra-se no ambiente, existe forte probabilidade dos demais se fazerem também presentes. Essa análise será melhor discutida por ambiente nas seções 5.4.1, 5.4.2 e 5.4.3.

Figura 24 – Dendograma de similaridade entre todos os achados fúngicos de todos os ambientes analisados, quanto maior similaridade (mais próximo do zero). Os números do eixo y indicam o índice de Bray–Curtis e no eixo x os achados fúngicos.



Fonte: Elaborado pela autora (2016).

5.4.1 Análise Quantitativa e Qualitativa de amostras fúngicas na Biblioteca

No tocante aos achados fúngicos, 24 amostras foram analisadas, 100% positivas, sendo detectado um elevado número de unidades formadoras de colônia por metro cúbico em todos os setores, em especial no Acervo Geral (média mensal de 3.497 UFC/m³), seguido da Recepção de Estudos (média 2.602 UFC/m³), Recepção Principal (média 1.465 UFC/m³) e Setor de Estudos Individuais (média 1.287 UFC/m³).

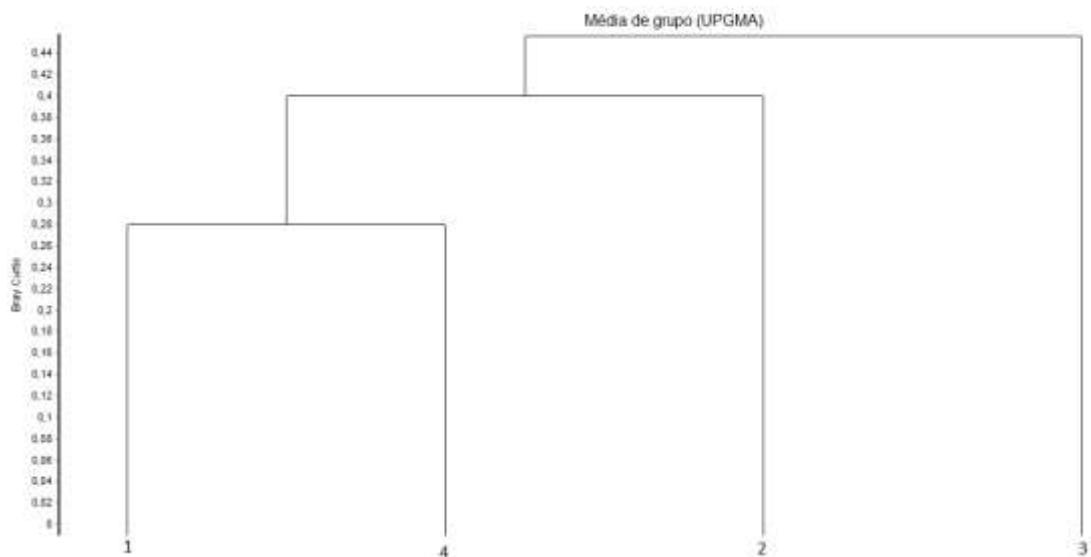
As médias apresentadas acima estão em desconformidade com a atual legislação publicada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, a Resolução Nº 176, contendo orientação Técnica sobre Padrões Referenciais de qualidade do ar interior, em ambientes com climatização artificial de uso público e coletivo, que foi aprimorada pela Resolução Nº 9, de 16 de janeiro de 2003 (BRASIL, 2003). A mesma estipula que o Valor Máximo Recomendável, para contaminação microbiológica, deve ser ≤ 750 UFC/m³ de fungos.

Na tentativa de justificar essa desconformidade com a legislação, algumas situações podem ser aferidas, devido principalmente à grande quantidade de substratos favoráveis à ação de biodegradadores/biopoluentes sobre os acervos físicos e digitais. Os dados corroboram com o estudo conduzido por Bortoletto e colaboradores em 2002, em que foi constatada uma séria contaminação fúngica no ar da biblioteca de Manguinhos da Fundação Oswaldo Cruz, cujo acervo contava com 620.000 volumes, na época. A biblioteca foi interditada por 5 meses devido a essa contaminação.

Também deve ser considerado o efeito da temperatura e da umidade no ambiente. Apesar de atualmente encontrar-se disponível tecnologia sofisticada para controle de tais variáveis, o setor de preservação e conservação de acervos necessita de meios para correlacioná-las diretamente com a qualidade do ar das bibliotecas, particularmente quando o ambiente sofre variações diárias ou mudança de estação climática (VALLE, 1991; REILLY; NISHIMURA; ZINN, 2001). Nesse ínterim, a literatura reporta que o excesso de umidade apressa a acidificação do papel, enquanto a baixa umidade conduz ao dessecamento, deixando-o quebradiço e frágil. Concomitantemente, essa variação de umidade favorece o desenvolvimento de micro-organismos, com destaque para os fungos (VALLE, 1991).

Ao tentar relacionar as contagens fúngicas com os setores específicos da biblioteca, constatou-se que a análise quantitativa do Acervo Geral tem similaridade com a Recepção de Estudos, conforme verificado na Figura 25.

Figura 25 – Dendograma de similaridade frente a análise quantitativa (UFC.m^{-3}) das amostras fúngicas. Os números do eixo y indicam o índice de Bray–Curtis e no eixo x os setores específicos da biblioteca pública de referência no município de Fortaleza, CE.



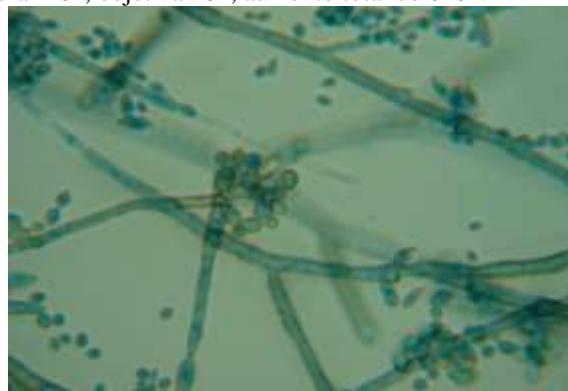
Legenda: 1 (Acervo Geral), 2 (Setor de Estudos Individuais), 3 (Recepção Principal), 4 (Recepção de Estudos). Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Frente à análise qualitativa, foram identificados 31 diferentes grupos fúngicos, distribuídos em 21 gêneros e 10 espécies, formados predominantemente por fungos hialinos, com destaque para *Acremonium* sp., *Aspergillus* sp., *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, *Candida tropicalis*, *Cladosporium* sp. (Figura 26), *Chrysonilia* sp., *Exophiala* sp., *Penicillium* sp. (Figura 27) e *Rhizopus* sp., encontrados nos quatro setores. Os demais achados são disponibilizados na Figura 28.

Ainda no tocante à composição do espectro de fungos anemófilos, destaca-se a presença de dois representantes das leveduras os gêneros *Candida* sp. e *Rhodotorula* sp. A espécie *Candida tropicalis* foi observada em todos os ambientes, a *Candida albicans* apenas no Acervo Geral, enquanto a *Rhodotorula* sp. esteve presente na Recepção de Estudos.

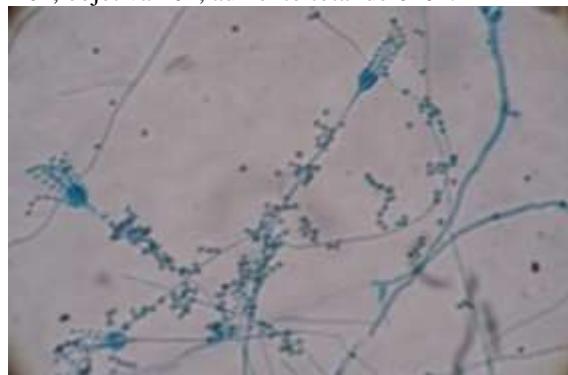
Também merece ser destacado a incidência de fungos demáceos, representada por nove gêneros dos 21 identificados dentro da biblioteca, a saber: *Alternaria* sp., *Bipolaris* sp., *Chaetomium* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Exophiala* sp., *Exserohilum* sp., *Ochroconis* sp. e *Tritirachium* sp. Dados não respaldados pela literatura internacional, visto que, estudos aerobiológicos realizados em países temperados apontam os fungos demáceos, em especial o gênero *Cladosporium* sp., como os membros preponderantes no ar e na poeira (SOLOMON *et al.*, 2006).

Figura 26 – Imagem do gênero *Cladosporium* sp. corado em lactofenol azul-algodão e observado através de microscopia óptica, ocular 16x, objetiva 40x, aumento total de 640x.



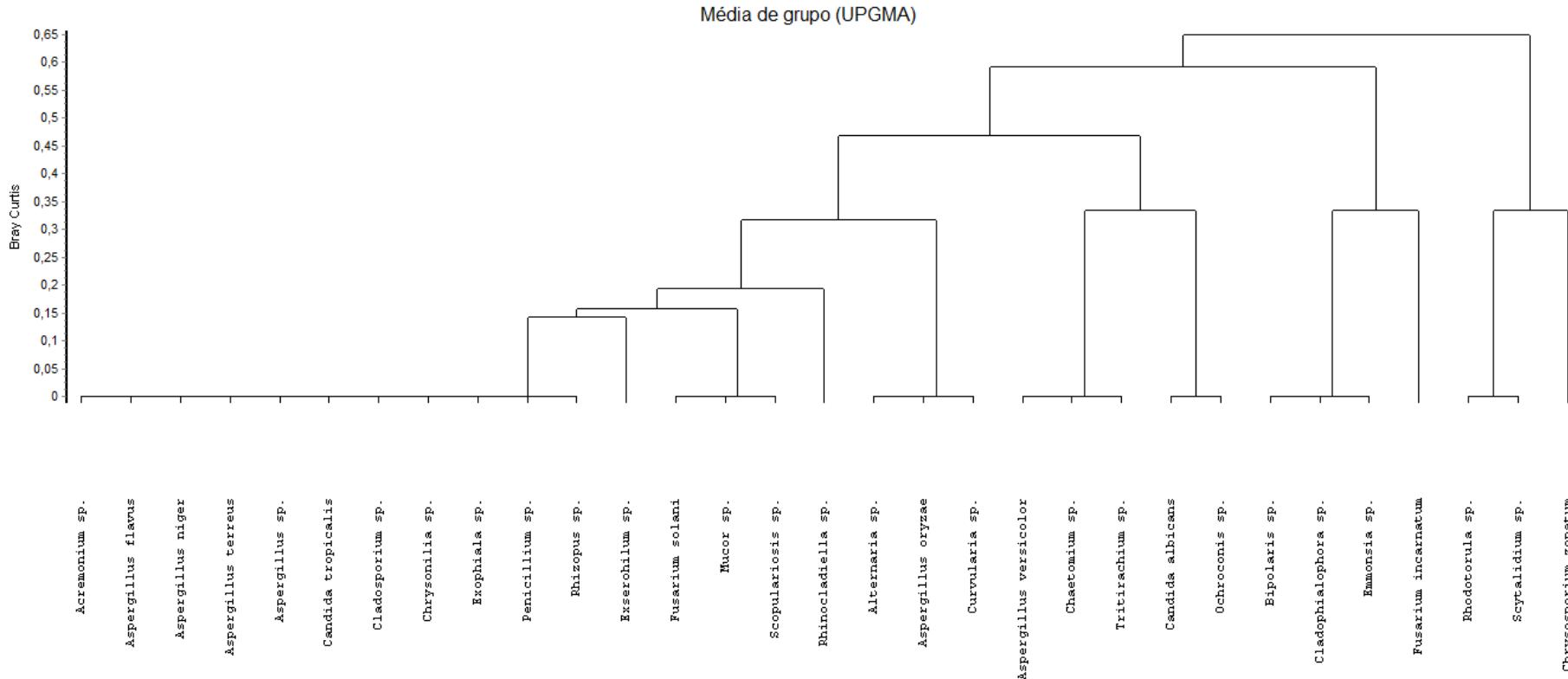
Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Figura 27 – Imagem do gênero *Penicillium* sp. corado em lactofenol azul-algodão e observado através de microscopia óptica, ocular 16x, objetiva 40x, aumento total de 640x.



Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Figura 28 – Dendograma de similaridade entre os achados fúngicos presentes nos setores específicos da biblioteca pública de referência no município de Fortaleza, CE. Os números do eixo y indicam o índice de Bray–Curtis e no eixo x os achados fúngicos.



Fonte: Elaborado pela autora (2016).

A representativa variedade de fungos encontrada coaduna-se a três estudos anteriores realizados no estado do Ceará. Menezes, Alcanfor e Cunha (2006) expuseram 50 placas de Petri na sala de periódicos da Biblioteca das Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará e isolaram 13 gêneros fúngicos, com destaque para *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Curvularia* sp. e *Cladosporium* sp., concluindo que aquele espaço era insalubre, já que os fungos poderiam desencadear alergias respiratórias em seus frequentadores.

A segunda pesquisa sobre o tema conhecida no Ceará foi realizada por pesquisadores do Laboratório de Microbiologia do Curso de Ciências Biológicas da UECE, quando monitoraram o ar da Biblioteca Central do *Campus* do Itaperi, por um período de um ano e identificaram vários fungos anemófilos, com maior taxa de prevalência para *Acremonium blochii*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus* sp., *Fusarium cladosporium*, *Fusarium* sp., *Mucor* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. e *Scytalidium hyalinum* (PANTOJA; COUTO; PAIXÃO, 2007).

A terceira pesquisa realizada foi por Pantoja e colaboradores (2012), na qual identificou-se e monitorou-se a micobiota aérea de quatro bibliotecas públicas de referência no município de Fortaleza, Ceará. Durante 24 meses, nessas bibliotecas, denominadas de A, B, C e D, foram contabilizadas 3.347, 5.874, 6.328 e 5.333 UFC, respectivamente, e identificados 61 achados fúngicos (34 gêneros e 27 espécies). Os achados da presente tese foram um quantitativo e qualitativo menor, talvez, justificado, pelo número de amostragem, visto que a presente pesquisa analisou 6 meses de coleta, em comparação aos 24 meses.

A diversidade do espectro fúngico do ar de bibliotecas situadas em diferentes locais é reforçada ainda com os dados de Rosa e colaboradores (2008), cujo estudo apontou os fungos mais frequentes na biblioteca da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás, que foram os zigomicetos *Mucor* sp., *Rhizopus* sp. e *Syncephalastrum* sp., o que reforça que a distribuição fúngica obedece a um padrão geográfico, enfatizando a importância de estudos regionalizados que visem conhecer a micobiota específica de cada região.

5.4.2 Análise Quantitativa e Qualitativa de amostras fúngicas no Centro Comercial

No tocante aos achados fúngicos, 24 amostras foram analisadas, 100% positivas, sendo detectado um elevado número de unidades formadoras de colônia por

metro cúbico em todos os setores, em especial no Estacionamento Coberto (média mensal de 3.245 UFC/m³), seguido do Estacionamento ao Ar Livre (média 2.599 UFC/m³), 2º andar (média 2.269 UFC/m³) e 1º andar (média 1.514 UFC/m³).

Frente às médias apresentadas, não é possível afirmar estarem em conformidade ou desconformidade com a Resolução – RE nº 9, visto que, os quatro setores específicos do centro comercial apresentam climatização natural, não existindo um Valor Máximo Recomendável para ambientes fechados com climatização natural, amplamente aceito na literatura. A atual orientação Técnica sobre Padrões Referenciais de qualidade do ar interior trata de ambientes com climatização artificial de uso público e coletivo (BRASIL, 2003).

Na tentativa de justificar essas médias, algumas situações podem ser aferidas, visto que, os centros comerciais apresentam uma série de características peculiares, como vidros escuros, a fim de minimizar o gasto de calor. Muitos não possuem ambientes com circulação de ar externo. O centro comercial da presente tese possui aberturas para admissão de ar para todos os setores, não sendo autocontroladas e sim manuais e precárias, por exemplo, janelas de pequeno porte, existindo também a presença de ventiladores, mas sem nenhum tipo de manutenção. Autores afirmam que o próprio ar-condicionado atua como fonte geradora de temperatura, de movimentação do ar e de ventilação e alguns estão integrados em um único sistema de controle (GRANDI; GUIMARÃES, 2004), mas não justifica as médias aqui apresentadas, pois o espaço apresenta climatização natural.

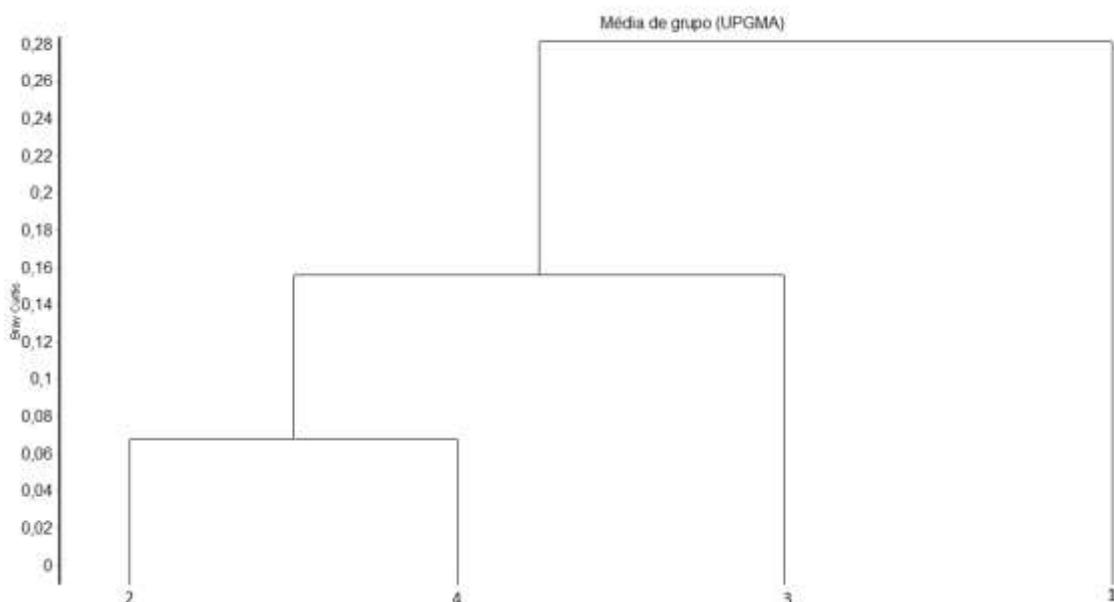
A peculiaridade do centro comercial ter climatização natural reduz a discussão dos achados, bem como, pode vir a agravar o problema, pois com base na literatura, geralmente, os estabelecimentos que mesmo com sistemas climatizados artificialmente tendem a não atender aos critérios das legislações pertinentes no que se referem à realização das atividades de manutenção, limpeza e controle, necessárias para assegurar que o ar interior atenda aos parâmetros mínimos de qualidade (INMETRO, 2003), logo, a situação em lugares sem legislação pode ser agravada.

