UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Monitoramento de espécies fúngicas no ar atmosférico da região metropolitana de São Paulo

Dulcilena de Matos Castro e Silva

Tese apresentada para o Programa de Pós-graduação em Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Epidemiologia
Orientador: Prof^a. Dr^a. Maria Regina Alves Cardoso

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

" Versão Revisada"

Catálogo da Publicação

Ficha elaborada pelo Sistema de Geração Automática a partir de dados fornecidos pelo(a) autor(a)
Bibliotecária da FSP/USP: Maria do Carmo Alvarez - CRB-8/4359

Castro e Silva, Dulcilena de Matos
"Monitoramento de espécies fúngicas no ar atmosférico
da região metropolitana de São Paulo" / Dulcilena de Matos
Castro e Silva; orientadora Maria Regina Alves Cardoso.
- São Paulo, 2019.
120 p.

Tese (Doutorado) -- Faculdade de Saúde Pública da
Universidade de São Paulo, 2019.

1. anemófilos. 2. ar. 3. poluentes. 4. fungos. 5.
concentração de fungos. I. Cardoso, Maria Regina Alves ,
orient. II. Título.

DESCRITORES E PALAVRAS-CHAVE

Ar atmosférico

Poluição atmosférica

Aspergillus

Anemófilos

Qualidade do ar

Condições atmosféricas

Dedicatória

Dedico este trabalho a Deus e a todos os anjos que hoje estão ao seu lado.

Agradecimentos:

Meu Pai: Alcebíades

Entre tantos guerreiros e super-heróis, você, meu pai, é o mais valente e importante deles

Meu Marido: Paulo

Muitas coisas bonitas não podem ser vistas ou tocadas, elas são sentidas dentro do coração. O que você fez por mim, é uma delas. E eu agradeço do fundo do meu coração. Obrigado!

Meus filhos: Leandro e Arthur

“Tente uma, duas, três vezes e se possível tente a quarta, a quinta e quantas vezes for necessário. Só não desista nas primeiras tentativas, a persistência é amiga da conquista. Se você quer chegar aonde a maioria não chega, faça o que a maioria não faz”. (Bill Gates)

Meus Amigos

“Quem caminha sozinho pode até chegar mais rápido, mas aquele que vai acompanhado dos amigos, com certeza vai mais longe”

Minha equipe de trabalho

“Obrigado por me fazer sonhar, sentir melhor, crescer, rir, acreditar, querer mudar, ir em frente, compartilhar”.

Minha orientadora

“Faça a dieta da alegria: um sorriso a cada manhã. Um agradecimento ao final do dia”.

RESUMO

Introdução: As análises de controle ambiental de ar atmosférico são realizadas caracterizando principalmente a parte química dos aerossóis. Boa parte dos aerossóis são partículas vivas ou fragmentos de micro-organismos que utilizam o ar como veículo de dispersão. A natureza dessas biopartículas é diversa, podendo conter vírus, protozoários, bactérias, fungos e outros. Os fungos dispersos no ar são chamados de anemófilos. Como as informações sobre os anemófilos da cidade de São Paulo ainda são escassas, se faz necessário fazer um levantamento destes micro-organismos e suas relações com as condições atmosféricas e os poluentes presentes no ar, permitindo adicionar informações que poderão ser úteis para os modelos climáticos e de saúde, além de poder auxiliar novos estudos na área da epidemiologia ambiental, talvez como biomarcadores de poluição. **Objetivo:** Analisar a frequência de diferentes gêneros fúngicos na atmosfera da região metropolitana de São Paulo e correlacionar com as condições atmosféricas e os poluentes circulantes. **Materiais e Métodos:** A concentração de fungos e bactérias foi analisada no ar atmosférico de São Paulo em quatro pontos, três na cidade de São Paulo, sendo um no Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências Atmosféricas situado na Cidade Universitária, dois no bairro Cerqueira César distintos pela altitude (andar térreo e 23º andar) e na cidade de Ibiúna, no Bairro Votorantim. Os dados sobre os poluentes foram obtidos na Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (Cetesb) e das condições atmosféricas foram obtidos no banco de dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do país (INMET). Durante as coletas utilizamos impactadores de ar. Foram coletadas 736 amostras, durante seis anos. Após as coletas, foi feita a análise da concentração de fungos e bactérias. Após crescimento, uma colônia de cada gênero por dia de coleta/ponto foi enviada para identificação, totalizando 1630 isolados. Durante o processo de identificação de gênero foram utilizadas características fenotípicas e as espécies do gênero *Aspergillus* foram identificadas pelo sistema Maldi-tof. **Resultados:** De acordo com os resultados obtidos, as condições meteorológicas da cidade de São Paulo influenciam diretamente na concentração de fungos dispersos no ar. A diversidade fúngica variou com a região estudada. **Discussão:** É difícil avaliar a importância individual de cada componente do ar devido à natureza dinâmica da atmosfera. O que se sabe é que as investigações sobre bioaerossóis fúngicos e a atenção que tem sido dada às suas relações com as condições atmosféricas e a poluição são escassas. Com os resultados obtidos foi verificado que a concentração de fungos se modifica de acordo com as condições ambientais levando a crer que eles podem ser utilizados como bioindicadores de poluição. **Conclusão:** Como os fungos presentes no ar atmosférico são sensíveis às condições atmosféricas e à exposição a poluentes, eles podem ser utilizados como marcadores de poluição, seu monitoramento associado ao controle de poluentes e condições atmosféricas fortalece as pesquisas relacionadas ao ar atmosférico.

Palavras Chave: Ar atmosférico; Poluição atmosférica; *Aspergillus*; Anemófilos; Qualidade do ar e Condições atmosféricas

Monitoring of fungal species in the atmospheric air of the metropolitan region of São Paulo

Abstract

Introduction: Atmospheric air environmental control analyzes are carried out mainly characterizing the chemical part of the aerosols. Much of the aerosols are live particles or fragments of microorganisms that use air as the dispersing vehicle. The nature of these bioparticles is diverse and may contain viruses, protozoa, bacteria, fungi and others. Fungi dispersed in the air are called anemophils. As the information about anemophils in the city of São Paulo is still scarce, it is necessary to survey these microorganisms and their relationships with atmospheric conditions and pollutants present in the air, allowing the addition of information that may be useful for climate models and health, in addition to being able to support new studies in the area of environmental epidemiology, perhaps as biomarkers of pollution. **Objective:** To analyze the frequency of different fungal genera in the atmosphere of the metropolitan region of São Paulo and to correlate with atmospheric conditions and circulating pollutants. **Materials and Methods:** The concentration of fungi and bacteria was analyzed in the air of São Paulo in four points, three in the city of São Paulo, one in the Institute of Astronomy, Geophysics and Atmospheric Sciences located in the University City, two in the district of Cerqueira César distinguished by altitude (ground floor and 23rd floor) and in the city of Ibiúna, Votorantim District. Data on the pollutants were obtained from Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (Cetesb) and the weather conditions were obtained from the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (INMET) database. During the collection, we use air impactors. A total of 736 samples were collected for six years. After collection, the concentration of fungi and bacteria was analyzed. After growth, a colony of each genus per day of collection/point was sent for identification, totaling 1630 isolates. During the process of genus identification, phenotypic characteristics were used and the species of the genus *Aspergillus* were identified by the Maldi-tof system. **Results:** According to the results obtained, the meteorological conditions of the city of São Paulo directly influence the concentration of fungi dispersed in the air. Fungal diversity varied with the studied region. **Discussion:** It is difficult to assess the individual importance of each component of air due to the dynamic nature of the atmosphere. What is known is that research on fungal bioaerosols and the attention paid to its relations with weather and pollution are scarce. With the results obtained, it was verified that the fungi concentration modifies according to the environmental conditions leading to the belief that they can be used as bioindicators of pollution. **Conclusion:** As fungi present in atmospheric air are sensitive to atmospheric conditions and exposure to pollutants, they can be used as pollution markers; their monitoring associated with pollutant control and atmospheric conditions strengthens atmospheric air-related research.

Keywords: Atmospheric air; Atmospheric pollution; *Aspergillus*; *Anemophilus*; Air Quality and Atmospheric Conditions

SUMÁRIO

Resumo	6
Introdução.....	13
Bioaerossóis.....	16
Fungos Anemófilos	17
Reino Fungi	22
Classificação geral	22
Relações entre bioaerossóis e atmosfera	26
Exposição aos anemófilos	27
Estudos epidemiológicos	28
objetivo:	29
Objetivo geral	29
Objetivos específicos	29
MATERIAL E MÉTODOS	30
Pontos de coleta.....	31
Condições atmosféricas	32
Poluentes	32
Amostragem	33
Coleta.....	33
Concentração de fungos e bactérias.....	34
Identificação dos gêneros fúngicos	34
Caracterização fenotípica dos fungos filamentosos	35
Resultados.....	40
Artigo 1: Fungos anemófilos: aerossóis bioindicadores de Qualidade do ar	40
Introdução	40
Materiais e métodos.....	45
Resultados	47
Discussão.....	53
Conclusões	54
Referências Bibliográficas.....	55
Artigo 2: Incidência do gênero <i>Aspergillus</i> e suas espécies no ar atmosférico na cidade e São Paulo - Brasil e suas relações com as estações climáticas.....	63
Introdução	63
Objetivo	67
Materiais e Métodos.....	67
Resultados	69

Discussão.....	74
Conclusões	76
Referências Bibliográficas.....	77
Artigo 3: Impacto da diminuição da poluição na concentração de fungos em São Paulo durante uma greve no setor de transporte em São Paulo, Brasil, em maio de 201885	
Introdução	85
Objetivo	91
Materiais e métodos.....	91
Resultados	93
Discussão.....	100
Conclusões	101
Referências Bibliográficas.....	102
Conclusões finais.....	112
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113

Lista de Tabelas

Tabela 1 : - Pontos de coleta utilizados durante a execução da pesquisa	31
Tabela 2 - Características da macrocolônia	36
Tabela 3 - Identificação dos pontos de coleta e amostras coletadas.....	45
Tabela 4 - Distribuição das coletas por ano e estação	46
Tabela 5- Quantidade de gêneros fúngicos isolados do ar na região do RMASP em estações do ano (2013- 2018)	49
Tabela 6- Gêneros fúngicos isolados no ar atmosférico do RMASP (2013-2018).....	50
Tabela 7 - Regressão de Poisson entre os poluentes SO ₂ , NO _x E CO e a concentração de fungos.....	50
Tabela 8- Características meteorológicas de acordo com as estações do ano da RMASP (2013-2018).....	51
Tabela 9 Concentração de poluentes no ar atmosférico da RMASP (2013-2018)	52
Tabela 10 - Distribuição da concentração de poluentes encontrados nas amostras com maior concentração de fungos (200-460 ufc/m ³).....	52
Tabela 11 Distribuição da concentração dos poluentes encontrados nas amostras com menor concentração de fungos (01-20 ufc/m ³)	52
Tabela 12 - Identificação dos pontos de coleta	68

Tabela 13 Características meteorológicas e concentração de gases, fungos e bactérias de acordo com as estações do ano da RMASP (2017- 2018).....	70
Tabela 14 Concentração de bactérias isoladas no ar atmosférico de São Paulo durante um ano de coleta distribuídos por estação do ano.....	70
Tabela 15 Concentração de fungos isolados no ar atmosférico de São Paulo durante um ano de coleta distribuídos por estação do ano.....	70
Tabela 16 - Distribuição dos gêneros fúngicos isolados nas coletas do ar em São Paulo do ano durante um ano de coleta (2017-2018).....	72
Tabela 17- Distribuição das espécies isoladas do gênero Aspergillus nas amostras de ar atmosférico em um ano de coleta 2017/2018.	73
Tabela 18 Ocorrência e quantificação dos isolados de Aspergillus spp de amostras de ar em um ano de coleta 2017/2018.....	73
Tabela 19- Características geográficas e frota de caminhões das cidades estudadas.	93
Tabela 20 - Registro das médias de temperatura e umidade relativa do ar dos últimos dezoito anos na cidade de São Paulo do ar durante o mês de maio.	94
Tabela 21 - Média das condições atmosféricas durante os dias de greve de caminhoneiros na cidade de São Paulo- Brasil.....	94
Tabela 22 - Concentração de poluentes durante a greve de caminhoneiros na cidade de São Paulo- Brasil.	94
Tabela 23 - Concentração de fungos e bactérias isolados nos pontos de coleta durante a greve de caminhoneiros em maio de 2018.	97
Tabela 24 Frequência de gêneros e da concentração de fungos isolados durante a greve de caminhoneiros na Cidade de São Paulo- Brasil.	99
Tabela 25 Gêneros fúngicos isolados nos três locais de coleta durante a greve dos caminhoneiros.....	99

Lista de Figuras

Figura 1 - Classificação do Reino Fungi	25
Figura 2 - Distância entre a zona urbana e zona rural.....	32
Figura 3 - Coletor M air T Millipore® Figura 4 - Coletor Mas 100 Merck®.....	33
Figura 5 - Placas de DRBCm 7 dias / 30°C	
Figura 6 - Placa de TSB 3 dias / 30°C	34
Figura 7 - Concentração de fungos - Placa de DRBCm	34
Figura 8 - Colônias gigantes em ágar batata dextrose 7 dias de incubação a 30°C ...	35
Figura 9 - Frente e verso de colônias de <i>Aspergillus</i> Seção Flavi (A) A. Seção Nigri (B) em ágar batata dextrose	36
Figura 10 - Técnica da fita adesiva.....	37
Figura 11 - Esquema e Foto do microcultivo com ágar batata dextrose.....	38
Figura 12 - Aparelho MALDI- TOF MS	39
Figura 13 - Impactadores de ar	46
Figura 14 - Placas com amostras de ar cultivadas 30°C	47
Figura 15: Gráfico da concentração de UFC/ m3 Fungos isolados do ar na região do MASP em estações do ano entre 2013- 2018.....	48
Figura 16- Gráfico da concentração de UFC/m3 Bactérias isoladas do ar na região do RMASP em estações do ano entre 2013- 2018.....	48
Figura 17 - Gráfico da ocorrência de fungos demáceos e hialinos isolados do ar em São Paulo por estações do ano durante um ano de coleta.....	71
Figura 18 - Mapa da área de rodizio de veículos da cidade de São Paulo.....	89
Figura 19 - Foto da greve dos caminhoneiros	90
Figura 20- Fotos do ponto de coleta 23º Andar do ICESP durante o período de greve dos caminhoneiros	91
Figura 21 Fotos dos locais de coleta de ar durante a greve de caminhoneiros.....	91
Figura 22 - Mapa de localização das duas cidades estudadas	92
Figura 23 - Gráficos da concentração de poluentes durante a greve de caminhoneiros na cidade de São Paulo- Brasil.	96
Figura 24 - Foto das placas com crescimento fúngico das coletas de ar nos dias 25 e 30 de maio de 2018	96
Figura 25- Gráficos da concentração de fungos e bactérias no ar de São Paulo nos dias de greve dos caminhoneiros na Cidade de São Paulo.....	98

Figura 26 - Gráfico da distribuição dos 78 isolados de 32 amostras de ar coletadas nos pontos de coleta durante a greve de caminhoneiros.....98

Lista de siglas

CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CO	Monóxido de Carbono
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
DRBCm	Dicloran Rosa Bengala modificado
IAG	Instituto de Astronomia Geofísica e Ciências Atmosféricas
IAL	Instituto Adolfo Lutz
ICESP	Instituto do Câncer do Estado de São Paulo
INMET	Banco de dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil.
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight
MS	Mass Spectrometry
MASP	Região metropolitana de São Paulo
NO ₂	Dióxido de Nitrogênio
O ₃	Ozônio
PBAP	<i>Primary Biological Aerosol Particles</i>
PBAP-IN	<i>Primary Biological Aerosol Particles – “ice nuclei”</i>
PDA	água batata dextrose
PM ₁₀	Partículas inaláveis
SO ₂	Dióxido de Enxofre
TSB	Caldo Soja Trypticaseína
UFC	Unidade formadora de colônia

INTRODUÇÃO

A preocupação mundial com o monitoramento do ar atmosférico vem crescendo ao longo dos anos com foco principal nos possíveis efeitos adversos à saúde, causados pela exposição a gases e partículas suspensas, particularmente em grandes centros urbanos. Vários programas de monitoramento utilizam bioindicadores, pois no ar existem fatores que podem influenciar a sua frequência e presença como transmissão de luz, água, temperatura e sólidos suspensos. Utilizando bioindicadores, pode-se prever o estado de uma determinada região ou o nível de contaminação, mas efetivação deste uso em atividades de monitoramento requer estudos amplos, além de política e legislação pertinente para a escolha dos organismos que serão monitorados (OLIVEIRA et al., [s.d.]; PARMAR; RAWTANI; AGRAWAL, 2016).

No Brasil, os monitoramentos ambientais do ar apresentam programas e legislações diferentes para controle de ar em ambientes internos e externos. Em ambientes externos quem atua é o “Programa Nacional de Controle de Qualidade do Ar” (PRONAR), implementando ações de gestão para a prevenção da qualidade do ar, incluindo monitoramento ambiental e inventários de emissões de gases e partículas suspensas de MP10 e MP2,5 mensuradas em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (microgramas por metro cúbico).

Para ambientes fechados a legislação brasileira é definida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), que propôs em 2018 o controle ambiental dos edifícios com sistemas de ar condicionado com manutenção dos sistemas de climatização a partir de um plano de ação, operação e controle, com o objetivo de prevenir ou minimizar riscos à saúde dos ocupantes. O plano obedece ainda aos parâmetros regulamentados pela Resolução 9/2003 da Anvisa (CONAMA 2018).

Para o controle microbiológico - O Valor Máximo Recomendável - VMR, para contaminação microbiológica deve ser $\leq 750 \text{ ufc}/\text{m}^3$ de fungos, para a relação $I/E \leq 1,5$, onde I é a quantidade de fungos no ambiente interior e E é a quantidade de fungos no ambiente exterior. (CONAMA, 1990) .