Existem exceções, como o trabalho de Costa e Brickus (2000), que compararam a incidência de sintomas da Síndrome do Edifício Doente entre funcionários de um *shopping center* com ar-condicionado central e funcionários de lojas localizadas em ruas com ventilação natural. Os resultados indicaram que houve maior prevalência de sintomas nos funcionários do ambiente com climatização artificial. Dentro desse contexto, independentemente de ter climatização natural ou artificial é necessário que

avaliações sejam realizadas com regularidade, bem como, sejam desenvolvidas campanhas de esclarecimento aos funcionários e usuários.

Ao tentar relacionar as contagens fúngicas com os setores específicos do centro comercial, constatou-se que a análise quantitativa do 2º andar tem similaridade com o Estacionamento ao Ar Livre, conforme verificado na Figura 29.

Figura 29 – Dendograma de similaridade frente a análise quantitativa (UFC.m^{-3}) das amostras fúngicas. Os números do eixo y indicam o índice de Bray–Curtis e no eixo x os setores específicos do centro comercial de referência no município de Fortaleza, CE.

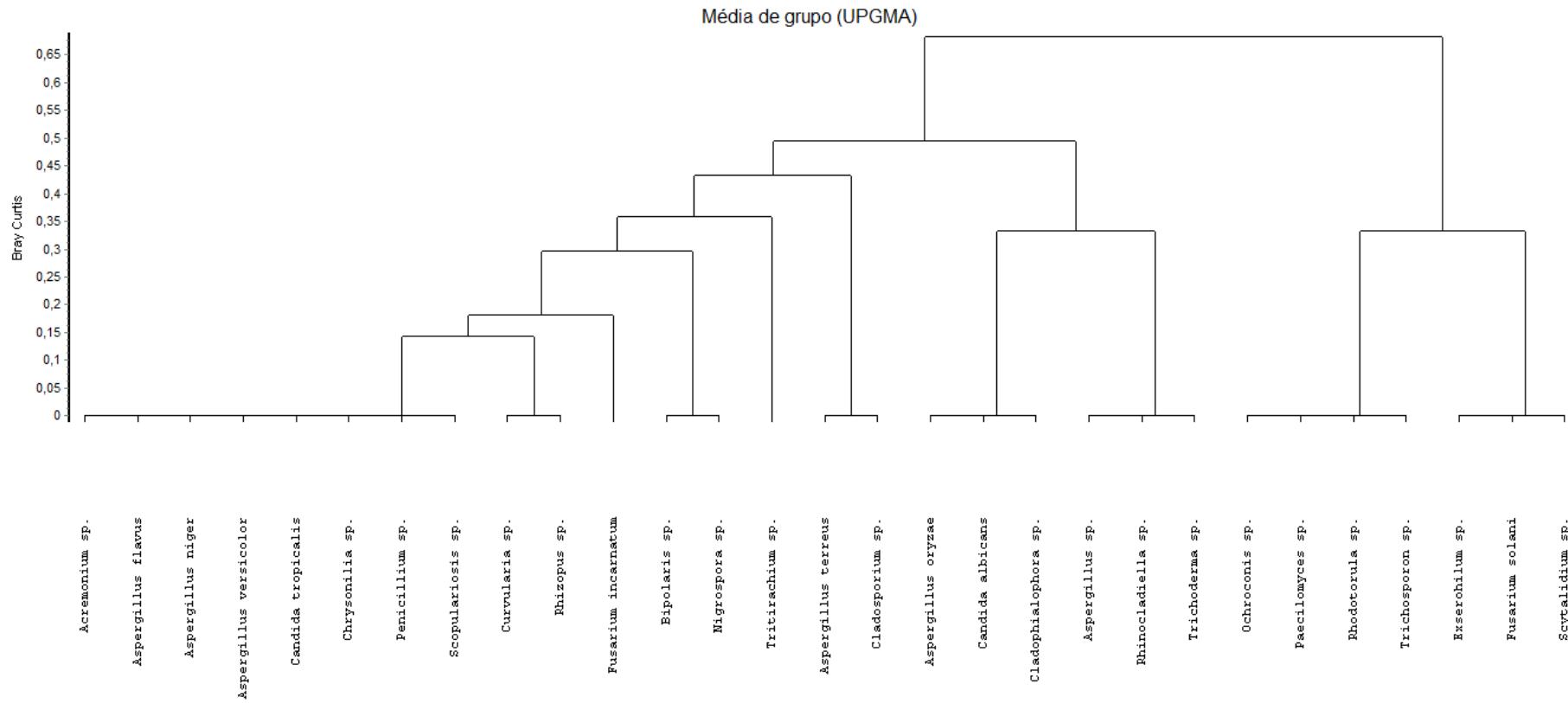


Legenda: 1 (1º andar), 2 (2º andar), 3 (Estacionamento Coberto), 4 (Estacionamento Ar Livre). Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Frente à análise qualitativa, foram identificados 29 diferentes grupos fúngicos, distribuídos em 20 gêneros e nove espécies, formados predominantemente por fungos hialinos, com destaque para *Acremonium* sp., *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. versicolor*, *Candida tropicalis*, *Chrysonilia* sp., *Penicillium* sp. e *Scopulariopsis* sp., encontrados nos quatro setores. Os demais achados são disponibilizados na Figura 30.

As leveduras também se destacaram em diversidade dentro da amostragem, a *Candida tropicalis* presente em todos os setores, a *Candida albicans* no Estacionamento Coberto, *Rhodotorula* sp. e *Trichosporon* sp. presentes no 2º andar. Esses dois últimos gêneros são descritos como fungos emergentes, podendo vir a causar desde micoses superficiais até sistêmicas (COLOMBO; PADOVAN; CHAVES, 2011; BAE *et al.*, 2016; ESTHER JUNIOR *et al.*, 2016).

Figura 30 – Dendograma de similaridade entre os achados fúngicos presentes nos setores específicos do centro comercial de referência no município de Fortaleza, CE. Os números do eixo y indicam o índice de Bray–Curtis e no eixo x os achados fúngicos.



Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Para os demáceos, dos 29 achados fúngicos, oito gêneros foram representados dentro do centro comercial, a saber: *Bipolaris* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Exserohilum* sp., *Nigrospora* sp., *Ochroconis* sp., *Rhinocladiella* sp. e *Tritirachium* sp.

5.4.3 Análise Quantitativa e Qualitativa de amostras fúngicas no Hospital

No tocante aos achados fúngicos, 24 amostras foram analisadas, 100% positivas, sendo detectado um elevado número de unidades formadoras de colônia por metro cúbico em todos os setores, em especial na Recepção de Emergência (média mensal de 1.308 UFC/m³), seguido da Enfermaria de Transplante (média 1.086 UFC/m³), Recepção Eletiva (média 877,5 UFC/m³) e Unidade de Terapia Intensiva (média 833,5 UFC/m³).

As médias apresentadas acima estão em desconformidade com a atual Resolução Nº 9, de 16 de janeiro de 2003, contendo orientação Técnica sobre Padrões Referenciais de qualidade do ar interior, em ambientes com climatização artificial de uso público e coletivo (BRASIL, 2003). Esta Resolução estipula que o Valor Máximo Recomendável, para contaminação microbiológica, deve ser \leq 750 UFC/m³ de fungos.

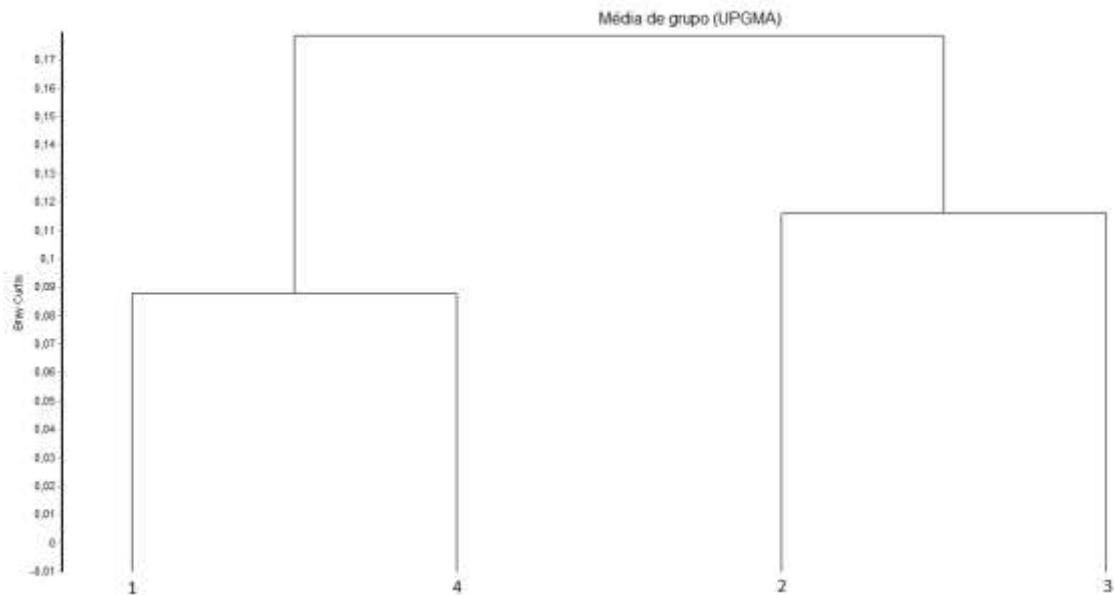
Na tentativa de justificar essa desconformidade com a legislação, algumas situações podem ser aferidas, como, ser fato que em um hospital existem setores propícios para a rápida evolução e disseminação dos fungos, em especial, nas recepções, que apresentam taxas significativas de poluentes, alta taxa de rotatividade de pessoas e fragilidade na manutenção dos sistemas de filtração de ar (BASTOS, 2005).

No caso da Enfermaria de Transplante, que despontou como o segundo ambiente mais biocontaminado, trata-se de um dado que deve ser analisado com critério, por exemplo, por uma Comissão de Infecção Hospitalar, visto que, existem pacientes com imunossupressão inseridos, logo, a má qualidade do ar pode acarretar um caso de infecção hospitalar. Nesse ambiente a dispersão dos propágulos fúngicos pode estar atrelada a atividades humanas, condições ambientais e especiais como: ventilação, temperatura, umidade relativa do ar, condições favoráveis como poeira, sujeiras e qualquer outro tipo de substrato orgânico pode servir para o aumento do crescimento fúngico (DINIZ-MARTINS *et al.*, 2005; MORETTI, 2007).

Frente às contagens fúngicas com os setores específicos do hospital, constatou-se que a análise da UTI tem similaridade quantitativa com a Recepção Eletiva,

em segundo plano. A Enfermaria de Transplante encontra-se com uma distribuição semelhante em número de UFC.m^{-3} da Recepção Emergência, conforme verificado na Figura 31.

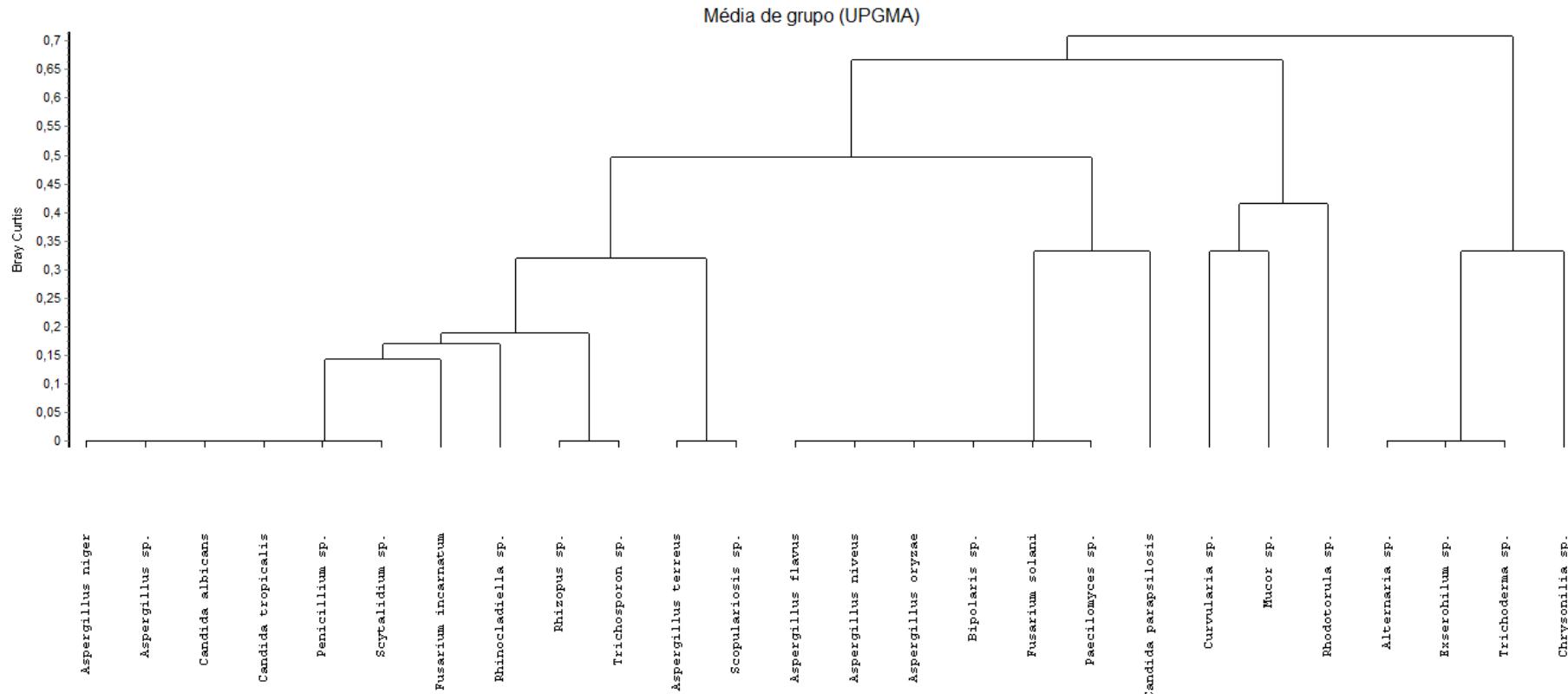
Figura 31 – Dendograma de similaridade frente a análise quantitativa (UFC.m^{-3}) das amostras fúngicas. Os números do eixo y indicam o índice de Bray-Curtis e no eixo x os setores específicos do hospital terciário do município de Fortaleza, CE.



Legenda: 1 (UTI), 2 (Enfermaria de Transplantes), 3 (Recepção Emergência), 4 (Recepção Eletiva).
Fonte: Elaborado pela autora (2016).

A respeito da composição do espectro de fungos anemófilos, foram identificados 17 gêneros e 10 espécies, formados predominantemente por fungos hialinos, com destaque para o gênero *Aspergillus*, tendo sido descritas seis espécies distintas do mesmo em diferentes setores (*A. flavus*, *A. niger*, *A. niveus*, *A. oryzae*, *A. terreus*, *Aspergillus* sp.). Os registrados comuns a todos os setores foram *Aspergillus* sp., *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *Penicillium* sp., e *Scytalidium* sp. Os demais achados foram disponibilizados na Figura 32.

Figura 32 – Dendograma de similaridade entre os achados fúngicos presentes nos setores específicos do hospital terciário do município de Fortaleza, CE. Os números do eixo y indicam o índice de Bray-Curtis e no eixo x os achados fúngicos.



Fonte: Elaborado pela autora (2016).

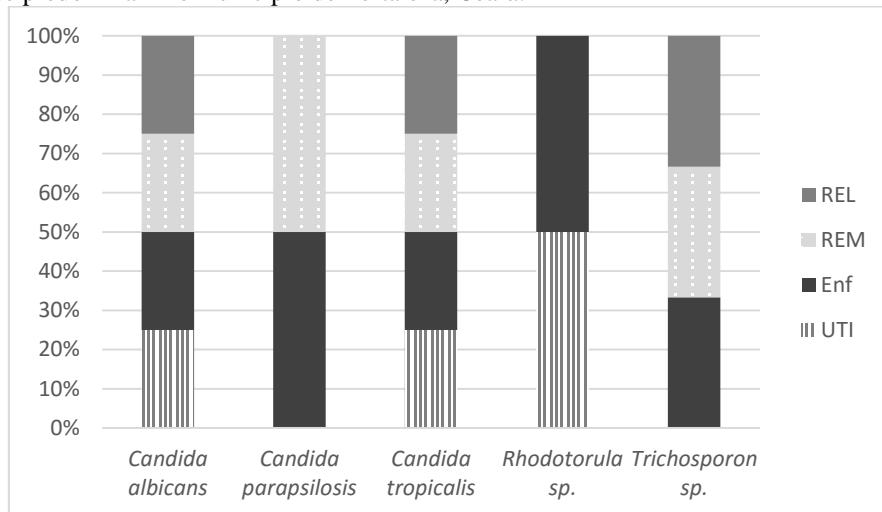
Os zigomicetos detectados foram os gêneros *Rhizopus* sp. (presentes em todos os setores, menos UTI) e *Mucor* sp. (presente na Enfermaria de Transplante e Recepção Eletiva). Os mesmos despontam como importantes agentes de infecções oportunistas. Eles são caracterizados por apresentarem micélio não septado (hifas cenocíticas) e estarem principalmente associados com cetoacidose diabética, neutropenia, hematologias malignas, sendo de alto risco para recém-nascidos e pacientes com trauma (DINIZ-MARTINS *et al.*, 2005; MUÑOZ *et al.*, 2015).

No presente estudo, leveduras dos gêneros *Candida* sp., *Trichosporon* sp. e *Rhodotorula* sp. também foram detectadas (Figura 33), especial atenção ao gênero *Candida*, tendo sido possível identificar três espécies (*C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*). Dados que corroboram estudos anteriores, com presença dos gêneros *Candida*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus* and *Trichosporon* no ar (PINI *et al.*, 2005; WANG; WU; HSUEH, 2005). Todos os gêneros mencionados têm sido descritos como potenciais agentes patogênicos humanos, especialmente do gênero *Candida*, que é o principal agente causador de fungemia hospitalar (MORETTI, 2007; MUÑOZ *et al.*, 2015).