As biopartículas presentes no ar são bioindicadores que podem ser utilizadas para coletar informações sobre ambientes ou áreas que estão sendo avaliadas. Elas aumentam ou diminuem sua concentração no ar e assim apresentam resultados detectáveis de forma indireta a presença ou ausência de algum detalhe derivado de aspectos físicos, químicos ou biológicos ou, ainda, físico-químicos, que sejam bons ou ruins, auxiliando no controle ambiental. (PARMAR; RAWTANI; AGRAWAL, 2016)

Os Estudos sobre os efeitos da poluição do ar na saúde já encontraram associações estatisticamente significantes com mortalidade infantil, mortalidade em idosos, além de hospitalizações em crianças e adultos por causas respiratórias. Segundo Emilie (2003) nas cidades de São Paulo e do Rio de Janeiro os níveis de poluição vivenciados eram suficientes para causar agravos à saúde na população, com isso medidas articuladas foram realizadas entre os diversos setores gerenciando a vida urbana, buscando melhorias no monitoramento da qualidade do ar e, conseqüentemente, na saúde da população (EMILIE et al., 2003; GRINN-GOFROÑ; BOSIACKA, 2015).

Alguns bioindicadores são escolhidos especificamente porque são extremamente sensíveis à poluição ou interferência humana, de modo que os pesquisadores que monitoram essas espécies podem identificar problemas ambientais logo no início. Plantas e animais são utilizadas como indicadores, junto com organismos como líquens e fungos, em diversos ambientes (PARMAR; RAWTANI; AGRAWAL, 2016; UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA. DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA.; OLAYA; VALENCIA, 1982)

A utilização de fungos anemófilos como indicadores epidemiológicos pode ser vista como medida de interesse quando se compara a estudos de monitoramento de líquens (associação entre algas e fungos) em regiões preservadas. Nestas áreas os líquens encontrados mostram alta sensibilidade a poluentes, não somente pela diminuição da sua vitalidade, como por sintomas externos característicos. A grande sensibilidade está estreitamente relacionada com sua biologia, mas em áreas urbanas eles já não aparecem pois os locais não exibem condições adequadas para o seu estabelecimento e desenvolvimento. Eles desapareceram aos poucos, primeiro os mais sensíveis e depois os oportunistas que não encontram espaços para o seu desenvolvimento, já os fungos anemófilos, devido a sua resistência, permanecem em todos os ambientes sofrendo variações de concentração e de espécies de acordo com as condições ambientais, mostrando que podem ser bons indicadores epidemiológicos (PARMAR; RAWTANI; AGRAWAL, 2016) .

Levando em consideração o aumento de poluentes dispersos no ar atmosférico das regiões urbanas, é necessário ampliar e desenvolver novos instrumentos de controle ambiental para a prática da vigilância epidemiológica, incorporando novos parâmetros, identificadores de riscos e métodos que permitam a detecção de mudanças ambientais e o seu acompanhamento no espaço e no tempo.

Acredita-se que os problemas de importância em saúde associados às mudanças climáticas não têm sua origem necessariamente nas alterações ambientais, mas na concentração de micro-organismos. A população humana, sob influência das mudanças apresentará os efeitos de forma exacerbada ou intensificada (ABDULWAHAB; FADLALLAH; AL-RASHDI, 2018; BARCELLOS et al., 2009).

Problemas de saúde relacionados a qualidade do ar estão diretamente ligados a concentração de material particulado, sendo o seu monitoramento colocado como uma das prioridades enquanto estratégia de política pública no controle ambiental e na saúde ambiental. Nesse sentido, fica evidente a importância do monitoramento da qualidade do ar, frente à presença de fungos, com equipamentos adequados para sua medição além do controle de partículas inaláveis e de gases (BUENO et al., 2010).

A maior exposição humana a espécies bacterianas e fúngicas se dá pelo ar atmosférico. Em termos mais gerais, argumenta-se que a exposição a níveis reduzidos de diversidade microbiana dentro e ao redor dos domicílios pode explicar parcialmente o aumento na incidência de alergias e distúrbios autoimunes em muitos países desenvolvidos. A maioria dos fungos encontrados nas residências vem de fora das mesmas, com as comunidades de fungos de poeira interna variando de maneira previsível entre as regiões climáticas e geográficas. Por outro lado, a composição das comunidades bacterianas encontradas na poeira interna da casa é influenciada pelo número e tipos de ocupantes que vivem nas residências (DUNN et al., 2015).

Bioaerossóis

Os Bioaerossóis são partículas de origem biológica suspensas no ar (*Primary Biological Aerosol Particles* – PBAP) como: micro-organismos inteiros, vivos ou mortos, como bactérias, fungos e vírus; fitoplânctons; musgos; samambaias; partes de insetos; ácaros; pólen e seus derivados como alérgenos; endotoxinas, micotoxinas; óleos essenciais e metabólitos. Estas partículas, medindo desde angstrons (vírus) até dezenas de micrômetros, em suspensão aérea podem impactar, direta ou indiretamente, no clima da Terra, bem como na saúde humana, animal e de plantas (BERNARDI, 2006; GONCALVES; MASSAMBANI, 2011; MATTHIAS-MASER et al., 2000).

Cerca de 25% das amostras de aerossóis se constituem de bioaerossóis, mas esta porcentagem pode ser ainda maior se as amostras forem provenientes de florestas, muitas vezes o maior volume atmosférico é formado por bioaerossóis como na floresta amazônica (KINSEY; PATERSON; KELLEY, 2003).

Frequentemente a dispersão pelo ar faz parte do ciclo de vida de alguns micro-organismos, consistindo em oportunidade para as espécies para buscar novas fontes de alimento e água. Os fungos que utilizam este processo de dispersão são chamados de anemófilos (MORRIS; GEORGAKOPOULOS; SANDS, 2004; MORRISON et al., 2004).

Em altitudes mais baixas, inferiores a 15m, há maior concentração de anemófilos, porém existe grande diversidade na alta troposfera e mesmo na estratosfera (MATTHIAS-MASER et al., 2000).

As concentrações de esporos ou partículas no ar atmosférico são em média de 10^3 - 10^4 por m^3 , mas estão sujeitas a variações espaciais e temporais significativas decorrentes de fatores tais como: altitude, características da região e condições meteorológicas como temperatura, radiação, umidade relativa do ar, precipitação e vento (MORRISON et al., 2004).

As variações meteorológicas podem ainda influenciar na obtenção de células fúngicas viáveis presentes no ar atmosférico durante o procedimento de coleta. A amostragem pode também ser influenciada por propriedades do solo e quantidade de matéria orgânica, entre outros fatores presentes no momento da coleta (EMYGDIO et al., 2018) .

Dois métodos que são mais utilizados para amostragem de bioaerossóis. O método passivo, que também é conhecido como gravitacional, utiliza a sedimentação dos micro-organismos presentes no ar em placas contendo meios de cultura específicos. É um método limitado principalmente devido à inexistência de um padrão no tempo de exposição, o que deteriora a precisão da quantificação desses micro-organismos (COUTO, 2007; PASQUARELLA; PITZURRA; SAVINO, 2000)

O segundo sistema utilizado para monitoramento de ar em ambientes internos é o ativo, utilizando a impactação. Este método permite controlar o volume de ar analisado. Existem diferentes formas para esta metodologia: a impactação em ágar ou meio líquido, centrifugação, filtração utilizando um filtro de membrana e a precipitação eletrostática. Dentro deste modo de amostragem, o processo mais utilizado é em meio sólido por amostradores do tipo linear de 1, 2 ou 6 estágios, que visam simular o trato respiratório humano em função do tamanho das partículas retidas, mas para controle ambiental os equipamentos de apenas um estágio se torna mais adequado devido ao custo, precisão e a sua mobilidade (HALEEM KHAN; MOHAN KARUPPAYIL, 2012b; NUNES et al., 2005).

Os métodos utilizados nas coletas microbiológicas são desenvolvidos para controle de ambientes fechados com ou sem sistemas de ar condicionado. O mais indicado é o de impactação em agar. (LEE et al., 2004).

No Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente, por meio da Resolução nº 491,2018, estabeleceu 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 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (CONAMA ,2018).

Como os anemófilos são os fungos que fazem parte dos bioaerossóis é necessário estudar suas relações com o ambiente.

Fungos Anemófilos

O conhecimento sobre anemófilos é crescente, pois em sua maioria são alergênicos e a procura de novos indicadores ambientais vem despertando interesse no estudo destes fungos, já que a frequência e a diversidade dos mesmos podem estar associadas com fatores ambientais (BERNARDI, 2006).

Os propágulos fúngicos são dispersos no ambiente por animais, homens, insetos, água e pelo ar atmosférico. Mas alguns fatores influenciam este processo, tais como: forma, cor, quantidade e dispositivos especiais, como flagelos, ornamentação das paredes e mucilagem. Este transporte depende de mais algumas variáveis tais como: velocidade de dispersão, viabilidade do esporo, distância a ser vencida e barreiras geográficas. O número de propágulos transportados pode ser alterado também de acordo com a umidade relativa do ar ou com as variações da temperatura média, desta forma influenciando negativamente (RUBENS CÁURIO LOBATO , VAGNER DE SOUZA VARGAS, 2009).

Os fungos podem se dispersar pelo ambiente utilizando seus propágulos, não implicando a sua inoculação, penetração ou infecção. Os elementos de dispersão utilizados são esporos, artrósporos, blastósporos, esclerócios, clamidósporos e até mesmo seu micélio. A liberação pode ser passiva ou ativa. Apesar do fato de que os fungos estão, em sua maioria, presentes exclusivamente no ambiente, há razões para acreditar que um pequeno número deles se adaptou à vida dentro do corpo dos mamíferos e, portanto, são patógenos facultativos (BARAN et al., 1996).