Os dados da presente tese comprovam estudo realizado por Cordeiro e colaboradores (2010) que observaram considerável diversidade de leveduras em dois hospitais do município de Fortaleza, Ceará. Os mesmos isolaram 80 cepas de leveduras de áreas críticas e semi-críticas, tais como, *Candida parapsilosis* (n = 34), *Rhodotorula* sp. (n = 19), *Trichosporon asahii* (n = 11), *C. tropicalis* (n = 8), *C. albicans* (n = 4), *C. glabrata* (n = 1), *C. guilliermondii* (n = 1), *C. krusei* (n = 1) e *Saccharomyces* sp. (n = 1).

Ao analisar o principal achado dentre as leveduras, para a tese, foram a *Candida albicans* e *C. tropicalis*, enquanto, para Cordeiro e colaboradores (2010) foi a *Candida parapsilosis*, existindo discordância. Mas, mesmo assim, considerando a presença desses micro-organismos com potencial patogênico dentro do ambiente hospitalar, tornam o monitoramento do ar essencial para ajudar a prevenir infecções hospitalares.

Figura 33 – Isolamento de leveduras em diferentes áreas do ambiente hospitalar, durante as estações seca e chuvosa que predominam no município de Fortaleza, Ceará.



Legenda: UTI (Unidade de Terapia Intensiva), Enf (Enfermaria de Transplantes), REM (Recepção Emergência), REL (Recepção Eletiva). Fonte: Elaborado pela autora (2016).

5.5 Comparação entre COVFs e amostras fúngicas

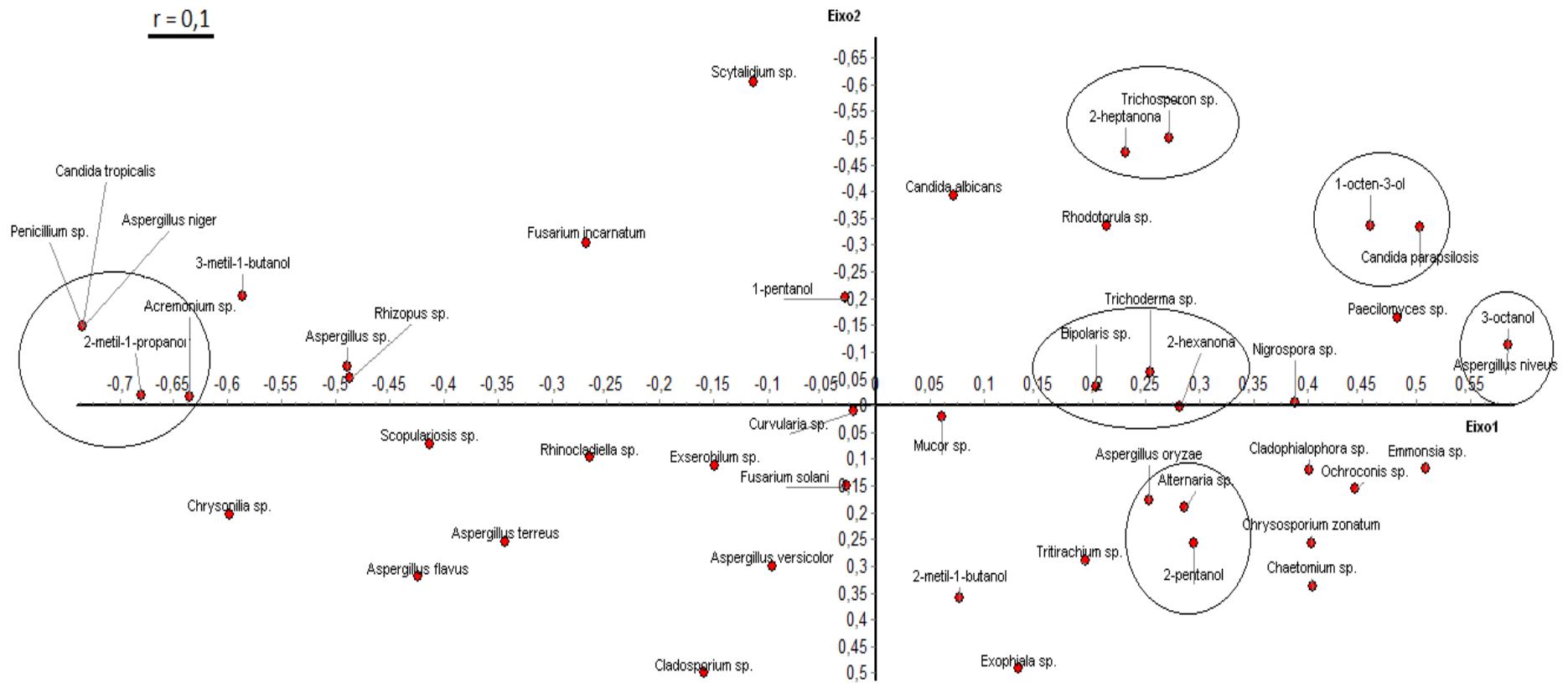
Visando estabelecer uma linha comparativa entre os COVFs e as amostras fúngicas presentes na pesquisa em todos os ambientes analisados, optou-se pela Análise de Coordenadas Principais, uma técnica para a análise de dados de similaridade entre um conjunto de objetos, sujeitos ou estímulos utilizados para produzir uma representação espacial dos mesmos (HÄRDLE; SIMAR, 2007).

Nesse sentido, foi aplicada essa análise frente aos COVFs e amostras fúngicas e obteve-se a Figura 34. Através dela foi constatada a presença de seis grupos de similaridade entre fungos e compostos. Por exemplo, o primeiro agrupamento envolve o composto 2-metil-1-propanol, esse tem uma distribuição espacial semelhante aos fungos *Acremonium* sp., *Aspergillus niger*, *Candida tropicalis* e *Penicillium* sp., devido ao fato de apresentarem um raio de distribuição próximo ($r \leq 0,1$). Esse tipo de consideração pode vir a auxiliar um gestor, pois ao encontrar um dos achados, os demais têm forte probabilidade de também estarem presentes. Isso serve para aprofundar o conhecimento na área de monitoramento do ar.

Essa relação do 2-metil-1-propanol com alguns achados fúngicos já foi observada por Colman e colaboradores (2011) no ar de áreas urbanas e industriais em Buenos Aires, Argentina. Os autores afirmaram existir uma forte relação de sua presença com o metabolismo da espécie *Aspergillus niger* e os gêneros *Penicillium* e *Cladosporium*. Também, com base na publicação de Sunesson e colaboradores (1996),

foram relatados os gêneros *Penicillium* e *Paecilomyces* como produtores do composto citado.

Figura 34 - Análise das Coordenadas Principais (PCO) para COVs e amostras fúngicas.



Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Frente a 2-heptanona, observou-se uma distribuição espacial semelhante a achados de leveduras (em especial o gênero *Trichosporon* sp.), bem como, deve ser salientado que esse grupo também está próximo de outras leveduras, como *Candida albicans* e *Rhodototula* sp., logo, esse composto deve ter relação com alguma via metabólica de escolha das leveduras e/ou dos fungos filamentosos. Esse composto já foi relatado como metabólito do gênero *Penicillium* sp., sendo responsável pelo odor de queijo embolorado, sendo abundante no queijo Roquefort e no queijo Bleu d'Áuvergne (BJURMAN; NORDSTRAND; KRISTENSSON, 1997), bem como, já foi relatada sua produção dentro de prédios que usam a madeira do tipo pinho associada com o gênero *Penicillium* sp., podendo esse vir a atuar como um marcador para crescimento de fungos em edifícios.

Entretanto, ainda buscando a relação do 2-heptanona com as leveduras, foi publicado por Hertel e colaboradores (2016) a produção desse composto por *Candida krusei*. Nesse estudo, o objetivo era distinguir os perfis de COVs dos quatro patógenos mais frequentes encontrados em pacientes com candidíase oral, visando desenvolver um teste de respiração para o diagnóstico rápido.

Para os próximos agrupamentos, observou-se proximidade entre o composto 1-octen-3-ol com a espécie *Candida parapsilosis* e o 3-octanol com a espécie *Aspergillus niveus*. Com base na literatura esses compostos têm forte relação com as espécies *A. flavus* e *A. niger* (CHITARRA *et al.*, 2004). Para Nemcovic e colaboradores (2008), os compostos 1-octen-3-ol e 3-octanol são produzidos quando o fungo está em processo de conidiogênese. Entretanto, o 1-octen-3-ol em altas concentrações pode atuar como um inibidor da germinação fúngica, sendo considerado um problema para qualidade do ar de edifícios, pois com 2 horas de exposição é capaz de causar irritação nos olhos, nariz e garganta de seres humanos (DESHMUKH *et al.*, 2016).

O 2-hexanona apresentou proximidade ($r \leq 1$) com os gêneros *Trichoderma* sp. e *Bipolaris* sp., bem como, o 2-pentanol mostrou-se perto do *A. orizae* e *Alternaria* sp. Em ambos os grupos tem-se um representante hialino e um demáceo, respectivamente. Com base em relato da literatura, o 2-hexanona já foi relacionado com o *Aspergillus fumigatus* (NEERINCX *et al.*, 2016). Bem como, o mesmo é responsável por liberar no ambiente odor frutado e/ou floral (BJURMAN; NORDSTRAND; KRISTENSSON, 1997).

A relação com o 2-pentanol e o gênero *Aspergillus* já foi observada por Gao e colaboradores (2014). Eles afirmaram que esse composto pode ser utilizado para prever

a presença de espécies de *Aspergillus* no ambiente, em especial, *A. fumigatus*, *A. versicolor*, *A. sydowi*, *A. flavus* e *A. niger*.

Houve busca na literatura da relação desses compostos (2-hexanona e 2-pentanol) com fungos demáios, mas nada foi encontrado para embasar esses achados. Assim, mais estudos devem ser direcionados frente à produção de COVFs pelos demáceos.

Em linhas gerais, os achados da presente tese corroboram a revisão de literatura dos autores Korpi, Jarnberg e Pasanen (2009), os quais reuniram 96 compostos orgânicos voláteis microbianos e focaram a pesquisa em 15 COVFs, os mais frequentemente analisados e relatados em edifícios com umidade e danos microbianos, a saber: 2-metil-1-propanol, 3-metil-1-butanol, 3-metil-2-butanol, 2-pentanol, 3-octanol, 1-octen-3-ol, 2-octen-3-ol, 3-metilfurano, 2-hexanona, 2-heptanona, 3-octanona, 2-metilisoborneol, 2-isopropil-3-metoxipirazina, geosmina e dimetil dissulfeto, sendo seus efeitos para a saúde mais relatados a exposição e a irritação dos olhos e das vias aéreas superiores.

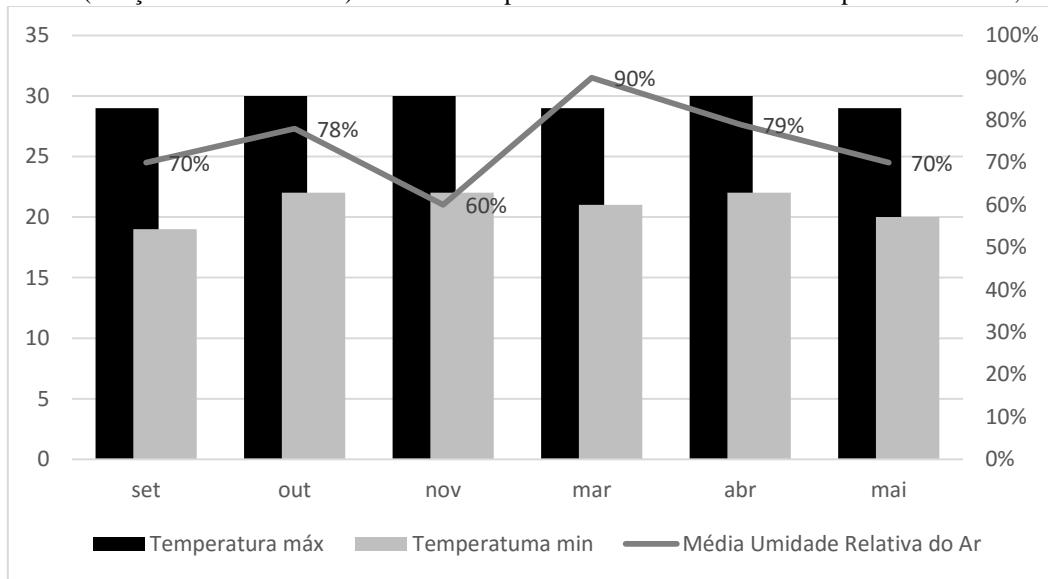
Nesse sentido, destaca-se que os monitoramentos são fundamentais para que relações sejam estabelecidas entre os COVFs e espécies e/ou gêneros fúngicos, mas ressalta-se que muitas varáveis devem ser consideradas, por exemplo, os COVFs são produzidas em diferentes períodos do ciclo de crescimento de fungos. Conforme afirmam Korpi, Jarnberg e Pasanen (2009), de mais de 200 compostos identificados como compostos orgânicos voláteis microbianos em experiências de laboratório, nenhum deles pode ser considerado como sendo exclusivamente de origem microbiana ou tão específicos para certas espécies microbianas, mas os experimentos e monitoramentos devem ser traçados cada vez com mais critério para que se possa ter certezas frente a participação dos micro-organismos.

5.6 Análise das Condições Climáticas

No tocante às condições climáticas, o período de coleta foi distribuído entre as duas estações climáticas que predominam no Estado do Ceará, a estação seca, que foi representada pelos meses de setembro a novembro de 2014, e a estação chuvosa, representada pelos meses de março a maio de 2015.

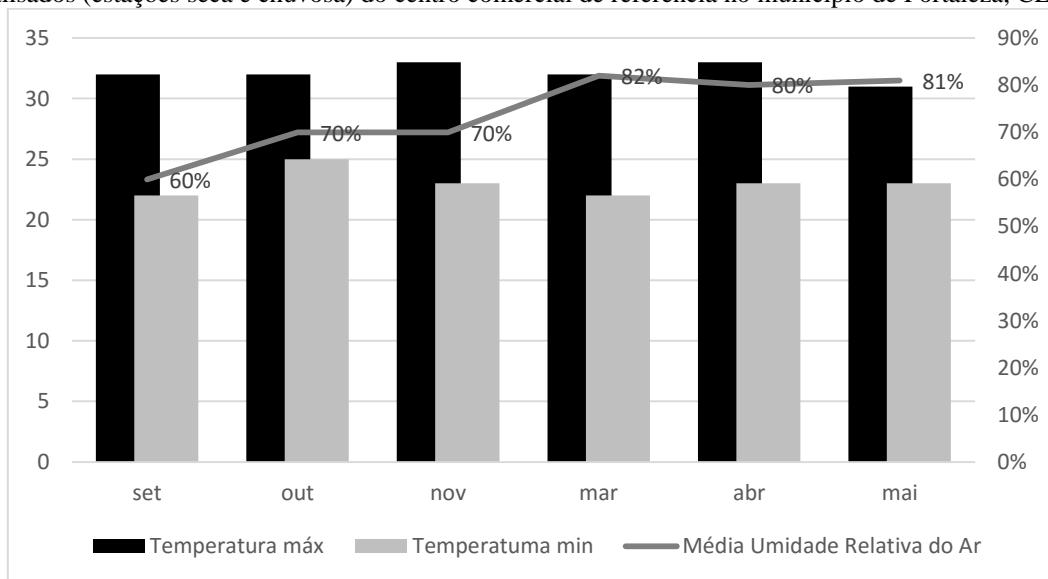
Devido às especificidades dos ambientes, foram catalogados os dados de temperatura máxima, temperatura mínima e umidade relativa do ar para cada um dos ambientes analisados (Figuras 35, 36 e 37). As datas de coleta eram escolhidas aleatoriamente, mas respeitou-se o seguinte critério: as coletas da biblioteca ocorriam nos 5 primeiros dias do mês, o centro comercial por volta do 15º do mês e o hospital nos últimos dias do mês.

Figura 35 – Temperaturas máximas, temperaturas mínimas e umidade relativa do ar, durante os períodos analisados (estações seca e chuvosa) da biblioteca pública de referência no município de Fortaleza, CE.



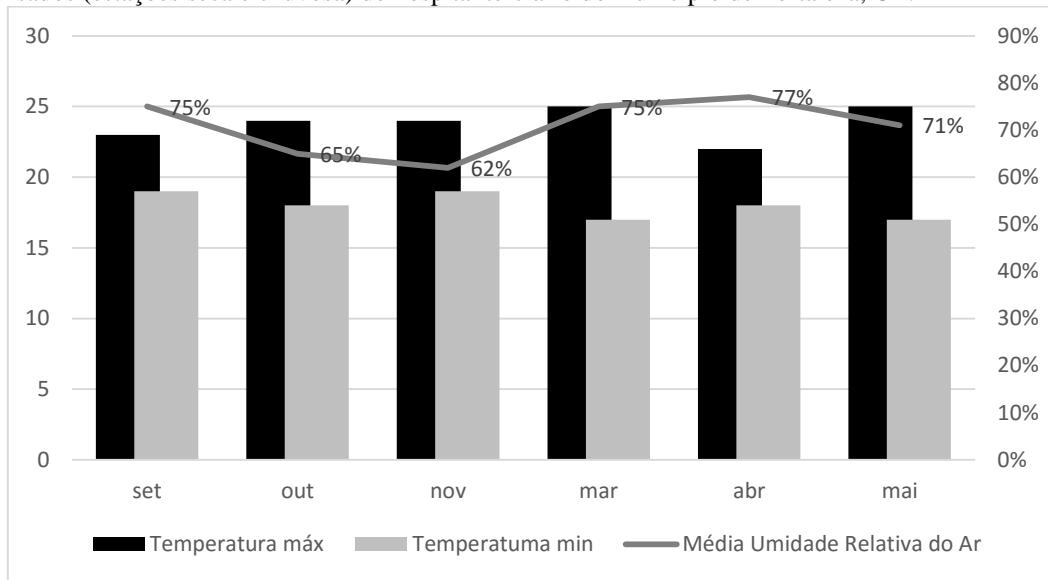
Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Figura 36 – Temperaturas máximas, temperaturas mínimas e umidade relativa do ar, durante os períodos analisados (estações seca e chuvosa) do centro comercial de referência no município de Fortaleza, CE.



Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Figura 37 – Temperaturas máximas, temperaturas mínimas e umidade relativa do ar, durante os períodos analisados (estações seca e chuvosa) do hospital terciário do município de Fortaleza, CE.



Fonte: Elaborado pela autora (2016).

A literatura afirma que as variáveis temperatura e umidade são determinantes para a qualidade do ar. Por exemplo, na presente tese, os dados da umidade dentro da biblioteca variaram entre 60 a 90%. Segundo pesquisadores na área de conservação, pode-se afirmar que o crescimento dos fungos comumente encontrados em museus e bibliotecas acontece com maior intensidade quando a umidade relativa do ar é superior a 65%, bem como as boas práticas de higiene e manutenção do ambiente e do acervo da biblioteca são imprescindíveis para a boa qualidade do ar e para evitar deterioração das obras (GUTHS *et al.*, 2002).