A eficiência desta dispersão está associada à grande produção de esporos e propagação de porções miceliais, sendo estes disseminados quando o fungo encontra-se principalmente na fase assexuada (MM et al., 1990).

Os componentes fúngicos presentes na atmosfera não são apenas micro-organismos vivos e inteiros, mas também fragmentos que podem determinar características importantes. Em geral, a diversidade inerente ao tamanho das partículas fúngicas, associada à forte influência do diâmetro aerodinâmico no destino, ao transporte e à força da fonte de partículas fúngicas, indicam que o tamanho é um determinante importante de como composições taxonômicas de fungos são distribuídas na atmosfera. Todos os fungos são participantes ativos no ciclo dos elementos na natureza. Cerca de 28 a 50 Tg de materiais fúngicos são emitidos anualmente na atmosfera terrestre e em algumas regiões. As partículas fúngicas podem constituir boa parte das emissões primárias de aerossol orgânico (BERNARDI, 2006; ELBERT et al., 2006; HEALD; SPRACKLEN, 2009; YAMAMOTO et al., 2012a).

Na natureza existem fatores que afetam não só a dispersão de fungos, mas também sua captura visando seu cultivo. O comportamento aerodinâmico é determinado pelas propriedades intrínsecas tais como: tamanho, morfologia,

higroscopia e densidade, sob a influência de condições ambientais prevalentes (JONES; HARRISON, 2004a).

A presença e a identificação de fungos na atmosfera podem ser reveladas quando estes são coletados da atmosfera e cultivados em meios de cultura. A técnica mais indicada para coleta parece ser a utilização de equipamentos impactadores, com placas com meio de cultura enriquecido e seletivo (MOURA, M.L., CALDAS et al., 2015).

O uso de marcadores também pode ser uma opção, como o ergosterol, partícula de esterol que faz parte da parede celular dos fungos. Esta detecção pode ser realizada por espectrofotometria ultravioleta e infravermelha, associada a métodos cromatográficos como camada delgada líquida, de alta eficiência. A quantificação do ergosterol tem sido utilizada como indicador da concentração fúngica na agricultura, o mesmo método pode ser adaptado a estudos com ar atmosférico (DILKIN et al., 2003).

Alguns gêneros fúngicos pertencentes ao grupo dos anemófilos se apresentam em maior frequência no ar atmosférico e são de importância nesta linha de pesquisa.

A espécie de *Aspergillus* que geralmente é isolada de micoses humanas é o *Aspergillus fumigatus*. Antigamente este fungo era responsável por 90% dos casos; entretanto, em relatos atuais, o *A. fumigatus* foi relatado em 56% dos pacientes, seguido por *Aspergillus flavus* (19%), *Aspergillus terreus* (16%), *Aspergillus niger* (8%) e *Aspergillus versicolor* (1%) (GALIMBERTI et al., 2012).

Este gênero fúngico pode ser encontrado com relativa facilidade no ar exterior e interior de ambientes residenciais ou públicos como hospitais, o que justifica a propagação dos seus conídios por meio das correntes de ar. No ambiente hospitalar, fungos do gênero *Aspergillus* são facilmente aerossolizados e, pela sua pequena dimensão, os conídios podem atingir os alvéolos pulmonares. Assim, a principal via de penetração dos esporos fúngicos é a via inalatória, sendo o aparelho broncopulmonar o mais susceptível à aspergilose (RAJA; SINGH, 2006).

A frequência e mortalidade por uma infecção por *Aspergillus* varia de acordo com a causa e o grau de imunossupressão. Em pacientes com leucemia aguda ela ocorre em 5% a 24% dos casos, atingindo uma taxa de mortalidade entre 30% e 40%, enquanto no transplante de medula óssea, a incidência é de cerca de 10% e a mortalidade é de 60%; em órgão sólido transplantado é encontrado em 11% a 14% dos casos (GALIMBERTI et al., 2012).

Algumas espécies do gênero *Fusarium* causam um amplo espectro de infecções em humanos, incluindo micoses superficiais e disseminadas. A forma clínica da fusariose depende em grande parte da imunidade do paciente (NUCCI; ANAISSIE, 2007).

Dentro deste gênero a espécie de maior incidência em micoses humanas é a *F. solani* presente em 50% dos casos, e a segunda mais frequente é a *F. oxysporum* presente em 20%, juntamente com o *Fusarium verticillioides* que também aparece com a mesma frequência. O gênero *Fusarium* também pode ser o responsável por micoses, incluindo onicomicose, infecção da ferida operatória e ulcerações cutâneas, queratite, micetoma eumicótico, osteomielite, osteoartrite e infecções por corpo estranho (lentes de contato). As infecções sistêmicas por *Fusarium* frequentemente afetam a pele, os seios da face e os pulmões. Na maioria dos casos, a causa da inoculação é desconhecida; entretanto, inalação, ingestão e entrada do fungo através do trauma cutâneo estão entre os mecanismos propostos (GALIMBERTI et al., 2012).

Os fungos pertencentes ao gênero *Trichoderma* spp. raramente são responsáveis por infecções humanas, surgem apenas em indivíduos gravemente enfraquecidos ou após complicação de diálise (HOOG et al., 2014).

A maioria dos isolados de *Trichoderma* tem sua origem em solos contaminados, mas o contato com seus esporos ocorre com maior frequência pelo ar. A exposição à água contaminada ou à comida também deve ser levada em consideração, pois também são veículos deste gênero. Em 2008 mais de 100 espécies já tinham sido reconhecidas dentro deste gênero. Foram relatadas a existência de cinco sessões de *Trichoderma* como patógenos humanos: *T. longibrachiatum*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma pseudokoningii* e *Trichoderma viride*. O *T. longibrachiatum* é a espécie mais comum em casos de infecções invasivas (DRUZHININA; KOPCHINSKIY; KUBICEK, 2006; KUBICEK; KOMON-ZELAZOWSKA; DRUZHININA, 2008).

O papel dos fungos já está visível quando se trata de saúde humana, nos impactos atmosféricos e ecológicos, bem como em suas respectivas tecnologias: captura e monitoramento. Mais recentemente, pesquisadores de diferentes campos começaram a trabalhar juntos para resolver novos desafios e abordar os principais lacunas, como sua disseminação como bioaerossol, detecção em tempo real, micróbios internos, bioaerossol e biodefesa, faltando também uma linha histórica que possa fornecer a frequência de certos gêneros fúngicos (YAO, 2018).

Devido à carência de trabalhos no estado de São Paulo que possam gerar bancos de dados sobre os bioaerossóis em geral e sobre a microbiota anemófila (os bioaerossóis de origem fúngica) em áreas externas e dada importância de estudos que possam avaliar a contaminação ambiental, a exposição de indivíduos às infecções fúngicas oportunistas, aos processos alérgicos, faz-se necessário realizar um estudo sobre esta aeromicrobiota, contribuindo com futuros estudos de controle e saúde ambiental.

As pesquisas que estudam os fungos anemófilos envolvem diferentes campos do conhecimento como: a microbiologia, às ciências atmosféricas, as ciências médicas, a epidemiologia, a ciência imunológica, etc. (GONCALVES; MASSAMBANI, 2011).

Reino Fungi

Classificação geral

Os micro-organismos que fazem parte do Reino Fungi são seres vivos heterotróficos, isto é, dependem de compostos orgânicos de carbono para a sua nutrição. Eles são seres eucariontes, logo possuem genoma organizado e núcleo rodeado por membranas. Suas divisões celulares acontecem por meio dos processos de mitose ou meiose, processos estes que são responsáveis pela reprodução e que caracterizaram este reino, estudado desde 1969 por Robert Whittake (WHITTAKER, 1969).

Ao longo de milhões de anos os fungos sofreram mutações e evoluíram, e durante sua evolução foram aumentando sua árvore genealógica. Existem 100.000 espécies descritas, das quais cerca de 100 (0,01%) já foram relacionadas com micoses humanas, animais e vegetais (HOOG et al., 2014).

Na literatura o Reino Fungi incluía fungos, líquens e algas do gênero *Prototheca*, mas atualmente este reino é visto como uma única entidade filogenética. Vários organismos com aparência de fungos foram reclassificados, como é o caso dos *Actinomyces*, que são bactérias. Entretanto, outros organismos, anteriormente considerados de natureza animal, parecem ter relações inesperadas com os fungos. Por exemplo, o gênero protozoário *Microsporidium* e o *Pneumocystis* (KEELING; LUKER; PALMER, 2000).

Durante o processo evolutivo do Reino Fungi algumas alterações foram importantes para a classificação atual. Em 2007, embora não houvesse consenso entre os micologistas, decidiu-se desmembrar o filo *Deuteromycota*, o qual reunia fungos que não apresentavam nenhuma forma de reprodução sexuada. Tal decisão foi finalmente implementada em 2011. De maneira provisória estes fungos eram considerados imperfeitos por não serem monofiléticos ou não apresentarem um único ancestral comum, portanto um táxon provisório. No filo *Deuteromycota* ficavam os fungos que ainda não apresentassem estruturas sexuadas, quando isso acontecia eram reagrupados em *Ascomycota* ou *Basidiomycota* (HAWKSWORTH, 2012).

Desta forma, a classificação apresentada em 2007 tem sido mantida até os dias atuais, com uma única divisão a *Eumycota*, subdividida em sete filós: *Chytridiomycota*,

Neocallimastigomycota, *Blastocladiomycota*, Microsporídia, *Glomeromycota*, *Ascomycota* e *Basidiomycota* (HIBBETT et al., 2007).

Assim, dentro da árvore filogenética dos fungos encontram-se duas linhagens superiores: *Ascomycota* e *Basidiomycota*, que apresentam milhares de espécies filogeneticamente bem caracterizadas, com hifas septadas com regularidade, diferentemente dos outros cinco filos (*Chytridiomycota*, *Neocallimastigomycota*, *Blastocladiomycota*, *Microsporídia*, *Glomeromycota*) considerados inferiores principalmente por não apresentarem septo em suas hifas (HIBBETT et al., 2007). Figura 01.

Os fungos do filo *Chytridiomycota* são de ambiente aquático e possuem aspecto gelatinoso, além disso, podem em algum momento de sua existência apresentar flagelo. Ex: *Chytrium* spp.

Os *Glomeromycotas* incluem os fungos do antigo filo *Zygomycota*, não possuem hifas septadas e seus esporos são produzidos em esporângios. A reprodução deste filo é somente assexuada. Eles associam-se à maioria das raízes vegetais. Ex: *Mucor* spp.

O filo *Microsporídea* possui colônias que se espalham concentricamente e frequentemente formam dois últimos anéis de colônias de satélites antes que o crescimento seja cessado, são eucariontes e não possuem mitocôndria e tampouco flagelo (SYMONDS et al., 2008).

Os fungos do filo *Neocallimastigomycota* são encontrados no sistema digestivo dos grandes mamíferos herbívoros, e possivelmente em outros ambientes anaeróbicos, terrestres ou aquáticos. Eles são flagelados, Ex: *Neocallimastix* spp.

Os representantes do filo *Blastocladiomycota* apresentam reprodução assexuada com zoósporos, com apenas um flagelo. São habitantes restritos de água e solo, além de parasitas de insetos. Ex: *Coelomomyces* spp.

As duas linhagens superiores na árvore filogenética molecular dos Eumycotas formam o subgrupo Dikarya, são eles os *Ascomycetos* e os *Basidiomycetos*. Estes apresentam hifas septadas e regulares, são unicelulares ou meristemáticos e apresentam os dois modos de reprodução.

O filo *Ascomycota* representa o maior grupo do reino Fungi. Sua principal característica é apresentar bolsa de esporos sexuais do tipo asco, contendo ascósporos (esporos sexuais). São considerados cosmopolitas, apresentando relações saprófitas ou mutualistas (com algas unicelulares), formando os líquens. Ex: *Aspergillus*; *Fusarium* e *Trichoderma*.

Os representantes do filo *Basidiomycota* são considerados cosmopolitas e saprófitas. Eles apresentam estruturas conhecidas como basídios, contendo basidiósporos (esporos sexuais). Ex: *Agaricus* sp, *Cryptococcus* spp. e *Rhodotorula* sp.

Segundo Hawksworth (1991), em 1991 já existiam 73.000 espécies de fungos descritos e aceitos e, possivelmente, mais de um milhão de táxons, dos quais apenas 600 estavam implicados como agentes de doenças fúngicas (HAWKSWORTH, 1991).

Em 2009 o *Dictionary of the Fungi* publicou a existência de 97.330 espécies de fungos, considerando também fatores que até hoje são dificuldades nos procedimentos laboratoriais, como o isolamento e a incapacidade de aplicar métodos moleculares, diminuindo o número de espécies em certos grupos. Contudo, não há qualquer dúvida que ascomicetos e basidiomicetos constituem a vasta maioria da diversidade de fungos (KIRK, P.M. ; CANNON, P.F. ; MINTER, D.W. ; STALPERS, 2009).

De acordo com a literatura dos micologistas, a todo momento estão ocorrendo avanços significativos na descoberta de novas espécies. Estimativas mais recentes, baseadas em métodos de sequenciamento de alta produtividade, sugerem que existem até 5,1 milhões de espécies de fungos (BLACKWELL, 2011).

A nomenclatura dos fungos com esta classificação baseia-se principalmente na filogenia molecular, em vez da morfologia e ciclos de vida.

As árvores filogenéticas são intrinsecamente instáveis, dependendo da seleção de espécies e genes a serem comparados, com isso os estudos taxonômicos nem sempre devem modificar os nomes dos fungos até que um grau suficiente de estabilidade e consenso seja alcançado (DE HOOG et al., 2015; HAWKSWORTH, 2012).

Figura 1 - Classificação do Reino Fungi

(HIBBETT et al., 2007).

Relações entre bioaerossóis e atmosfera

Neste setor os bioaerossóis têm sido extensivamente estudados pela sua atuação como nucleadores de gelo (PBAP-IN - *Primary Biological Aerosol Particles* – “ice nuclei”). Eles permitem à água congelar em temperaturas mais quentes do que normalmente ocorre.

Enquanto a maioria das partículas inorgânicas precisam de temperaturas abaixo de -10°C para o congelamento, os PBAP-IN têm capacidade de congelar a partir de -2°C e, portanto, são capazes de alterar o regime de precipitação. Por conseguinte, fitopatologistas e meteorologistas especulam a contribuição das plantas e micro-organismos na formação de gelo e chuva, constituindo o que corrobora a hipótese de bioprecipitação. Existem evidências de que os PBAP-IN realmente afetam os processos físicos nas nuvens gerando precipitações (HUFFMAN et al., 2013).

Durante os eventos de precipitação os micro-organismos que estão presentes no ar são removidos e voltam ao solo, tendo seu fluxo reduzido. Taxas de deposição seca são cerca de 1-10 bactérias por m³ a cada segundo, sugerindo que uma quantidade muito maior de bactérias esteja subindo para a atmosfera do que caindo sobre a superfície da terra durante o dia (AMATO et al., 2007; LIGHTHART; SHAFFER, 1995; LINDER et al., 2005; SESARTIC; LOHMANN; STORELVMO, 2013).

Do ponto de vista meteorológico e climático, os aerossóis orgânicos possuem papel essencial na formação de nuvens. Para ocorrer a formação de gotas de chuva é necessário não apenas que o ar esteja saturado de vapor de água, mas que também exista alguma superfície para que o vapor condense. Na natureza, quem desempenha o papel dessa superfície de condensação é uma fração dos aerossóis denominada de Núcleos de Condensação de Nuvens, partículas sobre as quais o vapor se deposita formando gotículas de nuvens (THEOTÔNIO et al., 2007).

A capacidade de algumas bactérias serem nucleadoras de gelo já está bem estabelecida, principalmente no que se refere a *Pseudomonas syringae*. Esta bactéria é um patógeno de plantas conhecida pela sua capacidade de crescer epifiticamente em diversas plantas e por sua atividade de nucleação de gelo. A atividade de nucleação de chuva, ao contrário de outros substratos, sugere fortemente que *P. syringae* atua diretamente no ciclo da água como nucleador de gelo nas nuvens (LINDOW; ARNY; UPPER, 1982; POULEUR et al., 1992)

Os fungos anemófilos por sua vez também colaboram com as atividades climáticas fornecendo características que facilitam o acúmulo de água, o exemplo mais comum é o gênero *Fusarium*. A produção de núcleos de gelo estáveis por crescimento rápido associada ao *F. acuminatum* e o *F. avenaceum* pode ser útil na indústria alimentícia, no controle de insetos ou outras aplicações comerciais. O estudo deste tipo de núcleos deve ajudar a explicar o fenômeno da nucleação biológica (POULEUR et al., 1992).

Exposição aos anemófilos

As pesquisas referentes aos Bioaerossóis na última década permitiu melhor compreensão dos papéis desta fração atmosférica na saúde humana (YAO, 2018).

O estudo Global Burden of Disease em 2015, mostrou que as Infecções do trato respiratório inferior, dentre todas as doenças, tiveram a quarta maior incidência mundial, com mais de 290 milhões de casos, sendo responsáveis por 4,9% do total de mortes no mundo, representando um terço das doenças infecciosas (CORRÊA et al., 2017).

Enquanto bactérias e vírus são os principais agentes infecciosos que causam doenças respiratórias, as infecções fúngicas também podem ser um problema. Partículas fúngicas se espalham pelo ar e podem ser as causadores de doenças respiratórias como é o caso dos fungos pertencentes ao gênero *Aspergillus*, em especial a espécie *fumigatus* que já representa risco definido nos ambientes hospitalares. Pacientes com imunodeficiências são particularmente vulneráveis à aquisição de infecções fúngicas (NEVALAINEN; TÄUBEL; HYVÄRINEN, 2015).

O início destas infecções se dá com a inalação de partículas viáveis. Quando uma partícula penetra no trato respiratório, o tamanho é relevante, as partículas maiores que 10 µm são retidas na boca e nariz; partículas com menor tamanho penetram no trato respiratório e partículas menores que 2-3 µm penetram na região alveolar. Partículas ultrafinas, geralmente formadas por nucleação, permanecem mais tempo na região alveolar, podendo ser transferidas para a circulação (AGUIAR; LAÍS SINHORINI, 2015).