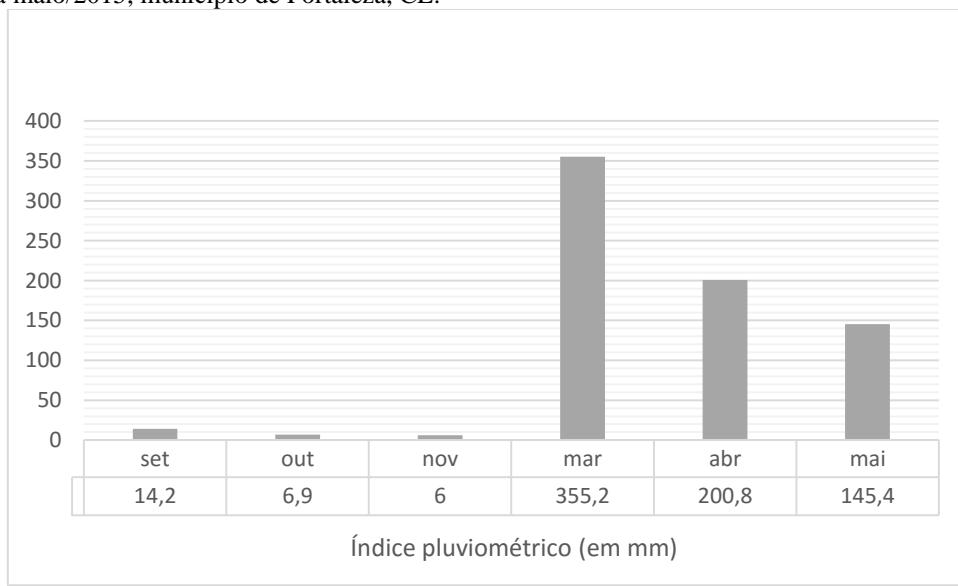
O ambiente hospitalar foi o que apresentou menor variação da umidade relativa do ar e as mais baixas temperaturas, bem como, a média também não teve um grande intervalo entre a máxima e a mínima, o que é esperado, devido ao controle que se deve ter em áreas críticas e semicríticas pelas Comissões de Infecção Hospitalar (SOUZA, 2014). Esses dados também corroboram as falas dos trabalhadores desse ambiente, 64% dos laborais desse hospital consideram boas as condições de temperatura/umidade. Essas variáveis devem ser rotineiramente monitoradas, pois, por exemplo, com base em Souza e colaboradores (2016), dentro os fatores físicos que podem acarretar doenças ocupacionais dos trabalhadores de limpeza em ambiente hospitalar, a temperatura, umidade e desgaste físico devem ser destacados.

No tocante especificamente às temperaturas, destaca-se o centro comercial, exatamente por apresentar climatização natural. Esse encontra-se à disposição das oscilações da região onde está inserido, logo, o laboral está em um ambiente com altas temperaturas; em alguns dias de coleta a temperatura ambiente estava a 33 °C. O que foi relatado quando os mesmos foram questionados a respeito das condições de temperatura e umidade do ambiente em que estão inseridos, pois apenas 9% classificaram como boa e 91% a avaliaram como ruim.

Entretanto, para Simon, Friedrich e Vieira (2015), o uso da ventilação natural pode trazer importantes benefícios aos usuários, sendo uma das estratégias bioclimáticas mais comuns para renovação do ar (CUNHA, 2010), contribuindo com a qualidade do ar em ambientes internos, em especial, com redução de custos com o consumo de energia ao minimizar o uso do aparelho de ar condicionado. Mas, esse lado benéfico não foi constatado na presente tese, pois o centro comercial apresentou a maior média (2.407 UFC/m³) frente as amostras fúngicas e considerável diversidade de COVFs. Logo, se faz necessário uma arquitetura mais confortável termicamente e mais apropriada ao clima local, visto que se tratando da ventilação natural, cada caso é único (COSTA, 2009).

Junto as essas variáveis ambientais, os dados do monitoramento do índice pluviométrico também foram catalogados, fornecidos pela Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos – FUNCEME, havendo a média para estação seca de 9,03 mm e para a estação chuvosa de 233,8 mm (Figura 38).

Figura 38 – Índice pluviométrico (em milímetros) distribuídos nos meses de setembro a novembro/2014 e março a maio/2015, município de Fortaleza, CE.



Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Ao analisar os COVFs e sua distribuição por estações climáticas, os dados foram disponibilizados na Tabela 16, onde foi possível descrever os aspectos climáticos catalogados por composto e sua relação estatística.

Tabela 16 – Distribuição dos COVs pormédia ($\mu\text{g}/\text{m}^3$), desvio padrão, faixa de temperatura (máxima e mínima), umidade relativa do ar (%), precipitação atmosférica (mm) durante as estações seca e chuvosa para a biblioteca, centro comercial e hospital do município de Fortaleza, CE.

Estação Climática	Composto	Média ± DP	Aspectos Climáticos			Coeficiente de Correlação de Pearson	Valor p
			T (°C)	Umidade	Precipitação Atmosférica		
Estação Seca	2-metil-1-propanol	76,93 ± 42,05	33-19	69%	9 mm	-0,071551556	0,43313235 ^{ns}
	2-pentanol	4,66 ± 1,17					
	3-metil-1-butanol	20,17 ± 7,03					
	2-metil-1-butanol	12,66 ± 14,16					
	1-pentanol	10,1 ± 6,83					
	2-hexanona	6,91 ± 2,23					
	2-heptanona	24,81 ± 21,36					
	1-octen-3-ol	21,35 ± 3,69					
	3-octanol	15,22 ± 2,10					
Estação Chuvosa	2-metil-1-propanol	135,8 ± 60,22	32-17	80%	233,8 mm		
	2-pentanol	5,24 ± 1,13					
	3-metil-1-butanol	24,56 ± 11,95					
	2-metil-1-butanol	18,96 ± 14,95					
	1-pentanol	21,52 ± 15,37					
	2-hexanona	3,92 ± 1,75					
	2-heptanona	201,4 ± 35,28					

Legenda: ns não significativo ($p \geq 0,05$). Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Dentre as 88 amostras positivas, para a estação seca foram catalogadas 50 amostras positivas para COVFs, bem como a maior diversidade também foi encontrada nesse período. Os 9 compostos monitorados estavam presentes, enquanto na estação chuvosa foram apenas 38 amostras positivas e apenas 7 compostos monitorados. Apesar dessas diferenças, o valor de p foi $\geq 0,05$, mostrando-se não significativo, logo, com base nos dados catalogados, não existem diferenças entre a distribuição dos compostos e a sazonalidade da região. Resultados não corroborados por trabalho dos autores Wang, Ang e Tade (2007), pois os mesmos afirmam que fatores como estação do ano, temperatura e umidade relativa alteram as concentrações de COVFs.

Buscou-se também analisar o quantitativo em UFC.m^{-3} e sua distribuição por estações climáticas. Utilizou-se o teste T Student para amostras pareadas, e os dados estão disponibilizados na Tabela 17, sendo observado diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre a distribuição e quantificação fúngica em relação à sazonalidade.

Tabela 17 - Distribuição e quantificação fúngica em relação à sazonalidade, com destaque para a média em UFC.m^{-3} , a faixa de temperatura (máxima e mínima), umidade relativa do ar (%), precipitação atmosférica (mm) durante as estações seca e chuvosa para a biblioteca, centro comercial e hospital do município de Fortaleza, CE.

Dados climáticos	Estação Seca	Estação Chuvosa	Coeficiente de Correlação de Pearson	Valor p
Média em UFC.m^{-3}	986,1	2.777,8		
Temperatura (°C)	33-19	32-17		
Umidade (%)	69%	80%	0,883855294	0,00014*
Precipitação Atmosférica (mm)	9,03 mm	233,8 mm		

Legenda: * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$). Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Dados que se assemelham a outros estudos que apontaram existir relação direta entre a contagem das colônias fúngicas com a sazonalidade da região (MADELIN, 1994; TERESA; PONSONI; RADDI, 2001; SOLOMON *et al.*, 2006). Entretanto, não corroboram a trabalhos como Pantoja (2007), Pantoja, Couto e Paixão (2007), Pantoja e colaboradores (2012), que não observaram interferência do quantitativo fúngico e as condições climáticas da região cearense.

6 CONCLUSÕES

Os resultados catalogados por esta pesquisa devem ser ponderados como indicativos e não conclusivos, pois um monitoramento periódico se faz necessário para que os COVFs e sua relação com os fungos passem a se tornar mais um parâmetro norteador e a ser contemplado em legislação nacional. Os dados aqui expostos são indicativos para novas pesquisas, visando o bem-estar do laboral frente aos diferentes ambientes pesquisados.

Com base nos resultados e discussão reportados acima, alguns aspectos devem ser destacados, a saber:

- Com os questionários foi possível demonstrar a fragilidade do conhecimento dos trabalhadores sobre a qualidade do ar, pois elevada percentagem dos analisados demonstrou falta de conhecimento sobre a Síndrome do Edifício Doente, apontando a necessidade de comunicação dessa realidade ao gestor para reduzir tal desconhecimento;
- Foi possível otimizar e avaliar os parâmetros de coleta e análise dos bioaerossos (achados fúngicos) e COVFs, sendo estabelecido protocolos de coleta e identificação;
- Constatou-se que dos 10 COVFs monitorados, 09 foram detectados em pelo menos um dos setores analisados; apenas o 3-octanona não foi observado;
- No tocante ao quantitativo dos COVFs monitorados, destacou-se a 2-heptanona (média de concentração = $179 \mu\text{g}/\text{m}^3$), seguido do 2-metil-1-propanol (média de concentração = $86 \mu\text{g}/\text{m}^3$);
- Ao mapear a diversidade dos COVFs, observou-se o ambiente hospitalar como mais crítico, seguido da biblioteca e centro comercial;
- Frente à amostragem fúngica, o maior quantitativo se deve ao Centro Comercial, seguido da Biblioteca e Hospital;
- Em relação aos achados taxonômicos, a biblioteca despontou, seguida do Centro Comercial e o Hospital, formado predominantemente por filamentosos hialinos;
- Ao analisar as condições climáticas (estações seca e chuvosa) frente aos achados catalogados, não se constatou existirem diferenças entre a distribuição dos compostos e a sazonalidade, logo, o clima da região não interfere na distribuição dos COVFs. Entretanto, observou-se diferença significativa entre a distribuição e

quantificação fúngica em relação à sazonalidade, logo, as amostras fúngicas sofreram influência climática.

- Por fim, foi possível estimar uma linha comparativa através de seis grupos de similaridade entre os COVFs e as amostras fúngicas presentes nos ambientes ocupacionais, servindo de comparativo para futuras pesquisas.

7 RECOMENDAÇÕES

Com base no monitoramento realizado, os gestores dos ambientes podem fazer uso de técnicas específicas, com utilização de substâncias fungicidas borrifadas ou vaporizadas, instalação de lâmpadas germicidas, disposição de filtros e/ou técnicas gerais, como remoção da poeira, eliminar outros poluentes, manter temperaturas e umidade relativa do ar dentro da faixa de conforto do laboral, manutenções periódicas do aparelho de ar condicionado (quando presente), entre outras.

As possibilidades citadas acima dependerão das especificidades de cada ambiente e setor específico, logo, cada gestor dos ambientes pesquisados deverão receber um relatório técnico contendo a catalogação dos dados e possíveis soluções para cada problema reportado. Assim, sendo possível manter a integridade dos espaços e seus usuários.

As seguintes recomendações podem ser feitas, a saber:

- Os resultados provenientes dos questionários serão explicados aos gestores, visando serem construídas ações de saúde ambientalmente coerentes e eficazes, tais como: propor minicursos e/ou palestras sobre a Síndrome do Edifício Doente e a relação do laboral com sua qualidade do ar, visando que os trabalhadores atuem como coparticipantes na busca por uma melhor qualidade do ar interno;
- É necessário dar continuidade com estudos bem delineados sobre a relação entre poluição do ar e saúde do trabalhador, sendo, dessa maneira, possível garantir uma melhor qualidade na informação que será utilizada pelos gestores, contribuindo para o gerenciamento e implementação de novas políticas;
- As condições climáticas (estações seca e chuvosa) e suas relações com os achados COVFs e as amostras fúngicas, devem ser analisados em outros períodos, podendo ser ponderadas de caráter mais apurado.
- Proceder uma análise mais acurada da diversidade micológica presente nos ambientes, através de técnicas de biologia molecular, para que se possa relacionar de forma precisa os táxons presentes;

Por fim, espera-se que os dados catalogados e analisados venham a contribuir para estimar, num futuro próximo, recomendações para os diferentes tipos de espaços laborais, bem como, deixar os dados a disposição de pesquisas futuras, visando

colaborar para uma futura legislação nacional baseada em COVFs e amostras fúngicas.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, L. S. **Estudo da relação da qualidade do ar e variáveis meteorológicas na ocorrência de morbidade respiratória e circulatória na região metropolitana de São Paulo.** 2015. 105 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2015.
- ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLAKWEL, L. **Introductory mycology.** 4. ed. New York: John Wiley e Sons, 1996. 869 p.
- ALVES, K. M. S.; ALVES, A. E. L.; SILVA, F. M. Poluição do ar e saúde nos principais centros comerciais da cidade de Natal/RN. **Holos.**, v. 4, n. 25, 2009.
- ANDRADE, D. F. R.; SILVA, H. M. G.; CARVALHO, V. M.; SOUSA, M. A. S de; NUNES, M. R. C. M.; FREITAS, D. R. J. Microbiota fúngica no ar em unidades de terapia intensiva e centros cirúrgicos. **Rev. Pre. Infec e Saúde.**, v. 1, n. 1, p. 74-81, 2015.
- ANDREASI, W.; VERSAGE, R. S. **A Ventilação natural como estratégia visando proporcionar conforto térmico e eficiência energética no ambiente interno.** UFMS, 2007. Disponível em: <<http://www.dec.ufms.br/lade/docs/dt/rogerio.pdf>>. Acesso em: 5 abr. 2014.
- ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Resolução RE nº 899 de 29 de maio de 2003. Brasília, DF, 2003.
- AQS. **Air Quality Sciences.** Microbial Volatile Organic Compounds (MVOCs) Test. 2010. USA, 2010.
- APA. **Qualidade do Ar em Espaços Interiores - Um Guia Técnico.** Agência Portuguesa do Ambiente, Amadora. Amadora: Lisboa, 2010.
- ARAKI, A.; EITAKI, Y.; KAWAI, T.; KANAZAWA, A.; TAKEDA, M.; KISHI, R. Diffusive sampling and measurement of microbial volatile organic compounds in indoor air. **Indoor Air.**, v. 19, p. 421-432, 2009.
- ASHRAE, Technical Committee. American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers. **Applications volume of the ASHRAE Handbook.** New York: [s. n.], 1992.
- AZEVEDO, J. L. Genética e melhoramento de fungos. **Biotecnologia – Ciência e Desenvolvimento**, Uberlândia, v. 1, n. 1, p. 12-15, 1997.
- BAE, T. W.; LEE, J.; CHO, Y. G.; KIM, D. S.; CHOI, S. I.; LEE, H. S. Sepsis due to *rhodotorula mucilaginosa* in a patient with advanced non-small cell lung cancer. **Lab. Med. Online.**, v. 6, n. 2, p. 102-105, 2016.
- BASTOS, J. E. **Requisitos para a garantia de qualidade do ar em ambientes climatizados – enfoque em ambientes hospitalares.** 2005. 110 f. Monografia

(Especialização em Engenharia de Segurança do Trabalho). Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, 2005.

BECK-SAGUE, C.; JARVIS, W. R. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. National Nosocomial Infections Surveillance System. **J. Infect. Dis.**, v.167, n.5, p.1247-51,1993.

BELLUSCI, S. M. **Doenças profissionais ou do trabalho**. 10. ed. São Paulo: Editora SENAC, 1996.

BELLUSCI, S. M. **Envelhecimento e condições de trabalho em servidores de uma instituição judiciária**: Tribunal Regional Federal da 3^a Região. 1998. 110 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Faculdade de Saúde Pública, USP, São Paulo, 1998.

BETTINI, D. R. **Qualidade do Ar em Laboratório Climatizado de Anatomia Patológica**. Avaliação de Agentes Químicos: Faculdade de Ciências Médicas da UERJ. 2006. 155 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, UERJ, 2006.

BIEVRE, C. Cours de Mycologie Médicale – Aerobiologie. **Centre d’Ensiegnelement, Institut Pasteur**, 1998.

BITTENCOURT, A. L.; MACHADO, P. R. L.; ARAÚJO, M. G. S. Subcutaneous phaeohyphomycosis caused by *Cyphellophora pluriseptata*. **European Journal of Dermatology**, v. 12, p. 103-106, 2002.

BJURMAN, J.; NORDSTRAND, E.; KRISTENSSON, J. Growth-phase-related production of potential volatile-organic tracer compounds by moulds on wood. **Indoor Air.**, v. 7, n. 1, p. 2-7, 1997.

BORGES, A. **Curso de formação em Qualidade do Ar Interior**: medição, modelação, avaliação, tratamento e validação de dados. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Portugal. 2012.

BRASIL. Decreto-Lei n.^o 118/2013 de 20 de agosto de 2013. **Ministério da Economia e do Emprego**. 2013.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Portaria Nº 3.523, de 28 de agosto de 1998.

BRASIL. **Ministério Da Saúde**. Resolução n. 176, 24 de outubro de 2000. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Orientação técnica sobre padrões referenciais de qualidade do ar interior em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo. Brasília. 2000.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE Nº 09, de 16 de janeiro de 2003. Determina a publicação de Orientação Técnica elaborada por Grupo Técnico Assessor, sobre Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior, em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução N° 382 de 26 de dezembro de 2006. Estabelece os limites máximos de emissão de poluentes atmosféricos para fontes fixas. 2006. p. 131.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução N° 436 de 26 de dezembro de 2011. Estabelece os limites máximos de emissão de poluentes atmosféricos para fontes fixas instaladas ou com pedido de licença de instalação anteriores a 02 de janeiro de 2007. 2011a. p. 304-311.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Guia de validação e controle de qualidade analítica: fármacos em produtos para alimentação e medicamentos veterinários / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS. 2011b. p. 72.

BRITO, E. H. S. Caracterização fenotípica e perfil de sensibilidade antifúngica de cepas de *Candida spp* e *Malassezia pachydermatis*, oriundas de cães. 2005. 85f. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, UECE, 2005.