Algumas informações sobre as infecções respiratórias são bem definidas e claras. Em geral, as micoses respiratórias são consideradas sinônimo de doença

pulmonar invasiva causadas por *Aspergillus* e outros fungos do grupo Mucorales. Este termo “micose respiratória” foi ampliado para incluir não apenas doença invasiva, mas também entidades menos reconhecidas, como asma grave com sensibilização fúngica, tosse crônica associada ao fungo, micose broncopulmonar alérgica e rinossinusite fúngica alérgica (CHOWDHARY; AGARWAL; MEIS, 2016) .

Estudos epidemiológicos

A presença de bioaerossóis tem ocupado lugar de destaque quando se trata também de saúde e em particular no meio urbano. O reconhecimento destes riscos tem dado início a estudos epidemiológicos nas mais variadas áreas do conhecimento (YAO, 2018).

Os estudos realizados nas décadas de 1960 a 1990 sobre os micro-organismos presentes no ar atmosférico mostraram claramente a onipresença de fungos em todos os tipos de amostras de ar externo ou interno, rurais ou urbanas, ambientes domésticos ou comerciais. Existem, no entanto, diferenças consideráveis entre a microflora destes diferentes ambientes. Na maioria dos ambientes, o *Cladosporium* é o predominante seguido de *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, e Micélio estéril, sendo que a ordem e a frequência variam com a localização (CABRAL, 2010).

Os bioaerossóis fúngicos são sazonais e normalmente formados por fungos que podem ser cultivados. Alguns conídios fúngicos possuem fatores de resistência que facilitam a colonização onde são depositados. Os de maior frequência são os gêneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Penicillium* (GREEN et al., 2009).

A transmissão de micro-organismos aos seres humanos pode ocorrer por meio de gotículas geradas a partir da fonte ambiental. Muitos estudos reconhecem o ar do ambiente como fonte de propagação e defendem que os bioaerossóis tornam-se mais perigosos de acordo com a concentração destes micro-organismos cultiváveis no local (LUOMA; BATTERMAN, 2001; OLIVEIRA; KOVNER; SOUZA, 2010; ROSS et al., 2004).

OBJETIVO:

Objetivo geral

Analisar a concentração de fungos e bactérias em amostras ar da região metropolitana de São Paulo e correlacionar com as condições atmosféricas e os poluentes circulantes.

Objetivos específicos

- Analisar a concentração de fungos e bactérias desenvolvidas em amostras de ar da região metropolitana de São Paulo
- Identificar os gêneros de fungos isolados e as espécies do gênero *Aspergillus*, utilizando o Sistema MALDI TOFF.
- Relacionar as condições atmosférica e a concentração de poluentes com os fungos isolados no ar atmosférico na zona urbana e rural de São Paulo.
- Comparar a concentração de fungos e bactérias nos ambientes estudados nas diferentes estações climáticas.

MATERIAL E MÉTODOS

Os dados obtidos para a realização deste estudo foram retirados de dois projetos realizados em parceria entre o Instituto Adolfo Lutz (IAL), Faculdade de Saúde Pública (FSP-USP) e Instituto de Astronomia Geofísica e Ciências Atmosféricas-USP (IAG-USP).

Projeto 1: “Narrowing The Uncertainties On Aerosol And Climate Changes In São Paulo State – Nuance-Sps”. Fapesp Nº 2008/58104-8.

Para esta pesquisa, as análises das amostras de ar atmosférico tiveram como objetivo associar a concentração de fungos e bactérias com os poluentes e as condições atmosféricas.

As coletas de ar atmosférico foram realizadas principalmente nas estações de inverno e primavera, em dois pontos da cidade, no terraço do Instituto de Astronomia e Geofísica (IAG) – Cidade Universitária e sobre o prédio do Instituto do Câncer (ICESP) – Bairro Cerqueira Cesar, durante quatro anos. Os dois locais possuem 12 km de distância entre eles.

Projeto 2: “Sampling and modeling primary biological aerosol particles (Pbaps) at south-southern Brazil: Associated to improvements of climate models”, planejado pelo IAG e enviado para a Fapesp, este foi aprovado em abril de 2018 (Fapesp: 2016/06160-8).

Antes da aprovação do projeto 2 foi verificada a necessidade de avaliar um período com coletas contínuas em diferentes altitudes, com isso no segundo semestre de 2017 as amostras foram coletadas de forma simultânea durante um ano em três locais diferentes, completando as análises deste estudo.

O primeiro ponto de coleta estava localizado na cidade de Ibiúna, zona rural de São Paulo, a 61km de distância dos dois pontos de coleta na zona urbana localizados no bairro Cerqueira Cesar, diferenciados pela altitude (Térreo e 23º andar).

O estudo foi concluído com 736 amostras de ar que geraram 1630 isolados de fungos, identificados até gênero e 309 *Aspergillus* que foram classificados até a espécie em uma parceria com a Cetesb, pelo Sistema MALDI TOF.

Os resultados deste estudo foram divididos em três artigos distintos enfocando principalmente a importância das comunidades fúngicas e a distribuição de potenciais biomarcadores de poluição.

Artigo 1: Fungos anemófilos: aerossóis bioindicadores de poluição atmosférica.

Artigo 2: Incidência do gênero *Aspergillus* e suas espécies no ar atmosférico na cidade e São Paulo - Brasil e suas relações com as estações climáticas.

Artigo 3: Impacto da diminuição da poluição na concentração de fungos em São Paulo durante uma greve no setor de transporte em São Paulo, Brasil, em maio de 2018.

Pontos de coleta

Esta pesquisa analisou 736 amostras de ar atmosférico em três pontos distintos da cidade de São Paulo e um em Ibiúna-SP, visando conhecer os gêneros fúngicos circulantes e as espécies do gênero *Aspergillus* presentes no ar. Tabela 1 e Figura 3

Ponto 1 – Instituto de Astronomia Geofísica e Ciências Atmosféricas – USP no bairro do Butantã, São Paulo.

Pontos 2 e 3 – Estes pontos de coleta são distintos pela altitude (andar térreo e 23º andar), localizados no prédio do ICESP (Instituto do Câncer), situado no bairro Cerqueira César, São Paulo

Ponto 4 – Chácara Dona Maria situada na cidade de Ibiúna no Bairro Votorantim, a 60,6 quilômetros do ponto 2.

Tabela 1 : - Pontos de coleta utilizados durante a execução da pesquisa

Ponto	LOCAL	LOCALIZAÇÃO	ALTITUDE
Ponto 1	IAG	23°55'93" S 46°73'33" W	729
Ponto 2	ICESP	23°55'60" S 46°66'81" W	737
Ponto 3	ICESP		849
Ponto 4	IBIÚNA	23°39'23" S 47°13'21" O	996

Figura 2 - Distância entre a zona urbana e zona rural

Condições atmosféricas

Os dados sobre as condições atmosféricas foram obtidos no banco de dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do país (INMET). <http://www.inmet.gov.br/projetos/rede/pesquisa/inicio.php>.

As variáveis atmosféricas utilizadas neste estudo foram: precipitação de chuva, temperatura de bulbo seco, temperatura do bulbo úmido, temperatura máxima e temperatura mínima.

A temperatura e a umidade foram registradas por termo higrômetro portátil durante as coletas

Poluentes

Os dados sobre os poluentes foram obtidos na CETESB em relatórios diários online. O sistema apresenta valores diários dos poluentes e parâmetros meteorológicos para a estação selecionada. Neste estudo utilizamos os dados da Estação Cerqueira César para os pontos localizados na cidade de São Paulo e os dados da estação de Sorocaba para acompanhar as coletas de Ibiúna. Os dados de O_3 para os pontos de São Paulo foram obtidos na estação de Pinheiros, pois a Cerqueira César não disponibiliza estas medições.

Os seguintes poluentes foram analisados: Ozônio (O_3); Óxidos de Nitrogênio (NO_x); Monóxido de Carbono (CO); Dióxido de Enxofre (SO_2); Partículas Inaláveis (MP_{10}) <https://cetesb.sp.gov.br/ar/>.

Amostragem

Coleta

Como possuíamos dois equipamentos diferentes para a realização das coletas, foi feita uma avaliação de desempenho em 2015. Os dois equipamentos apresentaram capacidade de amostragem semelhantes podendo ser utilizados em amostras simultâneas (MOURA, M.L., CALDAS et al., 2015).

O *M air T* - Millipore® é do Núcleo de Micologia do Instituto Adolfo Lutz (IAL) e o Mas 100 - Merck® é do Instituto de Astronomia Geofísica e Ciências Atmosféricas (IAG) – USP (Figuras 3 e 4).

Figura 3 - Coletor M air T Millipore®

Figura 4 - Coletor Mas 100 Merck®.

As amostras de ar para isolamento de fungos e bactérias foram impactadas em placas descartáveis contendo 20mL de meio de cultura. Para analisar a concentração de fungos foi utilizado o meio de cultura Dicloran Rosa Bengala modificado (DRBCm) para bactérias o ágar TSB (Caldo caseína de soja + agar e Cicloheximida (Castro e Silva DM et al., 2015) (Figuras 5 e 6).