BOGOMOLOVA,E.; KIRTSIDELI, I. Airborne fungi in four stations of the St. Petersburg Underground railway system. **International Biodeterioration and Biodegradation.**, v. 63, p. 156-160, 2009.

BORREGO, S.; GUIAMET, P.; GÓMEZ DE SARAVIA, S.; BATISTINI, P.; GARCÍA, M.; LAVIN, P.; PERDOMO, I. The quality of air at archives and the biodeterioration of photographs. **International Biodeterioration and Biodegradation.**, v. 64, p. 139-145, 2010.

BRICKUS, L. S. R.; AQUINO NETO, F. R. de A. A qualidade do ar de interiores e a química. **Quím. Nova**, v. 22, n. 1, p. 65-74, 1999.

BURGE, H. A. An update on pollen and fungal spore aerobiology. **J. Allergy and Clinical Immunology.**, v. 110, n. 4, p. 544-552, 2002.

CARTAXO, E. F.; GONÇALVES, A. C. L. C.; COSTA, F. R.; COELHO, I. M. V.; SANTOS, J. G. Aspectos de contaminação biológica em filtros de condicionadores de ar instalados em domicílios da cidade de Manaus – AM. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 2, p. 202-211, 2007.

CASTRO, K. D. Impactos da qualidade do espaço arquitetônico na produtividade do trabalhador. **Pretexto**, v. 8, n. 2, p. 23-38, 2007.

CASTRO, A. B.; SOUZA, I. T. C.; SANTOS, A. A. Atribuições do enfermeiro do trabalho na prevenção de riscos ocupacionais. **J. Health Sci. Inst.**, v. 28, n. 1, p. 5-7, 2010.

CAVALCANTI, P. M. P. S. **Modelo de gestão da qualidade do ar** – abordagem preventiva e corretiva. 2010. 252 f. Tese (Doutorado em Planejamento Energético) -

Programa de Pós-graduação em Planejamento Energético, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010.

CAVINATTO, V. M. **Influência de fatores ambientais na dispersão de partículas originadas em um sistema de tratamento biológico de esgotos em valos de oxidação.** 1991. 123 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade de São Paulo, 1991.

CENTENO, S.; MACHADO, S. Assessment of airbone mycoflora in critical areas of the principal hospital of Cumaná, state of Sucre, Venezuela. **Investigación Clínica**, v. 45, p. 137-144, 2004.

CHITARRA, G. S.; ABEE, T.; ROMBOUTS, F. M.; POSTHUMUS, M. A. Germination of *Penicillium paneum* conidia is regulated by 1-octen-3-ol, a volatile self-inhibitor. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 2823-2829, 2004.

CHOI, H.; SCHMIDBAUER, N.; BORNEHAG, C, G. Non-microbial sources of microbial volatile organic compounds. **Environmental Research**, v. 148, p. 127-136, 2016.

CHUI, Q. S. H.; ZUCCHINI, R. R.; LICHTIG, J. Qualidade de medições em química analítica. Estudo de caso: determinação de cádmio por espectrofotometria de absorção atômica com chama. **Quim. Nova**. v. 24, p. 374, 2001.

COELHO, H. A.; REZENDE, E. N. A. Responsabilidade civil ambiental na Inglaterra. **Revista do Direito UNISC**, Santa Cruz do Sul, n. 48, p. 167-186, 2016.

COLMAN, E.; MÜLLER, A.; LESPADE, P.; AGUILAR, M.; MATAMOROS, N.; SCHLINK, U.; MASSOLO, L.; PORTA, A. A Calidad del Aire (COVs, MCOVs y Mohos) en Áreas Urbanas e Industriales de la Región Capital de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. **Ciencia**, v. 6, n. 21, p. 81-95, 2011.

COLOMBO, A. L.; PADOVAN, A. C. B.; CHAVES, G. M. Current knowledge of *Trichosporon* spp. and trichosporonosis. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 24, n. 4, p. 682-686, 2011.

COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. **Rev. Soc.Bras. Med. Trop.**, v. 36, n. 5, p. 599-607, 2003.

CONAMA. **Conselho Nacional do Meio Ambiente**. Resolução N° 3, de 28 de junho de 1990. Publicada no DOU, de 22 de agosto de 1990, Seção 1, 1990. p. 15937-15939.

COOPER, M. S. **The increasing role of climate, hygiene, and aerobiology in allergy.** 2015. Disponível em:
<http://optometrytimes.modernmedicine.com/optometrytimes/news/increasing-role-climate-hygiene-and-aerobiology-allergy>. Acesso em: 21 fev. 2016.

CORDEIRO, R. A.; BRILHANTE, R. S. N.; PANTOJA, L. D. M.; MOREIRA FILHO, R. E.; VIEIRA, P. R. N.; ROCHA, M. F. G.; MONTEIRO, A. J.; SIDRIM, J. J. C.

Isolation of pathogenic yeasts in the air from hospital environments in the city of Fortaleza, northeast Brazil. **Braz J Infect Dis.**, v. 14, n. 1, p. 30-34, 2010.

COSTA, L. C. N. **Aproveitamento da ventilação natural nas habitações: um estudo de caso na cidade de Aracaju – SE.** 2009. 96 f. Dissertação (Mestrado em Arquitetura e Urbanismo) – Faculdade de Arquitetura e Urbanismo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

COSTA, M. F. B.; BRICKUS, L. S. R. The effect of ventilation systems on prevalence of symptoms associated with sick buildings in brazilian comercial establishment. **Archives of Environmental Health**, v. 55, p. 279-283, 2000.

COSTA, R. C.; FERNANDES, L. F. O.; LEMOS, A. J. H.; SILVA, R. R. Ocorrência de fungos filamentos em acervo da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás. **Rev. Patol. Trop.**, v. 37, n. 1, p. 65-69, 2008.

CRUZ, C. D. **Programa Genes: Análise multivariada e simulação.** Editora UFV: Viçosa (MG), 2006.

CUNHA, L. J. B. F. Análise de métodos para aplicação de ventilação natural em projetos de edificações em natal-RN. Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 2010. Disponível em:
<http://repositorio.ufrn.br/jspui/handle/123456789/12348>. Acesso em: 16 mai. 2014.

DANTAS, E. H. M. Ar condicionado: vilão ou aliado? Uma revisão crítica. **Rev. Brasindoor**, p. 4-18, 1998.

DANTAS, E. H. M.; RICARDI, I. Qualidade Total. **Revista Proteção**, p. 40, n. 98, ano XIII, 2000.

DEGOBBI, C. M.; GAMBALE, W. Síndrome dos Edifícios Doentes. **Microbiol.Foco**, v. 4, n. 2, p. 19-32, 2008.

DELGADO, J. A. **Responsabilidade Civil por Dano Moral Ambiental.** Informativo Jurídico da Biblioteca Ministro Oscar Saraiva, v.19, n.01, jan/jun.2008. Disponível em <http://www.stj.jus.br/publicacaoinstitutional/index.php/informativo/article/view/57/61>. Acesso em: 10 abr. 2015.

DESHMUKH, S. K.; MISRA, J. K.; TEWARI, J. P.; PAPP, T. **Fungi applications and management strategies.** US: CRC Press Taylor and Francis Group, 2016.

DINIZ-MARTINS, J. N.; SILVA, R. A. M.; MIRANDA, E. T.; MENDES-GIANNINI, M. J. S. Monitoramento de fungos anemófilos e de leveduras em unidade hospitalar. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 22-34, 2005.

EDUARD, W.; HEEDERIK, D. Methods for quantitative assessment of airborne levels of noninfectious microorganisms in highly contaminated work environments. **Am. Ind. Hyg. Assoc. J.**, v. 59, p. 113-127, 1998.

- EICKHOFF, T. C. Airborne Nosocomial Infection: a contemporary perspective. *Infect. Contr. and Hosp. Epidem.*, v. 15, n. 10, p. 663- 672, 1994.
- ESTHER JR, C. R.; PLONGLA, R.; KERR, A.; LIN, F-C.; GILLIGAN, P. Clinical outcomes in cystic fibrosis patients with *Trichosporon* respiratory infection. *Journal of Cystic Fibrosis*, In Press, 2016.
- FABIAN, W. P.; RAPONEM, T.; MILLER, S. L.; HERNANDEZ, M. T. Total and culturable airbone bacteria and fungi in arid region flood-damaged residences. *J. Aerosol Sci.*, v. 31, n. 1, p. 35-36, 2000.
- FANGER, P. O. Indoor air quality in the 21st century: Search for excellence. *Indoor Air*, v. 10, p. 68-73, 2000.
- FERNSTROM, A.; GOLDBLATT, M. Aerobiology and Its Role in the Transmission of Infectious Diseases. *Journal of Pathogens*, v. 2013, p. 1-13, 2012.
- FIEDLER, K.; SCHUTZ, E.; GEH, S. Detection of microbial volatile organic compounds (MVOCs) produced by moulds on various materials. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, v. 204 n. 2, p. 111-21. 2001.
- FISCHER, G.; MULLER, T.; SCHWALBE, R.; OSTROWSKI, R.; DOTT, W. Exposure to airborne fungi, MVOC and mycotoxins in bio-waste-handling facilities. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, v. 203, p. 97-104, 2000.
- FISCHER, G.; DOTT, W. Relevance of airbone fungi and their secondary metabolites for environment, occupational and indoor hygiene. *Arch. Microbiol.*, v. 179, p. 75-82, 2003.
- FLECK, M. P. A.; LEAL, O. F.; LOUZADA, S.; XAVIER, M.; CHACHAMOVICH, E.; VIEIRA, G.; SANTOS, L.; PINZON, V. Desenvolvimento da versão em português do instrumento de avaliação de qualidade de vida da OMS (WHOQOL-100). *Revista Brasileira de Psiquiatria*, São Paulo, v. 21, n. 1, 1999.
- FROTA, A. B. *Manual de conforto térmico: arquitetura e urbanismo*. 8. ed. São Paulo: Studio Nobel, 2014.
- GAO, M.; QIU, T.; JIA, R.; HAN, M.; SONG, Y.; WANG, X. Concentration and size distribution of viable bioaerosols during non-haze and haze days in Beijing. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, v. 11, p. 3675-3684, 2014.
- GARP. Associação Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas (GARP); **Manual de Resíduos de Pesticidas em Alimentos** (apostila). 1999.
- GIL, A. C. *Como elaborar projetos de pesquisa*. 4. ed. São Paulo: Atlas, 2007.
- GIODA, A.; AQUINO NETO, F. R. Considerações sobre estudos de ambientes industriais e não industriais no Brasil: uma abordagem comparativa. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 19, n. 5, p. 1389-1397, 2003.

GOMPERTZ, O. F.; GAMBALE, W.; PAULA, C. R.; CORREA, B. **Fungos e alergia.** In: TRABULSI, L. R. et al. *Microbiologia*. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 1999. p. 421-422.

GRANDI, M. S.; GUIMARÃES, L. B. M. Síndrome do Edifício Doente: o caso do edifício da justiça federal de primeira instância de Porto Alegre/RS. **Anais...** XIII Congresso Brasileiro de Ergonomia. Porto Alegre: RS, 2004.

GUO, P.; YOKOYAMA, K.; PIAO, F.; SAKAI, K.; KHALEQUZZAMAN, M.; KAMIJIMA, M.; NAKAJIMA, T.; KITAMURA, F. Sick Building Syndrome by Indoor Air Pollution in Dalian, China. **Int. J. Environ. Res. Public Health**. v. 10, p. 1489-1504, 2013.

GUIMARÃES JUNIOR, J. **Biossegurança e Controle de infecção cruzada em consultórios odontológicos**. São Paulo: Editora Santos, 2001. 129 p.

GUINEA, J.; PELAEZ, T.; RECIO, S.; TORRES-NARBONA, M.; BOUZA, E. In vitro antifungal activities of isavuconazole (BAL4815), voriconazole, and fluconazole against 1,007 isolates of zygomycete, *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium*, and *Scedosporium* species. **Antimicrob Agents Chemother.**, v. 52, p. 1396-1400, 2008.

GÜTHS, S.; KUSTER, S.; LORENZETTII, M. C.; SOUZA, L. A. C. Monitoring system and air supply system to preservation of collections. In: Congresso ABRACOR, 11., 2002, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro, [s.n.], 2002.

HARDLE, W.; SIMAR, L. **Applied Multivariate Statistical Analysis**. 2. ed. Berlin: Springer, 2007.

HARPER, M. Sorbent trapping of volatile organic compounds from air. **J. Chromatogr. A**, v. 855, p. 129–151, 2000.

HEIMANN, I.; BRIGHT, V. B.; MCLEOD, M. I.; POPOOLA, O. A. M.; STEWART, G. B.; JONES, R. L. Source attribution of air pollution by spatial scale separation using high spatial density networks of low cost air quality sensors, **Atmospheric Environment**, v. 113, p. 10-19, 2015.

HERTEL, M.; HARTWIG, S.; SCHUTTE, E.; GILLISSEN, B.; PREISSNER, R.; SCHMIDT-WESTHAUSEN, A. M.; PARIS, S.; KASTNER, I.; PREISSNER, S. Identification of signature volatiles to discriminate *Candida albicans*, *glabrata*, *krusei* and *tropicalis* using gas chromatography and mass spectrometry. **Mycoses**. v. 59, n. 2, p. 117-126, 2016.

HESS-KOSA, K. **Indoor quality: sampling methodologies**. Boca Raton: CRC Lewis Publishers, 2002. 320 p.

HIRIGOYEN, M-F. **Mal-estar no trabalho:** redefinindo o assédio moral. 3. ed. Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, 2006.

HOOG, G. S.; GUARRO, J.; GENÉ, J.; FILGUEIRAS, J. **Atlas of Clinical Fungi**. Delft: Centraalbureau voor Schimmelcultuur/Universitat Rovira i Virgili, 2. ed. 2000.

- HUANG, C-Y.; LEE, C-C.; LI, F-C.; MA, Y-E.; SU, H-J. J. The seasonal distribution of bioaerosols in municipal landfill sites: a 3-yr study. **Atmospheric Environment**, v. 36, p. 4385-4395, 2002.
- HUBER, L. **Validation of Analytical Methods**. Agilent Technologies: Germany, 2010.
- HUMPHREYS, H. Microbes in the air - When to count! (The role of air sampling in hospitals). **Journal Med. Microbiol.**, v. 37, p. 81- 82, 1992.
- INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial.** Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos. DOQ-CGCRE-008. 2003.
- INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial.** Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos. DOQ-CGCRE-008. Revisão 02. 2007.
- JEON, S. H. ; LEEM, J. H.; PARK, S. G.; LEE, B. J.; MOON, S. H. Association among working hours, occupational stress and presenteeism among wage workers : results from the second korean working conditions survey. **Ann. Occup. Environ. Med.**, v. 26, n. 1, p. 6-13, 2014.
- KAMINSKI, E.; STAWICKI, S.; WASOWICZ, E. Volatile flavour compounds produced by molds of *Aspergillus*, *Penicillium* and fungi imperfecti. **Appl. Microbiol.**, v. 27, p. 1001. 1974.
- KIM, J. L.; ELFMAN, L.; MI, Y.; WIESLANDER, G.; SMEDJE, G.; NORBACK, D. Indoor molds, bacteria, microbial volatile organic compounds and plasticizers in schools--associations with asthma and respiratory symptoms in pupils. **Indoor Air**, v. 17, n. 2, p. 153-163, 2007.
- KING, S.; PEARSON, C.; CASSAR, M. **Controle ambiental para instituições culturais**: planejamento adequado e uso de tecnologias alternativas. In: Mendes M, Silveira L, Beviláqua F, Baptista CAN (org.): Conservação: Conceitos e práticas. Rio de Janeiro: UFRJ, 2001. p. 41-64.
- KIVIRANTA, H.; TUOMAINEN, A.; REIMAN, M.; LAITINEN, S.; LIESIVUORI, J.; NEVALAINEN, A. Qualitative identification of volatile metabolites from two fungi and three bacteria species cultivated on two media. **Central European Journal of Public Health**. v. 6, p. 296-9, 1998.
- KONTOYIANNIS, D. P.; MICHAEL, S. L.; RUSSELL, E. L.; GEORGIOS, C.; HEALY, PEREGO, C.; SAFDAR, A.; KANTARJIAN, H.; CHAMPLIN, R.; WALSH, T. J.; RAAD, I. I. Zygomycosis in a Tertiary-Care Cancer Center in the Era of Aspergillus-Active Antifungal Therapy: A Case-Control Observational Study of 27 Recent Cases. **JID**, v.191, p. 1350-1360, 2005.

KORPI, A.; PASANEN, A-L.; PASANEN, P. Volatile compounds originating from mixed microbial cultures on building materials under various humidity conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, p. 2914-2019, 1998.

KORPI, A.; JARNBERG, J.; PASANEN, A.L. Microbial volatile organic compounds. **Crit. Rev. Toxicol.**, v. 39, p. 139-193, 2009.

KORPI, A.; PASANEN, A-L.; VIITANEN, H. Volatile metabolites of Serpula lacrymans, Coniophora puteana Poria placenta, Stachy-botrys chartarum and Chaetomium globosum. **Building and Environment**, v. 34, p. 205-211,1999.

KÜNZLI, N.; PEREZ, L.; RAPP, R. **Air quality and health**. European Respiratory Society, 2010.

KUSKE, M.; ROMAIN, A.; NICOLAS, J. Microbial volatile organic compounds as indicators of fungi. Can an electronic nose detect fungi in indoor environments? **Building and Environment**, v. 40, n. 6, p. 824-831,2005.

LACAZ, C. S. **Tratado de Micologia Médica – Lacaz**. São Paulo: Sarvier, 2002. 1104 p.

LANG-YONA, N.; SHUSTER-MEISELES, T.; MAZAR, Y.; YARDEN, O.; RUDICH, Y. Impact of urban air pollution on the allergenicity of Aspergillus fumigatus conidia: Outdoor exposure study supported by laboratory experiments. **Science of the Total Environment**, v. 541, p. 365-371, 2016.

LARSEN, T. O.; FRISVAD, J. **Production of volatiles and presence of mycotoxins in conidia of common indoor Penicillia and Aspergilli**. In: Flannigan, et al., editors. Health implications of fungi in indoor environments. Amsterdam: Elsevier; 1994. p. 251-279.

LEITE, F. **Validação em análise química**. 5. ed. Editora Átomo: Campinas, SP, 2008. 175 p.

LEE, B. U.; HONG, I. G.; LEE, D. E.; CHONG, E-S.; JUNG, J. H.; LEE, J. H.; KIM, H. J.; LEE, I-S. Bacterial Bioaerosol Concentrations in Public Restroom Environments. **Aerosol and Air Quality Research**, v. 12, p. 251–255, 2012.

LEUNG, M. E. H. S.; CHAN, A. Control and management of hospital indoor air quality. **Medical Science Monitor**, v. 12, n. 3, p. 17-23, 2006.

LI, Y; LEUNG, G. M.; TANG, J. W.; YANG, X.; CHAO, C. Y. H.; LIN, J. Z.; LU, J. W.; NIELSEN, P. V.; NIU, J.; QIAN, H.; SLEIGH, A.C.; SU, H.-J. J.; SUNDELL, J.; WONG, T. W.; YUEN, P. L. Role of ventilation in airborne transmission of infectious agents in the built environment – a multidisciplinary systematic review. **Indoor Air**, v. 17, p. 2–18, 2007.

LI, C-S; LIN, Y-C. Sampling Performance of Impactors for Fungal Spores and Yeast Cells. **Aerosol Science and Technology**, v. 31, p. 226-230, 1999.

LI, C.; KUO, Y. Airbone characterization of fungi indoors and outdoors. **J. Aerosol Sci.**, v. 23, p. 667-670, 1992.

LIMA, A. F. M.; MORORÓ, M. M. S. Avaliação da salubridade em espaços internos climatizados na cidade de Fortaleza, para a promoção de edificações saudáveis.

Anais...V Encontro Nacional e III Encontro Latino-Americano sobre Edificações e Comunidades Sustentáveis. Recife: Pernambuco, 2009.

LOPES, A. C. S. Adesão às precauções padrão pela equipe do atendimento pré-hospitalar móvel de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 6, 2008.

LOPES, O.G. Conforto térmico e qualidade do ar em ambientes. 2004. [online]. Disponível em: <<http://cursos.unisanta.br/mecanica/polari/ct-og.pdf>>. Acesso em: 13 mai. 2015.

LOPEZ-MARTINES, R.; MACOTELA, E.; MENDEZ-ROMERO, F. Estúdio de hongos atmosféricos em um médio hospitalario. **Gaceta Méd. de México**, v. 120, n. 11-12, p. 387-396, 1984.

LUGAUSKAS, A.; KRIKSTAPONIS, A. Microscopic fungi found in the libraries of Vilnius and factors affecting their development. **Indoor and Built. Environment**, n. 14. 2004.

LUKASZUK, C.; KRAJEWSKA-KULAK, E.; KRASZYNSKA, B.; GNIADEK, A.; CHADZOPULU, A.; THEODOSOPOULOU, E.; BOUSMOUKILIA, S.; TEROVITOU, C.; AMANATIDOU, A.; DANILIDIS, D.; ADRANIOTIS, J. Analysis of fungal air pollution using different samplers. **Prog. Health Sci.**, v. 1, n. 1, p. 34-42, 2011.

LUPETTI, A.; TAVANTI, A.; DAVINI, P.; GHELARDI, E.; CORSINI, V.; MERUSI, I.; BOLDRINI, A.; CAMPA, M.; SENESI, S. Horizontal transmission of *Candida parapsilosis* candidemia in a neonatal intensive care unit. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, p. 2363-2369, 2002.

MACHADO. R. A. **Avaliação de compostos orgânicos voláteis em ambientes interiores climatizados.** 2003. 110 f. Tese (Doutorado em Saúde Ambiental) - Departamento de Saúde Ambiental da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2003.

MADELIN, T. M. Fungal aerosols: A review. **J. Aerosol Sci.**, v. 25, n. 8, p. 1405-1412, 1994.

MAIN, C. E. Aerobiological, ecological and health linkages. **Environment International**, v. 29, n. 2/3, p. 347-349, 2003.

MANO, C. Prédios Doentes. **Revista Exame**. v. 720, n. 1, p. 12-18, 2000.

MASSOUDINEJAD, M. R.; BEHESHTI, S.; GHAJARI, A.; HEZARKHANI, N. Survey of Fungi Bioaerosols in ICU ward of Taleghani Hospital in Tehran by Petri-

dish trapping technique and Bioaerosol Sampler in 2013. **Journal of Safety Promotion and Injury Prevention**, v. 3, n. 3, 2015.

MATYSIK, S.; HERBARTH, O.; MUELLER, A. Determination of volatile metabolites originating from mould growth on wall paper and synthetic media. **J. Microbiol. Methods**, v. 75, n. 2, p. 182-187, 2008.

MATOS, J. L. **Qualidade do Ar Interior em Ambiente Hospitalar**: Identificação de Poluentes, Fontes e Estratégias para a Otimização dos Serviços de Saúde. 2014. 106 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente) – Universidade Nova de Lisboa, 2014.

MEDRANO, D. J. A.; BRILHANTE, R. S. N.; CORDEIRO, R. A.; ROCHA, M. F. G.; RABENHORST, S. H. B.; SIDRIM, J. J. C. Candidemia in a Brazilian hospital: the importance of *Candida parapsilosis*. **Rev. Inst. Med. Trop.**, São Paulo, v. 48, p. 17-20, 2006.

MENDES, A. C. Indoor Air Quality in Hospital Environments. 20th Congress of IFHE. **Anais...XXVI Seminário de IH**, Congresso Nacional, Barcelona. 2008.

MENETREZ, M.; FOARDE, K. Microbial volatile organic compound emission rates and exposure model. **Indoor and Built Environment**, v. 11, n. 4, p. 208-213, 2002.

MENEZES, E. A.; ALCANFOR, A. C.; CUNHA, F. A. Airborne fungi in the periodicals room of the library of health science of the University Federal of Ceará. **RBAC**, v. 38, n. 3, p. 155-158, 2006.

MENEZES, E. A.; TRINDADE, E. C. P.; COSTA, M. M.; FREIRE, C. C. F.; CAVALCANTE, M. de S.; CUNHA, F. A. Fungos anemófilos isolados na cidade de Fortaleza, Estado do Ceará, Brasil. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 46, n. 3, p. 133-137, 2004.

MILAN, E. P.; ZAROR, L. Leveduras: Identificação laboratorial. In: SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. cap. 9, p. 89-101.

MIMICA, L. M. J.; UEDA, S. M. Y.; MARTINO, M. D. V.; NAVARINI, A.; MARTINI, I. J. Diagnóstico de infecção por *Candida*: avaliação de testes de identificação e caracterização do perfil de susceptibilidade. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro, v. 45, n. 1, p. 17-23, 2009.

MILLER, E.W.; MILLER, M.R. **Contemporary World Issues** – Environmental Hazards: Air Pollution: a reference handbook. ABC-CLIO: Santa Barbara, California, 1989.

MORATH, S. U.; HUNG, R.; BENNETT, J. W. Fungal volatile organic compounds: a review with emphasis on their biotechnological potential. **Fungal Biology Reviews**, v. 26, p. 73-83, 2012.

IQBAL, M. A.; KIM, K-H.; SZULEJKO, J. E.; RAHMAN, M. M. The selection of the standard phase (gas vs. liquid) and the related matrix effect on the direct injection gas

chromatographic analysis of VOCs at sub–ppm levels. **Atmospheric Pollution Research.**, v. 5, p. 563-571, 2014.

MOREIRA, A. **Curso de Poluição Atmosférica na Indústria de Petróleo**. Rio de Janeiro, Universidade Corporativa da Petrobras, 2004.

MOSLEY, S. **The Chimney of the World: A History of Smoke Pollution in Victorian and Edwardian Manchester**. Cambridge: White Horse Press, 2001.

MOULARAT, S.; ROBINE, E.; RAMALHO, O.; OTURAN, M. A. Detection of fungal development in closed spaces through the determination of specific chemical targets. **Chemosphere**, v. 72, p. 224-232, 2008a.

MOULARAT, S.; ROBINE, E.; RAMALHO, O.; OTURAN, M. A. Detection of fungal development in a closed environment through the identification of specific VOC: demonstration of a specific VOC fingerprint for fungal development. **Science on the Total Environment**, v. 407, p. 139-146, 2008b.

MOULARAT, S.; HULIN, M.; ROBINE, E.; ANNESI-MAESANO, I.; CAILLAUD, D. Airborne fungal volatile organic compounds in rural and urban dwellings: detection of mould contamination in 94 homes determined by visual inspection and airborne fungal volatile organic compounds method. **Sci Total Environ.**, v. 409, p. 2005–9, 2011.

MORAIS, G. R.; SILVA, M. A.; CARVALHO, M. V.; SANTOS, J. G. S.; BRITO, D. V. D. Qualidade do ar interno em uma instituição de ensino superior brasileira. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.26, n.2, p.305-310, 2010.

MOREAU, R. M. The origin of aerobiology. **J. Aerosol Sci.**, v. 25, n. 1, p. 109-110. 1994.

MORETTI, M.L. A importância crescente das infecções fúngicas. **Revista Panamericana de Infectologia**, v. 9, p. 8-9, 2007.

MOSCATO, U. Hygienic manangement of air conditioning systems. **Societa Editrice Universo**, v. 21, n. 12, p. 249-254,2000.

NAHAS, M.V.; RABACOW, F. M.; PEREIRA, S. V.; BORGATTO, A. F. Reprodutibilidade de uma escala para avaliar a percepção dos trabalhadores quanto ao ambiente e às condições de trabalho. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, São Paulo, v. 34, n.120, p. 179-183, 2009.

NAKAMURA, H. M; CALDEIRA, S. M.; AVILA, M. A. G. de. Incidência de infecções fúngicas em pacientes cirúrgicos: uma abordagem retrospectiva. **Rev. SOBECC**, São Paulo, v. 18, n. 3, p. 49-58,2013.

NASCIMENTO, G. C. do. **Avaliação da qualidade do ar de ambientes internos**: biblioteca pública. 2011. 170 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) -Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo,2011.

NAPOLI, C.; MARCOTRIGIANO, V.; MONTAGNA, M. T. Air sampling procedures to evaluate microbial contamination: a comparison between active and passive methods in operating theatres. **BMC Public Health**, v. 12, p. 2-6, 2012.

NEMCOVIC, M.; JAKUBIKOVA, L.; VIDEN, L.; VLADIMIR, F. Induction of conidiation by endogenous volatile compounds in *Trichoderma* sp. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 284, p. 231-236, 2008.

NEERINCX, A. H.; GEURTS, B. P.; HABETS, M. F. J.; BOOIJ, J. A.; LOON, J.; JANSEN, J. J.; BUYDENS, L. M. C.; INGEN, J.; MOUTON, J. W.; HARREN, F. J. M.; WEVERS, R. A.; MERKUS, P. J. F. M.; CRISTESCU, S. M.; KLUIJTMANS, L. A. J. Identification of *Pseudomonas aeruginosa* and *Aspergillus fumigatus* mono- and co-cultures based on volatile biomarker combinations. **J. Breath. Res.**, v. 10, n. 1, p. 1-9, 2016.

NICOL, F.; HUMPHREYS, M.; ROAF, S. **The Thermal Comfort**. Principles and practice. Earthscan, 2012.

NR, Norma Regulamentadora. **Ministério do Trabalho e Emprego**. NR-15 - Atividades e Operações Insalubres. 2009.

NURMATOV, U. B.; TAGIEVA, N.; SEMPLE, S.; DEVEREUX, G.; SHEIKH, A. Volatile organic compounds and risk of asthma and allergy: a systematic review and meta-analysis of observational and interventional studies. **Prim. Care Respir. J.**, v. 22, n. 1, p. 9-15, 2013.

ODUM, E. P.; BARRETT, G. W. **Fundamentos de Ecologia**. 5. ed. Editora Thomson Pioneira: São Paulo, 2007.

OH, H. J.; JEONG, N-N.; CHI, W-B.; SEO, J-H.; JUN, S-M.; SOHN, J-R. Characterization of particulate matter concentrations and bioaerosol on each floor at a building in Seoul, Korea. **Environ. Sci. Pollut. Res.**, v. 22, p. 16040-16050, 2015.

OLIVEIRA, E. M. C. A Arte Poética de Horácio por Pedro José da Fonseca. **Ágora. Estudos Clássicos em Debate**, v. 2, n. 1, p. 155-183, 2000.

OLIVEIRA, L. D. C.; BORGES-PALUCH, L. R. Alergias respiratórias: uma revisão dos principais fungos anemófilos e fatores desencadeantes. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v.39, n.2, p.426-441, 2015.

OLSSON, J.; BORJESSON, T.; LUNDSTEDT, T.; SCHNURER, J. Volatiles for mycological quality grading of barley grains: determinations using gas chromatography-mass spectrometry and electronic nose. **International Journal of Food Microbiology**, v. 59, p. 167-78, 2000.

PALLETA, F. A. C.; YAMASHITA, M. M.; PENILHA, D. F. Equipamentos de proteção individual (EPIs) para profissionais de bibliotecas, centros de documentação e arquivos. **Rev. Digit. Bibl. Cienc. Inf.**, v. 2, n. 2, p. 67-79, 2005.

- PASANEN, A. L.; LAPPALAINEN, S.; PASANEN, P. Volatile organic metabolites associated with some toxic fungi and their mycotox-ins. *Analyst* 1996;121:1949-53LI, C.; KUO, Y. Airbone characterization of fungi indoors and outdoors. *J. Aerosol Sci.*, v. 23, n. 1, p. 667-670, 1992.
- PASTORE, G. M.; SATO, H. H.; YANG, T. S.; PARK, Y. K.; MIN, D. B. Production of fruity aroma by newly isolated yeast. *Biotechnology Letters*, New York, v. 16, n. 4, p. 389-392, 1994.
- PASTORELLO, N. A. H. **Avaliação dos riscos ocupacionais a compostos orgânicos voláteis em ambientes aeroportuários**: implementação de metodologia. 2008. 76 f. Dissertação (Mestrado. Em Tecnologia Nuclear) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), São Paulo, 2008.
- PANTOJA, L. D. P. **Microbiota fúngica do ar de hospitais públicos no município de Fortaleza, Ceará**. 2007. 57 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, 2007.
- PANTOJA, L. D. M.; COUTO, M. S.; PAIXÃO, G. C. Diversidade de bioaerossóis presentes em ambientes urbanizados e preservados de um campus universitário. *O Biológico*, v. 69, p. 41-47, 2007.
- PANTOJA, L. D. M.; RIZZO, R. S.; CARVALHO, B. S.; FERREIRA, V. C.; GALAS K. S.; FONSECA, F. R. M.; PAIXÃO, G. C. 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.
- PASTUSZKA, J.; PAW, U. K. T.; LIS, D. O.; WLAZŁO, A.; ULFIG, K. Bacterial and fungal aerosol in indoor environment in Upper Silesia, Poland. *Atmospheric Environment*, v. 34, p. 3833-3842, 2000.
- PEI-CHIN, W.; HUEY-JEN, S.; CHIA-YIN, L. Characteristics of indoor and outdoor airbone fungi at suburban and urban homes in two seasons. *The Science of the Total Environment*, v. 253, p. 111-118, 2000a.
- PEI-CHIN, W.; HUEY-JEN, S.; HSIAO-MAN, H. A comparison of sampling media for environmental viable fungi collection in a hospital environment. *Environment Research. Section A*, v. 82, p. 253-257, 2000b.
- PERDELLI, F.; SARTINI, M.; SPAGNOLO, A.M.; DALLERA, M.; LOMBARDI, R.; CRISTINA, M.L. A problem of hospital hygiene: The presence of Aspergilli in hospital wards with diferente air-conditioning features. *Am. J. Infect. Control.*, v. 34, p. 264-268, 2006.
- PERERA T. M.; JAYASINGHE C.; PERERA S. A. S.; RAJAPAKSA S. W. Indoor Air quality and human activities in buildings. *Civil Engineering Research Exchange*. Symposium Faculty of Engineering. University of Ruhuna. 2012.

PERES-NETO, P. R.; VALENTIN, J. L.; FERNANDEZ, F. A. S. **Tópicos em tratamento de dados biológicos.** PPGE/UFRJ: Rio de Janeiro, 1995.

PERKIN-ELMER. **Gas Chromatography:** TurboMatriz Series Thermal Desorbers – User's Guide. United Kingdom: Perkin Elmer Inc, 2007.

PFALLER, M. A.; RHOMBERG, P. R.; MESSEY, S. A.; JONES, R. N.; CASTANHEIRA, M. Isavuconazole, micafungin, and 8 comparator antifungal agents' susceptibility profiles for common and uncommon opportunistic fungi collected in 2013: temporal analysis of antifungal drug resistance using CLSI species-specific clinical breakpoints and proposed epidemiological cutoff values. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 82, p. 303-313, 2015.

PICELI, P. **Quantificação de benzene, toluene, etilbenzeno e xilenos no ar de ambientes ocupacionais.** 2005. 131 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2005.

PLATTS-MILLS, T. A. E. Environment aspects of allergen diagnosis. **Res. Immunol.** v. 149, p. 255-258, 1998.

POLIZZI, V.; ADAMS, A.; SAEGER, S.; PETEGHEM, V.; MORETTI, A.; KIRPE, N. Influence of various growth parameters on fungal growth and volatile metabolite production by indoor molds. **Sci. Total Enviro.**, v. 4, n. 1, p. 277-286, 2012.

POSUDIN, Y. **Volatile Organic Compounds In Indoor Air:** Scientific, Medical And Instrumental Aspects. Department of Horticulture, University of Georgia, USA, 2008.

PROCOP, G. W.; ROBERTS, G. D. Emerging fungal diseases: the importance of the host. **Clin La. Med.**, v. 24, p. 691-719, 2004.

QIU-XIA, C.; CHANG-XING, L.; WEN-MING, H.; JIANG-QIANG, S.; WEN, L.; SHUN-FANG, L. Subcutaneous phaeohyphomycosis caused by *Cladosporium sphaerospermum*. **Mycoses**, v. 51, v. 1, p. 79-80, 2008.

QUADROS, M. E. **Qualidade do ar em ambientes internos hospitalares:** parâmetros físico-químicos e microbiológicos. 2008. 134 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) -Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 2008.

REILLY, J. M.; NISHIMURA, D. W.; ZINN, E. **Novas ferramentas para a preservação:** avaliando os efeitos ambientais a longo prazo sobre coleções de bibliotecas e arquivos. 2. ed. Rio de Janeiro: Projeto Conservação Preventiva em Bibliotecas e Arquivos, 2001.

REIS-MENEZES, A. A. **Fungos em Bibliotecas:** frequência dos gêneros em livros e elaboração de teste para avaliação da biorreceptividade em papéis. 2009. 124 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, 2009.

REGO, C. de M.; SANTOS, F. da S. Ocorrência de fungos anemófilos e sua relação com fatores abióticos em Barreiras, Bahia. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 13, n. 4, p. 265-271, 2015.