Para coletar a placa de ágar foi colocada dentro do impactador. O volume final de ar foi de 250L ($0,25m^3$), o que permitiu analisar a concentração de ufc/ m^3 e o isolamento das unidades formadoras de colônia.

Figura 5 - Placas de DRBCm 7 dias / 30°C

Figura 6 - Placa de TSB 3 dias / 30°C

Concentração de fungos e bactérias

As placas coletadas com amostras de ar foram encaminhadas para o laboratório de Micologia do Instituto Adolfo Lutz (IAL) e incubadas em estufa bacteriológica ajustada à $30^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por até 7 dias para isolamento e identificação de gênero e espécie.

Seguindo o princípio de que cada organismo viável presente no ar tem a capacidade de formar uma colônia, a concentração foi expressa em ufc/m³. Este número foi inserido na fórmula para estimação de UFC/m³ de ar, pela fórmula: $x \text{ UFC} / L = x \text{ UFC} / 0,001\text{m}^3 = x \text{ UFC } 10^{-3}\text{m}^3$ (Figura 7).

Figura 7 - Concentração de fungos - Placa de DRBCm

Identificação dos gêneros fúngicos

Os micro-organismos pertencentes ao reino Fungi são seres complexos e sua identificação é problemática devido sua complexidade biológica. A classificação taxonômica está em constante mudança, principalmente depois da introdução dos métodos moleculares, em que as “espécies crípticas” são discriminadas.

Para tanto, este estudo foi baseado na abordagem polifásica (uma combinação de diferentes dados moleculares, morfológicos, fisiológicos e ecológicos), com uma pertinente comparação dos isolados com cepas tipo e/ ou neótipo utilizadas como referência.

Os fungos foram identificados na primeira triagem em gêneros isolados, utilizando basicamente uma caracterização fenotípica basal. Os isolados do gênero *Aspergillus* foram encaminhados para outras análises em busca da identificação de espécie.

Caracterização fenotípica dos fungos filamentosos

A identificação clássica de fungos filamentosos leva em consideração, principalmente, as características morfológicas das estruturas reprodutivas (sexual e assexual). Dessa forma, para se identificar estas estruturas, os isolados devem ser cultivados a partir de colônias puras em meios de cultura apropriados e corados com técnicas específicas para manutenção das estruturas. Em muitos casos pode não ocorrer a produção de estruturas reprodutivas, sendo necessário assim alterar as condições de cultivo. Para induzir a esporulação pode ser utilizado meio de cultura pobre em nutrientes, aumento da iluminação da cultura, irradiação com doses reduzidas de luz ultravioleta. Fatos estes possíveis somente para espécies/isolados cultiváveis. Em todos os casos foi feita uma preparação para observação microscópica das estruturas. As estruturas observadas foram comparadas com aquelas da literatura padrão, por meio de chaves de identificação (HOOG et al., 2014).

Colônia gigante

Neste procedimento uma colônia representativa de cada de fungo filamentoso foi retirada da placa. Cada isolado foi então semeado individualmente em placas de Petri contendo PDA (ágar batata dextrose) com cloranfenicol (Figura 8).

Figura 8 - Colônias gigantes em ágar batata dextrose 7 dias de incubação a 300C

As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a +- 30°C e avaliadas de 3 a 7 dias. Os procedimentos de identificação fenotípica incluíram características macroscópicas observadas a olho nu ou na lupa estereoscópica. Foram analisados aspectos de textura, pigmentação e topografia de acordo com as referências bibliográficas (Hoog *et al.* 2014). (Tabela 3 e Figura 9).

Tabela 2 - Características da macrocolônia

Textura	Pigmentação	Topografia
<ul style="list-style-type: none"> • Algodonosas • Penugentas • Arenosas • Veludasas 	<ul style="list-style-type: none"> • Uniforme • Presenças de mais de uma cor • Distribuição radiada de intensidade de cor • Monocromático • Mudança de cor durante o desenvolvimento do fungo 	<ul style="list-style-type: none"> • Cerebriformes • Rugosas • Apiculadas

Figura 9 - Frente e verso de colônias de *Aspergillus* Seção Flavi (A) A. Seção Nigri (B) em ágar batata dextrose

Micromorfologia da colônia gigante utilizando fita adesiva

Após a visualização e as devidas anotações sobre os aspectos da colônia, foi feita a aplicação de um pedaço de fita adesiva sobre o fungo, conforme a figura 10. A cola da fita ficou em contato com a cultura fazendo a captura de partes do fungo quando retirada do ágar. Foi colocado então a fita adesiva sobre uma lâmina com a cola para cima, só então uma gota do corante azul de lactofenol foi depositado sobre a cola e

depois uma lamínula. A observação ao microscópio óptico foi feita no aumento de 400 vezes.

Este método auxilia na identificação do gênero do fungo observado, porém a colônia fica contaminada e deve ser desprezada.

Figura 10 - Técnica da fita adesiva

Microcultivo

Para este procedimento é necessário colocar uma lâmina dentro de uma placa de Petri esteril, depois um bloco de ágar batata dextrose sobre a lâmina.

A amostra fúngica foi semeada com a utilização de uma alça ou palito de churrasquinho esteril e coberto com uma lamínula de vidro. A câmara úmida dentro da placa foi feita com uma porção de algodão úmido (HOOG et al., 2014) (Figura 11).

Após crescimento, as estruturas foram examinadas diretamente no microscópio para a análise do tipo de micélio e estruturas de reprodução. Para a classificação dos fungos são levadas em consideração as características taxonômicas e a produção de esporos assexuados ou sexuados. A estrutura celular, o tamanho das células, o tipo de parede celular, a presença de pigmentação no esporo e/ou na hifa, presença de septos e a formação do corpo de frutificação foram avaliados neste ensaio laboratorial. Para interpretação dos dados foram utilizadas as chaves de identificação segundo Hoog et al. (2014).

Figura 11 - Esquema e Foto do microcultivo com ágar batata dextrose

Identificação de espécies do gênero Aspergillus

Para a identificação das espécies foi utilizando o sistema automatizado MALDI –TOF.

O equipamento utilizado foi o aparelho MALDI Biotyper (Bruker Daltonics, EUA) (Figura 9), lotado na Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (Cetesb), em uma parceria acordada durante a execução do estudo. A técnica de espectrometria de massa (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry ou MALDI-TOF MS) foi estabelecida há mais de um século. Em 1980 foi desenvolvida a Ionização/Dessorção de Matriz Assistida por Laser com espectrometria de massa por tempo de voo de proteínas, permitindo a análise de biomarcadores relativamente grandes, e estudos posteriores avaliaram a possibilidade do uso para identificação de espécies bacterianas e fúngicas. (BIZZINI; GREUB, 2010; SENG et al., 2009)

O inóculo do fungo foi retirado com um palito de churrasco de um repique em ágar batata dextrose, incubado por 5 dias a 30°C. A inoculação foi feita em 300mL de água Milli-Q. A solução então foi homogeneizada até que se dissolveu, neste momento foi adicionado 900uL de etanol a 99%. Após a adição, a solução foi centrifugada a 18.000rpm por mais 2min. O sobrenadante descartado e centrifugado novamente.

O tubo ficou aberto por cinco minutos para evaporação total do etanol. Após este tempo adicionou-se 50uL de ácido fórmico a 70% e foi colocado no vortex por 1min. Depois desse período foram adicionados 50uL de acetonitrila e levados ao vortex por 1min. Terminado este processo, o tubo passou pela centrifuga a 18.000rpm por 2min. Para a transferência no aparelho foi utilizado 1uL do sobrenadante com 1uL da matrix para MALDI -TOF.

Neste trabalho apenas as espécies do gênero *Aspergillus* foram identificadas. A identificação dos fungos pertencentes a Seção *Nigri* não foi desmembrada, pois os isolados não apresentaram diferenças bem características com a taxonomia básica e nem com o sistema MALDI-TOF MS (Figura 12).

Figura 12 - Aparelho MALDI- TOF MS

Adquirida no Site: https://www.bruker.com/fileadmin/_processed_/csm_microflex-user-low_d7c1006b1e.png

Este gênero contém cerca de 175 espécies. Embora esses fungos habitem diversos nichos ecológicos, apenas 20 espécies estão associadas a micoses humanas (HOOG et al., 2014).

O gênero *Aspergillus* representa um anamorfo de ascomicetos pertencente à ordem Eurotiales, ou seja, caracteriza-se pela produção de esporos assexuais. Utilizando a taxonomia poliblastica, este gênero foi dividido em 14 seções, sendo elas a *Aspergillus*, *Circundanti*, *Clavati*, *Flavi*, *Flavipedes*, *Fumigati*, *Nidulantes*, *Nigri*, *Polypaecilum*, *Restricti*, *Terrei*, *Candidi* e *Usti* (HOOG et al., 2014).

A maior frequência do gênero *Aspergillus* está associada a três seções: *Nigri* com 4 espécies descritas, sendo as mais incidentes o *A. brasiliensis* e o *A. Niger*. A seção *Flavi* que possui 8 espécies em destaque o *A. flavus* e o *A. orizeae* e na seção *Fumigati* existem duas espécies, a mais frequente delas é o *A. fumigatus* (HOOG et al., 2014).