RÊGO, R. S. M.; MAGALHÃES, K.; MELO, F.; SILVEIRA, N. S. S. Ocorrência de Aspergillus sp. em pacientes com sinusite crônica. In: Congresso Brasileiro de Micologia. Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto. **Anais...** Ouro Preto, [s.n.], 2004. p.135.

REPONEN, T.; WILLEKE, K.; ULEVICIUS, V.; REPONEN, A.; GRINSHPUN, S. A. Effect of relative humidity on the aerodynamic diameter and respiratory deposition of fungal spores. **Atmospheric Environment**, v. 30, p. 3967-3974, 1996.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quim. Nova**, v. 27, n.5, p. 771-780, 2004.

RIBES, J. A.; VANOVER-SAMS, C. L.; BAKER, D. J. Zygomycetes in human disease. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 13, p. 236-301, 2000.

RIO DE JANEIRO. **Qualidade do ar na cidade do Rio de Janeiro**. Relatório da Rede Monitorar-Rio (2011-2012). Prefeitura do Rio de Janeiro. 2012.

RÍOS-YUIL, J. M.; ARENASA, R.; FERNÁNDEZA, R.; CALDERÓN-EZQUERROC, M.; RODRIGUEZ-BADILLOA, M. Aeromycological study at the intensive care unit of the “Dr. Manuel Gea Gonzalez” General Hospital. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 16, n. 5, p.432-435, 2012.

RODRIGUES, E. A. C.; MENDONÇA, J. S.; AMARANTE, J. M. B.; FERNANDES, E. T. **Infecções Hospitalares: Prevenção e Controle**. São Paulo: Sarvier, 1997.

ROSA, H.; LEMOS, J. A.; COSTA, C. R.; SILVA, M. R. R.; FERNANDES, O. F. L. Ocorrência de fungos filamentosos em acervo da faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás. **Revista de Patologia Tropical**. v. 37, p. 65-69, 2008.

ROSALES, A. R. **Captura, Actividad biológica e identificación de volátiles de la interacción Thichoderma asperellum – Sclerotium rolfsii**. 2011. 66 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto Politécnico Nacional, Yauteped, Morales, 2011.

ROSCH, C.; KOHADJA, T.; RODER, S.; BERGEN, M.; SCHLINK, U. Relationship between sources and patterns of VOCs in indoor air. **Atmospheric Pollution Research.**, v. 5, p. 129-137, 2014.

RUDNICKA, J.; MOCHLSKI, P.; AGAPIOU, A.; STATHEROPOULOS, M.; AMANN, A.; BUSZEWSKI, B. Application of ion mobility spectrometry for the detection of human urine. **Anal Bioanal. Chem.**, v. 398, p. 2031-2038, 2010.

SALIBA, T. M.; CORREA, M. A. C. **Insalubridade e periculosidade: aspectos técnicos e práticos**. 9. ed. São Paulo: Editora LTr, 2009.

SANCA, S.; ASAN, A.; OTKUN, M. T.; TURE, M. Monitoring indoor airborne fungi and bacteria in the different areas of Trakya University Hospital, Edirne, Turkey. **Indoor and Built. Environment**, v. 11, p. 285-292, 2002.

SANGUESSUGA, M. S. **Síndrome dos edifícios doentes**: estudo da qualidade do ar interior e despiste da eventual existência de SED entre a população do edifício “E” de um estabelecimento de ensino superior. 2012. 156 f.Dissertação (Mestrado em Tecnologia da Saúde) - Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa/Instituto Politécnico de Lisboa, 2012.

SANTANA, M. V. A. A. Compostos carbonílicos atmosféricos: fontes, reatividade, níveis de concentração e efeitos toxicológicos. **Quím. Nova**. v. 25, n. 6B, p. 1117-1131, 2002.

SANTOS, A. C. C. **Implementação e validação de um método de controlo do teor de COV em tintas líquidas, por GC-MS com amostrador headspace**. 2015. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade do Porto, Faculdade de Ciências,2015.

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. **Cadernos e Saúde Coletiva**, v. 16, n. 8, p. 3583-3590, 2011.

SCHIRMER, W.N.; LISBOA, H.M. Química da Troposfera: constituintes naturais, poluentes e suas reações. **TECNO-LÓGICA**, Santa Cruz do Sul, v. 12, n. 2, p. 37-46, 2008.

SCHLEIBINGER, H.; LAUSSMANN, D.; BORNEHAG, C-G.; EIS, D.; RUEDEN, H. Microbial volatile organic compounds in the air of moldy and mold-free indoor environments. **Indoor Air**, v. 18, p. 113-124, 2008.

SCHNELLE JR, K. B.; BROWN, C. A. **Air Pollution Control technology Handbook**. 1. ed. USA: CRC Press, 2001.

SCHNURER, J.; OLSSON, J.; BORJESSON, T. Fungal volatiles as indicators of food and feeds spoilage. **Fungal Genetics and Biology**, v. 27, p. 209-17, 1999.

SCHOSSLER, I. S.; SANTANA, E. R, R.; SPINELLI, R. Avaliação de qualidade do ar interior em relação às características de ventilação das edificações. **Revista Destaques Acadêmicos**, v. 7, n. 4, 2015.

SCHUCHARDT, S.; KRUSE, H. Quantitative volatile metabolite profiling of common indoor fungi: relevancy for indoor air analysis.**Journal of Basic Microbiology**, v. 49, p. 350–362, 2009.

SEIXAS, V. C. T. **Qualidade do ar interior em salas de aula com diferentes formas de ventilação**: monitorização e modelação matemática. 2014. 116 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente) - Universidade Trás-os-Montes e Alto Douro. Vila Real, 2014.

SHABIR, S.; SALIM, M.; RASHID, M. Study on the feed conversion ratio (FCR) in major carp *Cirrhinus mrigala* fed on sunflower meal, wheat bran and maize gluten. **Pakistan Vet. J.**, v. 23, n. 1, p. 1-3, 2003.

SHRIVASTAVA, A.; GUPTA, V. B. Methods for the determination of limito f detection and limito f quantitation of the analytical methodes. **Chronicles of Young Scientists.**, v. 2, n. 1, p. 21-25, 2011.

SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. **Micologia Médica à Luz de Autores Contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

SILVA, A. G. S. D.; BACELAR JÚNIOR, A. J.; ANTUNES, D. N.; BACELAR, L. F. F.; DUTRA, M. C.; MARQUES, T. P. Prevalência dos sintomas de problemas respiratórios em um edifício onde não há manutenção periódica dos filtros de ares condicionados: estudo de caso na cidade deIpatinga – MG. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v.11, n.4, p.5-13, 2015.

SILVA, E. L.; MENEZES, E. M. **Metodologia da pesquisa e elaboração de dissertação**. 3. ed. Florianópolis: UFSC/PPGEP/LED, 2001.

SILVA; D. J.; BRITO, A. C. C. **Rotina de limpeza do ambiente hospitalar**. Serviço de Higienização e Limpeza Hospitalar da Santa Casa de Misericórdia de Goiânia. Goiânia: Editora interna, 2012.

SILVA, R. A.; WEST, J. J.; LAMARQUE, J. F.; SHINDELL, D. T.; COLLINS, W. J.; DALSOREN, S.; NAIK, V. The effect of future ambient air pollution on human premature mortality to 2100 using output from the ACCMIP model ensemble. **Atmospheric Chemistry & Physics Discussions**, v. 3, p. 1-24, 2016.

SILVEIRA, M. G. **Avaliação da qualidade do ar em um grande aeroporto na cidade do Rio de Janeiro**. 2001. 153 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Escola Nacional de Saúde Pública. Rio de Janeiro, FIOCRUZ, ENSP, CESTEH, 2001.

SIMON, S.; BITELBRON, A. F. F.; NOGUEIRA, B. T. M. V. Estudo da ventilação natural em uma edificação residencial. **Revista Gestão e Desenvolvimento em Contexto- GEDECON**, v. 3, n. 1, p.13-24, 2015.

SINDPARK. **Sindicato dos Empregados em Estacionamentos e Garagens do Estado de São Paulo**. CONVENÇÃO COLETIVA DE TRABALHO 2008/2010. São Paulo: SP, 2010.

SIQUEIRA, L. F. G. **A importância do ar hospitalar**. In: RODRIGUES, E. A. C. et al. Infecções hospitalares: presença e controle. São Paulo: Sarvier, p. 458-462. 1997.

SIQUEIRA, L. F. G. **Síndrome do edifício doente, o meio ambiente e a infecção hospitalar**. In: FERNANDES, A. T.; FERNANDES, M. A. V.; RIBEIRO, N. F. Infecção Hospitalar e suas Interfaces na Área da Saúde. São Paulo: Atheneu, p.1307-1322. 2000.

- SIQUEIRA, C. Y. S.; GIODA, A.; CARNEIRO, F. P.; RAMOS, M. da C. K. V.; AQUINO NETO, F. R. Distribution of indoor air pollutants in downtown Rio de Janeiro, Brazil. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 22, n. 11, p. 2127-2138, 2011.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookmann, 2002. 836 p.
- SOLOMON, G. M.; KOSKI, M. H.; ELLMAN, M. R.; HAMMOND, S. K. Airborne mold and endotoxin concentrations in New Orleans, Louisiana, after flooding, October through November 2005. **Environ Health Perspect.**, v. 114, n. 9, p. 1381-6, 2006.
- SOUZA, F. W.; CARACAS, I. B.; NASCIMENTO, R. F. CAVALCANTE, R. M. Exposure and cancer risk assessment for formaldehyde and acetaldehyde in the hospitals, Fortaleza-Brazil. **Building and Environment**, v. 46, p. 2115-2120, 2011.
- SOUZA, K. S.; FORTUNA, J. L. 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.250-263, 2011.
- SOUZA, F. W. **Estimativa da exposição e risco de câncer a compostos carbonílicos e BTEX em postos de gasolina na cidade de Fortaleza-CE**. 2011. 189 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) - Pós-graduação em Engenharia Civil, Saneamento Ambiental, Universidade Federal do Ceará, 2011.
- SOUZA, R. S.; CORTEZ, E. A.; CARMO, T. G.; SANTANA, R. F. Doenças ocupacionais dos trabalhadores de limpeza em ambiente hospitalar: proposta educativa para minimizar a exposição. **Enfermária Global**, v. 42, p. 537-551, 2016.
- SOUZA, L. P. de. **Os desafios na prevenção e controle de infecção hospitalar a âmbito institucional**: uma discussão a partir da análise do cenário de uma instituição de saúde brasileira. 2014. 92 f., Monografia (Bacharelado em Saúde Coletiva) - Universidade de Brasília, Ceilândia - DF, 2014.
- STATHOLOPOU, O. I.; ASSIMAKOPOULOS, V. D.; FLOCAS, V. A.; HELMIS, C. G. An experimental study of air quality inside large athletic halls. **Building and Environment**, v. 43, n. 5, p. 793-803, 2008.
- STERN, A. C.; BOUBEL, R. W.; TURNER, D. B.; FOX, D. L. **Fundamentals of Air Pollution**. Orlando: Academic Press, Inc., 1984, 530 p.
- STRAUSZ, M. C. **Análise de um acidente fúngico na Biblioteca Central de Manguinhos**: um caso de síndrome do edifício doente. Dissertação (Mestrado em Biblioteconomia) - Escola Nacional de Saúde Pública, Manguinhos (RJ), 2001.
- STRAUSZ; M. C.; MACHADO, J. M. H.; BRICKUS, L. S. R. Análise de um acidente por contaminação fúngica em uma biblioteca pública no município do Rio de Janeiro. **Rev. Bras. Saúde Ocup.**, v. 32, n. 115, p. 69-78, 2007.

SUNESSON, A. L.; NILSSON, C. A.; ANDERSSON, B.; BLOMQUIST, G. Volatile metabolites produced by two fungal species cultivated on building materials. **Annals of Occupational Hygiene**, v. 40, p. 397-410, 1996.

SUNESSON, A. L.; VAES, W. H. J.; NILSSON, C. A.; BLOMQUIST, G.; ANDERSSON, B.; CARLSON, R. Identification of volatile metabolites from five fungal species cultivated on two media. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 61, p. 2911-2918, 1995.

SWARTZ, M. E.; KRUUL, J. S. Validação de métodos cromatográficos. **Pharmaceutical Technology**, p. 12-20, 1998.

TAKIZAWA, H. Diesel exhaust particles and their effects on induce cytokine expression in human bronchial epithelial cells. **Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.**, v. 4, p. 355-359, 2012.

TAVORA, L. G. F.; GAMBALE, W.; HEINS-VACCARI, E. M.; ARRIAGADA, G. L. H.; LACAZ, C. S.; SANTOS, C. R.; LEVIN, A. S. Comparative performance of two air samplers for monitoring airborne fungal propagules. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research.**, v. 36, p. 613-616, 2003.

TERESA, D. B.; PONSONI, K.; RADDI, M. S. G. Bioaerossóis em Ambientes do Prédio Tradicional da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, v. 22, n. 1, p. 31-39, 2001.

TEIXEIRA, J. C. A legislação de saúde do trabalhador aplicável e vigente no Brasil [Internet]. Brasília: Ministério Público do Trabalho. 2013 [citado nov 30]. 30 p. Disponível em: <<http://www.pgt.mpt.gov.br>>. Acesso em: 02 fev. 2016.

TERR, A. I. Sick Building Syndrome: is mould the cause? **Medical Mycology**, v. 47, n. 1, p. 217-222, 2009.

TUCKER, W. Gene. Chapter 31: **Volatile Organic Compounds**. In: SPENGLER, J. D.; SAMET, J. M.; MCCARTHY, J. F. Indoor Air Quality Handbook. Nem York: McGraw-Hill, 2004. 1448 p.

VALLE, C. A. **Subsídios para uma política de preservação e conservação de acervos em bibliotecas universitárias brasileiras**. 1991. 118 f. Dissertação (Mestrado em Biblioteconomia) - Universidade de Brasília, 1991.

VALINOTE, H. C. **Ambiente de trabalho e qualidade de vida dos trabalhadores da construção civil de uma construtora de Goiânia**. 2011. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais e Saúde) - Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2011.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECONCAVO DA BAHIA. 2011. **Biblioteca Setorial do CAHL**. Preservação do acervo. Disponível em: <<http://www1.ufrb.edu.br/bibliotecacahl/preservacao-do-acervo>>. Acesso em: 20 nov. 2015.

USEPA. Compendium of Methods for the Determination of Toxic Organic Compounds in Ambient Air. Compendium Method TO-15 Determination Of Volatile Organic Compounds (VOCs) In Air Collected In Specially-Prepared Canisters And Analyzed By Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS). 2. ed. 1999a.

USEPA. Compendium of Methods for the Determination of Toxic Organic Compounds in Ambient Air. Compendium Method TO-17 Determination of Volatile Organic Compounds in Ambient Air Using Active Sampling Onto Sorbent Tubes. 2. ed. 1999b.

WANG, S.; ANG, H. M.; TADE, M. O. Volatile organic compounds in indoor environment and photocatalytic oxidation: state on the art. **Environment International**, v. 33, n. 5, p. 694-705, 2007.

WANG, C. Y.; HU, H. D.; HSUEH, P. R. Nosocomial transmission of cryptococcosis. **N. Engl. J. Med.**, v. 352, n. 12, p. 1271-1272, 2005.

WÅLINDER, R.; ERNSTGÅRD, L.; JOHANSON, G.; NORBÄCK, D.; VENGE, P.; WIESLANDER, G. Acute effects of a fungal volatile compound. **Environ. Health Perspect.**, v. 113, p.1775-1778, 2005.

WALSH, T.J.; GROLL, A.H. Emerging fungal pathogens: Evolving challenges to immunocompromised patients for the twenty-first century. **Transpl. Infec. Dis.**, v. 1, p. 247-261, 1999.

Wanke, B.; LÁZERA, M.S.; NUCCI, M. Fungal infections in the immunocompromised host. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, V., Suppl. I, p. 1533-158, 2000.

WESSEN, B.; SCHOEPS, K. Microbial Volatile Organic Compounds-What Substances can be Found in Sick Buildings? **Analyst**, v. 121, p. 1203-1205, 1996.

WESTBROOK, J. K.; ISARD, S. A. Atmospheric scales of biotic dispersal. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 97, n. 4, p. 263-274, 1999.

WIESLANDER, G.; NORBACK, D. Ocular symptom, tear film stability, nasal patency and biomarkers in nasal lavage in indoor painters in relation to emissions from water-based paint. **Int. Arch. Occup. Environ. Health.**, v. 83, p. 733-741, 2010.

WILKINS, K. Microbial VOC (MVOC) in buildings, their properties and potential use. **Anais...In: 9th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Monterey, California. 2002.**

WILKINS, K.; LARSEN, K. Variation of volatile organic compound patterns of mould species from damp buildings. **Chemosphere**, v. 5, p. 3225-36, 1995.

WILKINS, K.; LARSEN, K.; SIMKUS, M. Volatile metabolites from mold growth on building materials and synthetic media. **Chemosphere**, v. 41, p. 437-446, 2000.

WHO. World Health Organization. Environment and Air. New York/EUA. 2006. Portal eletrônico. Apresenta informações sobre a saúde mundial. Disponível em: <<http://www.who.int>>. Acesso em: 25 nov. 2013.

WU, P-C.; SU, H-J. J.; HO, H-M. A Comparison of Sampling Media for Environmental Viable Fungi Collected in a Hospital Environment. **Environmental Research.**, v. 82, p. 253-257, 2000.

ANEXO 1 – TERMO DE AUTORIZAÇÃO



Universidade Federal do Ceará – UFC



Curso de Pós-Graduação em Engenharia Civil

Doutorado em Saneamento Ambiental

Fortaleza, xx de dezembro de 2012.

Ilma. Sra.

Enide Maria Chaves Vidal

Diretora da Biblioteca Pública Governador Menezes Pimentel

Viemos através deste, solicitar a V. Senhoria autorização para realizar a pesquisa científica intitulada como: ESTIMATIVA DOS NÍVEIS DE BIOAEROSSÓIS E COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS FÚNGICOS EM AMBIENTES OCUPACIONAIS NO MUNICÍPIO DE FORTALEZA-CEARÁ, cujo objetivo geral é propor um padrão microbiológico referencial da qualidade do ar visando melhorias no monitoramento e controle de ambientes internos e externos de uso coletivo no município de Fortaleza, Ceará. Período: setembro/2014 a junho/2015.

Asseguramos os aspectos éticos na pesquisa, tais como: sigilo quanto à identificação da Instituição e a fatores sociais envolvidos.

Certos de vosso apoio antecipadamente agradecemos sua atenção.

Lydia Pantoja – Responsável (85 98899-7347)

ANEXO 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O(a) Sr(a) está sendo convidado(a) a participar da pesquisa intitulada ESTIMATIVA DOS NÍVEIS DE BIOAEROSSÓIS E COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS FÚNGICOS EM AMBIENTES OCUPACIONAIS NO MUNICÍPIO DE FORTALEZA-CEARÁ, que tem como objetivo geral propor um padrão microbiológico referencial da qualidade do ar visando melhorias no monitoramento e controle de ambientes internos e externos de uso coletivo no município de Fortaleza, Ceará. Uma parte da coleta de dados utilizará questionários ocupacionais.

Dessa forma, pedimos a sua colaboração nesta pesquisa, respondendo a uma entrevista sobre o tema acima proposto. Garantimos que a pesquisa não trará nenhuma forma de prejuízo, dano ou transtorno para aqueles que participarem. Todas as informações obtidas neste estudo serão mantidas em sigilo e sua identidade não será revelada. Vale ressaltar, que sua participação é voluntária e o(a) Sr(a) poderá a qualquer momento deixar de participar deste, sem qualquer prejuízo ou dano. Comprometemo-nos a utilizar os dados coletados somente para a pesquisa e os resultados poderão ser veiculados através de artigos científicos e revistas especializadas e/ou encontros científicos e congressos, sempre resguardando sua identificação.

Todos os participantes poderão receber quaisquer esclarecimentos acerca da pesquisa entrando em contatos com a responsável pela pesquisa, Lydia Dayanne Maia Pantoja através do contato (085) 98899-7347.

Eu, _____, tendo sido esclarecida a respeito da pesquisa, aceito participar desta com tema ESTIMATIVA DOS NÍVEIS DE BIOAEROSSÓIS E COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS FÚNGICOS EM AMBIENTES OCUPACIONAIS NO MUNICÍPIO DE FORTALEZA-CEARÁ.

Fortaleza, ___/___/___

Assinatura do participante

Assinatura do pesquisador

ANEXO 3 – MEIOS DE CULTURA, CORANTES E SOLUÇÕES

MEIOS DE CULTURA

Ágar Batata

Infusão de batatas	500 mL
Dextrose	10 g
Ágar bacteriológico	15 g
Água destilada	1000 mL

Ágar Extrato de Levedura e Malte (Meio de Wickerham)

Extrato de malte	3 g
Extrato de levedura	3 g
Peptona	5 g
Dextrose	10 g
Ágar bacteriológico	20 g
Água destilada	1000 mL

Ágar Fubá (Corn-Meal) com Tween 80

Fubá de milho	40g
Ágar bacteriológico	20 g
Tween 80	8mL
Água destilada	1000 mL

Chromagar® Candida

CHROMagar *Candida*® desidratado 47,7 g

Água destilada 1000 mL

Meio para Assimilação de Carboidratos (Meio C)**Meio Basal**

Ágar bacteriológico 20 g

Água destilada 1000 mL

Solução Estoque de Yeast Nitrogen Base

Yeast Nitrogen Base(Difco®) 6.7 g

Água destilada 100 mL

Meio para Assimilação de Nitrogênio (Meio N)

Yeast Carbon Base (Difco®) 12 g

Ágar bacteriológico 20 g

Água destilada 1000 mL

Meio para Fermentação de Carboidratos

Azul de bromotimol 0.03 g

Extrato de levedura 2.7 g

Peptona 4.5 g

Água destilada 600 mL

Etanol a 95%	1.8 mL
--------------	--------

Meio Ágar Uréia de Christensen's

Solução A

Ágar base uréia (Christensen's)	29 g
---------------------------------	------

Água destilada	100 mL
----------------	--------

Solução B

Ágar bacteriológico	15 g
---------------------	------

Água destilada	900 mL
----------------	--------

CORANTES E SOLUÇÕES

Corante Lactofenol Azul-Algodão

Ácido lático	20 g
--------------	------

Fenol	20 g
-------	------

Glicerina	20 g
-----------	------

Azul algodão	0.05 g
--------------	--------

Água destilada	20 mL
----------------	-------

Coloração de Kinyoun

Carbol-Fucsina de Kinyoun

Fucsina básica	4 g
----------------	-----

Álcool a 95%	20 mL
--------------	-------

Cristais de fenol fundido 8 mL

Água destilada 100 mL

Álcool-Ácido

Ácido clorídrico 3 mL

Álcool etílico a 95% 97 mL

Azul de Metileno

Azul de metileno 0.3 g

Água destilada 100 mL

Solução de Carboidratos

Carboidratos 6 g

Água destilada 100 mL

Solução Salina

Cloreto de sódio 0.9 g

Água destilada 100 mL

ANEXO 4 –TÉCNICAS E TESTES COMPLEMENTARES

Técnica da Preparação por Desagregação

Procedimento

- 1) Extrair com um garfo de platina uma pequena porção da colônia, em seguida, colocar o fragmento da colônia em uma gota de lactofenol azul-algodão (anexo 3) sobre uma lâmina previamente identificada.
- 2) Desagregar o fragmento com o garfo e cobrir com uma lamínula.
- 2) Em seguida levar o preparado ao microscópio óptico.

Técnica da Montagem com Fita Adesiva Transparente

Procedimento

- 1) Pressionar o lado colante da fita de celofane de maneira suave, mas firme, sobre a superfície da colônia que havia sido semeada em placa de Petri pequena com meio ágar batata (anexo 3) por até sete dias e remover uma porção do micélio aéreo.
- 2) Para realizar a montagem colocar uma gota de lactofenol azul-algodão (anexo 3) sobre uma lâmina previamente identificada e aderir uma ponta da fita contendo micélio à superfície da lâmina ao lado da gota; em seguida, estirar suavemente a fita sobre a gota de corante, de modo que o micélio fique impregnado de corante.
- 3) Em seguida levar o preparado ao microscópio óptico.

Técnica de Microcultivo em Lâmina

Procedimento

- 1) Utilizar placas de Petri de 90 X 15 mm, nas quais deverão ser introduzidas 3 lâminas de microscopia, previamente, toda essa vidraria deve ter sido esterilizada por autoclavação.
- 2) Preparar o meio ágar batata (anexo 3), verter 20 mL do meio em placa de Petri de 90 X 15 mm, esperar solidificar. Cortar o meio já solidificado em pequenas porções de 1 cm², com o auxílio de um bisturi, previamente flambado.
- 3) Com o próprio bisturi transferir uma porção do meio ágar batata, para dentro da placa de Petri, especificamente para a superfície central da lâmina de microscopia, disposta

sobre as outras lâminas. Semear pequenos fragmentos de micélio nos quatro lados da porção de meio de cultivo, cobrir com uma lamínula, com o auxílio de pinça previamente flambada. Adicionar na placa 2 mL de água destilada estéril para evitar a dessecação do meio.

- 4) Incubar a temperatura ambiente (25 – 28 °C) por até 15 dias, em seguida, remover a lamínula do cultivo, com o auxílio de um bisturi e de uma pinça. Colocar uma gota de lactofenol azul-algodão (anexo 3) no centro de uma lâmina de microscopia e cobrir com a lamínula de cultivo evitando a formação de bolhas de ar.
- 5) Em seguida levar o preparado ao microscópio óptico.

Técnica de Microcultivo em Ágar Fubá (*Corn-Meal*) com Tween 80

Procedimento

- 1) Com 48 horas de antecedência do experimento a levedura deve ser repicada para tubo rosqueado de 125 X 10 mm com meio Ágar Batata (Anexo 3) e incubada a 37 °C.
- 2) Preparar o meio ágar fubá (*Corn-Meal*) com Tween 80 (Anexo 3), distribuir em placas de Petri de 70 X 15 mm, após a solidificação, realizar a semeadura com um garfo de platina estéril e um pequeno fragmento da levedura, fazendo de 3 a 4 estrias paralelas sobre o ágar, de 4 a 4 cm de extensão e equidistantes de 3 a 4 mm umas das outras.
- 3) Com auxílio de pinça previamente flambada cobrir com lamínula as estrias na sua porção central. Pressionar delicadamente a lamínula com a pinça, para retirar o ar retido entre a lamínula e a superfície do ágar. Incubar a 25 – 28 °C, durante 5 dias.
- 4) No momento da observação, remover a tampa da placa e posicionar no microscópio óptico. Examinar a área estriada com as objetivas de 10 a 40X, visando à detecção das estruturas.

Assimilação de Carboidratos

Procedimento

- 1) Com 48 horas de antecedência do experimento a levedura deve ser repicada para tubo rosqueado de 125 X 10 mm com meio ágar batata (anexo 3) e incubada a 37 °C.
- 2) Preparar uma suspensão da levedura a ser identificada em 2 mL de água destilada esterilizada, ajustando-se posteriormente a turbidez de acordo com o padrão de número 5 da escala de McFarland;

- 3) Preparar previamente o meio basal para Assimilação de Carboidratos (anexo VI) e armazenar em frascos, contendo 40 mL do meio, a 4 °C.
- 4) No momento do uso, fundir os frascos em forno de microondas, em seguida resfriar até a temperatura de 50 °C.
- 5) Após a estabilizar da temperatura, adicionar 400 uL da solução estoque *Yeast Nitrogen Base*(Difco®) (anexo 3) em cada frasco e homogeneizar. Em seguida adicionar 2 mL da suspensão da levedura ao frasco e verter em placa de Petri de 150 X 15 mm esterilizada (previamente identificada e com o ponto de orientação para a distribuição dos açúcares). Simultaneamente realizar suaves movimentos de rotação da placa, com a finalidade de homogeneizar o inóculo.
- 6) Com o meio sólido, a placa deve ser disposta sobre cartela-guia, onde se encontram os nomes dos açúcares a serem distribuídos. Distribuir pequenas alíquotas dos carboidratos equidistantemente sobre o ágar, com o auxílio de espátulas individuais esterilizadas. Incubar a 37 °C, durante 24 a 96 horas.
- 7) Realizar diariamente leituras, sendo a positividade observada através do surgimento de halo de crescimento, na área correspondente a cada carboidrato. A dextrose é utilizada como controle positivo para avaliar a viabilidade do inóculo da levedura.

Assimilação de Nitrogênio

Procedimento

- 1) Com 48 horas de antecedência do experimento a levedura deve ser repicada para tubo rosqueado de 125 X 10 mm com meio ágar batata (anexo 3) e incubada a 37 °C.
- 2) Preparar uma suspensão da levedura a ser identificada em 1 mL de água destilada esterilizada, ajustando-se posteriormente a turbidez de acordo com o padrão de número 5 da escala de McFarland.
- 3) Preparar e armazenar previamente o meio para Assimilação de Nitrato (anexo 3) em frascos, contendo 20 mL do meio, a 4 °C.
- 4) No momento do uso, fundir os frascos em forno de micro-ondas, em seguida resfriar até a temperatura de 50 °C.
- 5) Após estabilizar a temperatura, adicionar 1 mL da suspensão da levedura ao frasco e verter em placa de Petri de 90 X 15 mm esterilizada (previamente identificada e com o ponto de orientação para a distribuição das fontes nitrogenadas). Simultaneamente

realizar suaves movimentos de rotação da placa, com a finalidade de homogeneizar o inóculo.

- 6) Com o meio sólido, a placa deve ser disposta sobre cartela-guia. Distribuir pequenas alíquotas das fontes de nitrogênio equidistantemente sobre o ágar, com o auxílio de espátulas individuais esterilizadas. Incubar a 37 °C, durante 24 a 96 horas.
- 7) Realizar diariamente leituras, sendo a positividade observada através do surgimento de halo de turvação em torno das fontes nitrogenadas. A peptona é utilizada como controle positivo para avaliar a viabilidade do inóculo da levedura.

Fermentação de Carboidratos

Procedimento

- 1) Com 48 horas de antecedência do experimento a levedura deve ser repicada para tubo rosqueado de 125 X 10 mm com meio ágar batata (anexo 3) e incubada a 37 °C.
- 2) Preparar uma suspensão da levedura a ser identificada em 1,2 mL de água destilada esterilizada, ajustando-se posteriormente a turbidez de acordo com o padrão de número 5 da escala de McFarland.
- 3) Preparar e distribuir previamente o meio basal (anexo 3) em tubos de ensaio de 125 X 10 mm que contenham previamente um tubo de Durham invertido, em alíquotas de 3 mL, seguido de autoclavagem.
- 4) Acrescentar ao meio basal 1,5 mL de cada solução de carboidrato (anexo 3). Pipetar 200 uL da suspensão da levedura em tubos de ensaio (previamente identificados) contendo dextrose, maltose, sacarose, lactose, galactose e trealose. Incubar a 37 °C, durante 14 dias, sendo a leitura realizada depois de 24 a 48 horas e, subsequentemente, no 5°, 10° e 14°, quando se observa a produção de gás dentro dos tubos de Durham e mudança de coloração no meio.
- 5) Os resultados destas provas devem ser comparados com o Quadro de leitura. A dextrose é utilizada como controle positivo para avaliar a viabilidade do inóculo da levedura.

Teste de Produção de Urease

Procedimento

- 1) Com 48 horas de antecedência do experimento a levedura deve ser repicada para tubo rosqueado de 125 X 10 mm com meio ágar batata (anexo 3) e incubada a 37 °C.
- 2) Semear um fragmento da levedura no meio ágar uréia de Christensen's (anexo 3). Incubar a temperatura de 37 °C durante 24 a 96 h e observar a viragem do indicador de pH, o vermelho fenol.
- 3) Após o crescimento a prova é revelada positiva quando a urease hidrolisa a uréia alcalinizando (através da liberação de amônia) o meio que toma a coloração rosa. Na prova negativa não há alteração da cor do meio.

**APÊNDICE 1 – INSTRUMENTO AVALIATIVO PARA ANÁLISE ESPACIAL
DOS AMBIENTES LABORAIS**

Estudo Espacial – Checklist

Data _____

Setor _____

Horário início _____

Horário término _____

1.0	Verificação de fontes poluidoras	SIM	NÃO
	1.1 Atividades desenvolvidas no interior do edifício podem ser fontes poluidoras (ex.: material de construção)?		
	1.2 Atividades desenvolvidas no exterior do edifício podem ser fontes poluidoras (ex.: material de construção)?		
	1.3 Existem espaços específicos dentro do edifício que é permitido fumar?		
	1.4 Existem dentro do edifício vegetais?		
	1.5 Existem dentro do edifício animais?		
	1.6 Taxa de ocupação humana (média)?		
	1.7 São usados produtos químicos para a limpeza do ambiente?		
	1.7.1 Se sim, quais?		
2.0	Verificação das taxas de renovação de ar		
	2.1 As aberturas para admissão de ar (de preferência autocontroladas) existem?		
	2.1.1 Se sim, número de portas?		
	2.1.2 Se sim, número de janelas?		
	2.1.3 Se sim, número de aparelhos de ar condicionado?		
	2.1.4 Se sim, número de ventiladores?		
3.0	Verificação das condições climáticas		
	3.1 Temperatura do ambiente (t máx e t mín)?		
	3.2 Umidade relativa do ar?		

APÊNDICE 2 – QUESTIONÁRIO DE RISCO OCUPACIONAL



Universidade Federal do Ceará – UFC
 Curso de Pós-Graduação em Engenharia Civil
 Doutorado em Saneamento Ambiental



CARACTERIZAÇÃO DA PERCEPÇÃO OCUPACIONAL SOBRE A QUALIDADE DO AR LABORAL

BLOCO 1 – CARACTERIZAÇÃO SOCIOECONÔMICA				
Q1. Idade: _____ (em anos)	Q2. Sexo 1 () M 2 () F	Q3. Qual a sua carga de trabalho por semana? _____ (em horas)	Q4. Há quanto tempo você trabalha nesse prédio? _____ (anos) _____ (meses)	Q5. Você fuma ou outras pessoas fumam no ambiente de trabalho? 1 () Sim 2 () Não
BLOCO 2 – CARACTERIZAÇÃO DA ATIVIDADE LABORAL				
Q6. Você faz horas-extras? 1 () Sim 2 () Não	Q7. As condições de limpeza de seu ambiente de trabalho são? 1 () Excelente 2 () Muito boa 3 () Boa 4 () Ruim 5 () Muito ruim	Q8. As condições de temperatura/umidade de seu ambiente de trabalho são? 1 () Excelente 2 () Muito boa 3 () Boa 4 () Ruim 5 () Muito ruim	Q9. Utiliza Equipamentos de Proteção Individual (EPI) com frequência? 1 () Nunca 2 () Raramente 3 () Constantemente 4 () Sempre	Q10. Em geral, como você classifica o ar de seu ambiente de trabalho? 1 () Limpo 2 () Empoeirado 3 () Parado 4 () Com presença de odores
BLOCO 3 – CARACTERIZAÇÃO DO ESTADO DE SAÚDE				
Q11. Você apresenta alguns destes sintomas com frequência? (pode marcar mais de uma opção) 1 () Olhos secos 2 () Olhos lacrimejantes 3 () Garganta seca/irritada 4 () Dor de cabeça 5 () Nariz entupido/coriza 6 () Espirros/coceira nasal 7 () Dor no peito/falta de ar	Q12. Você já se queixou a administração do prédio sobre a qualidade do ar? 1 () Sim 2 () Não	Q13. Quão saudável é o ar de seu ambiente de trabalho? 1 () Nada 2 () Muito pouco 3 () Mais ou menos 4 () Bastante 5 () Extremamente	Q14. Como você classificaria sua capacidade respiratória atual? 1 () Excelente 2 () Muito boa 3 () Boa 4 () Ruim 5 () Muito ruim	Q15. Você já ouviu falar da Síndrome do Edifício Doente? 1 () Sim 2 () Não
BLOCO 4 – CARACTERIZAÇÃO DA QUALIDADE DO AR DO AMBIENTE DE TRABALHO				
Q16. Com que frequência você faz exames de rotina (exame de sangue, urina, raio X etc)? 1 () Nunca 2 () Raramente 3 () Constantemente 4 () Sempre	Q17. Quantos dias inteiros você esteve fora do trabalho devido a problemas de saúde nos últimos 12 meses? 1 () Nenhum 2 () Até 9 dias 3 () De 10 a 24 dias 4 () De 25 a 99 dias 5 () De 100 a 365 dias	Q18. Em geral você diria que sua saúde é? 1 () Excelente 2 () Muito boa 3 () Boa 4 () Ruim 5 () Muito ruim	Q19. Você apresenta esgotamento físico ou mental após um dia de trabalho? 1 () Nunca 2 () Raramente 3 () Constantemente 4 () Sempre	Q20. Você percebe uma influência negativa de seu trabalho em sua qualidade de vida? 1 () Nunca 2 () Raramente 3 () Constantemente 4 () Sempre