RESULTADOS

Artigo 1: Fungos anemófilos: aerossóis bioindicadores de Qualidade do ar

Introdução

Os aerossóis são partículas de importância central para diversas linhas de pesquisa envolvendo a química atmosférica, a física, a biosfera, o clima e a saúde pública. O sólido transportado pelo ar e as partículas líquidas influenciam o balanço de energia da Terra, o ciclo hidrológico, a circulação atmosférica e a abundância de efeito estufa, além do traço reativo de gases (PÖSCHL, 2005).

Essas partículas, de acordo com o tamanho, podem ser divididas em duas frações. A fração fina compreende partículas menores que 2µm, as quais são produzidas principalmente por meio da conversão em partículas de gases biogênicos emitidos pela vegetação. A fração grossa, que compreende as partículas maiores que 2 µm, são constituídas por fragmentos de folhas, grãos de pólen, bactérias, fungos e uma enorme variedade de outros tipos de partículas biogênicas formando os bioaerossóis (THEOTÔNIO et al., 2007).

Em 1833 ocorreram os primeiros estudos sobre controle de bioaerossóis, este fato aconteceu nas ilhas de Cabo Verde, onde Charles Darwin detectou pela primeira vez esporos de fungos anemófilos no ar. Eles são elementos-chave no ciclo de vida de muitos ecossistemas, do ponto de vista climático e de química da atmosfera. Estima-se que em determinados locais e épocas do ano as partículas de origem biológica podem contribuir com até 50% do número total de partículas no ar (MORRIS; GEORGAKOPOULOS; SANDS, 2004; PEScott et al., 2015; YAO, 2018).

Os micro-organismos intactos no ar são definidos como partículas biológicas primárias de aerossóis (PBAP), mas muitas vezes este monitoramento é feito detectando pequenas frações metabólicas do micro-organismo, no caso dos fungos, o ergosterol, presente na membrana celular de todos os fungos, sendo desta forma bom indicador de crescimento fúngico, pois proporciona correlações com a biomassa metabolicamente ativa (DILKIN et al., 2003).

Os bioaerossóis também podem mudar as propriedades termodinâmicas atmosféricas, tais como o perfil de temperatura e a variabilidade da umidade relativa sobre grandes áreas e sua circulação. Eles também dependem destes fatores para

circular no ambiente. O tempo médio de permanência dos micro-organismos na atmosfera pode variar de vários dias a semanas, tempo suficiente para que as células viajem entre continentes. Muitos bioaerossóis possuem mecanismos de defesa que lhes permitem suportar as tensões ambientais do transporte aéreo, incluindo exposição à radiação UV, desidratação e baixo pH dentro da água das nuvens. Eles podem sobreviver também a viagens de longo alcance para novas regiões e chegam ao destino em estado viável (BURROWS et al., 2009; ROSENFELD et al., 2008).

Estas partículas não ficam suspensas no ar como elementos independentes, podem ocorrer aglomerações de células ou serem transportadas para o ar em fragmentos de plantas ou animais, em partículas do solo, no pólen ou em esporos que se tornaram aéreos. As partículas que fazem parte dos bioaerossóis apresentam diversos tamanhos, os grãos de pólen possuem 17-58µm, os esporos fúngicos 1-30µm, as bactérias 0,25-8µm e os vírus com tamanhos inferiores a 0,3µm de diâmetro (JONES; HARRISON, 2004b).

O material fúngico aerotransportado pode ser formado por fragmentos de hifas, esporos multicelulares, esporos unicelulares e fragmentos de 1mm que podem combinar com outras partículas, permitindo a sua dispersão. Em geral, a diversidade é inerente ao tamanho das partículas fúngicas, associada à forte influência do seu diâmetro. A composição taxonômica dos fungos pode determinar como eles serão distribuídos na atmosfera. Todos os fungos são participantes ativos no ciclo dos elementos na natureza. Cerca de 28 a 50Tg de materiais fúngicos são emitidos anualmente na atmosfera terrestre. As partículas fúngicas podem constituir 420% das emissões primárias de aerossol orgânico (BERNARDI, 2006; ELBERT et al., 2006; HEALD; SPRACKLEN, 2009; YAMAMOTO et al., 2012b).

A concentração e a liberação de esporos fúngicos na atmosfera dependem de fatores biológicos, locais e ambientais tais como: ciclo de vida, localização geográfica, poluição do ar, condições climáticas, atividade humana e fonte local de vegetação. A sua ocorrência no ar é delimitada de forma sazonal e altamente dependente da temperatura e da umidade relativa. É evidente que a variação sazonal ligada aos fatores climáticos pode determinar o agente microbiano presente no momento da coleta, portanto, a 'sazonalidade' pode ter diferentes efeitos sobre as concentrações de micro-organismos em qualquer ambiente (GRINN-GOFROÑ; MIKA, 2008; KOCH et al., 2000; MÉHEUST et al., 2014; NEVALAINEN; TÄUBEL; HYVÄRINEN, 2015)

As características ambientais que permitem a dispersão de fungos são amplamente estudadas permitindo melhor compreensão das relações entre os esporos fúngicos e as condições ambientais existentes (ADAMS et al., 2013; YAMAMOTO et al., 2012b)

A caracterização dos bioaerossóis pode ser feita analisando pequenas amostras de ar, pois elas conseguem fornecer uma estimativa razoável da concentração típica de esporos. Estas análises podem permitir a identificação de contaminação fúngica potencialmente prejudicial, mesmo quando as colônias de superfície não são facilmente visíveis (EGAN; LI; KLIRONOMOS, 2014).

A análise microbiana do ar pode ser realizada por diversos métodos, mas a coleta de amostra tem sido melhor realizada quando se faz com impactadores, pois determinam o valor exato de ar analisado. Uma análise micológica bem-sucedida depende largamente do método utilizado, bem como a escolha do meio de cultura microbiológico apropriado na coleta, o que permite uma avaliação abrangente das características quantitativas e qualitativas da microflora (GUTAROWSKA; PIOTROWSKA, 2007).

O método padrão para identificar e classificar os esporos viáveis dos gêneros fúngicos isolados do ar atmosférico ainda deve permanecer na caracterização fenotípica, devido à diversidade e à quantidade de isolados. Por sorte, a maioria dos fungos isolados são filamentosos e este grupo tem características fenotípicas marcantes, diferente das leveduras ou das bactérias unicelulares (SANTOS et al., 2010).

Alguns estudos sobre os fungos anemófilos e sua dispersão já foram registrados pelo mundo. NO deserto arábico, plano e arenoso, que cobre a maior parte do Kuwait, foi analisado frente a presença de fungos no ar atmosférico e os achados foram semelhantes aos outros estudos, mostrando que os esporos fúngicos do gênero *Aspergillus niger* e *Penicillium* spp aparecem com maior frequência e a mediana interna e externa foi de 55% e 25% respectivamente (YASSIN; ALMOUQATEA, 2010).

Na Califórnia o ar atmosférico foi estudado em um complexo habitacional e observou-se que a concentração de bactérias e de fungos foi mais elevada em áreas externas em comparação com as concentrações no ar interior de alguns ambientes. Os fungos mostraram sinais de limitação de dispersão na escala geográfica de centenas de metros, indicando que a dispersão é um processo como a seleção e deriva que pode fortalecer a relação de distância-decaimento nas comunidades microbianas. A

ordem de concentração no ar interno e externo foi de *Cladophialophora* (antigo *Cladosporium*), *Penicillium*, *Aspergillus* e *Alternaria*, em ordem decrescente (ADAMS et al., 2013).

Em Tetouan, Marrocos, foram realizados estudos com ar atmosférico pesquisando a presença de fungos do gênero *Alternaria* spp. Os maiores níveis de esporos foram registrados durante a primavera, verão e outono. Este gênero apresentou valores máximos diários em abril, maio e outubro, independente do ano (FILALI BEN SIDEL et al., 2015).

Em 2012, Borges et al. pesquisou o ar atmosférico da cidade de São Luís do Maranhão caracterizando a distribuição sazonal de fungos possíveis alergênicos presentes no ar. Como resultado obteve entre os fungos filamentosos o gênero *Aspergillus* com maior frequência com A (38,37%), *Fusarium* (13,90%), *Curvularia* (11,18%) e *Penicillium* (10,88%) (BORGES, K R A; MONTEIRO, S G; MONTEIRO, 2012).

A floresta Amazônica, por sua vez, apresenta características diferenciadas na composição química atmosférica. Ela sofre grandes mudanças na época da seca, devido às emissões de gases traço e partículas de aerossóis provenientes de queimadas. Esta atividade de desflorestamento tem implicações importantes em nível local, regional e global, pois modifica principalmente a emissão de gases precursores do efeito estufa e da concentração de O_3 . Nesta situação a disputa pelo vapor de água disponível aumenta, não permitindo a formação de chuva (ARTAXO et al., 2005).

A Floresta de Belgrado, Peru, apresenta clima úmido e mesotérmico, um habitat favorável para a reprodução de fungos. Consequentemente foi encontrada uma alta porcentagem de fungos no ar. Os mais frequentes foram: *Aspergillus* (24,33%), *Penicillium* (19%), *Cladosporium* (17%) e *Rhizopus* (9%) (ÇOLAKOĞLU, 2003).

Em pesquisa realizada na cidade de Hualien, Taiwan, entre os fatores meteorológicos, a temperatura foi o preditor mais consistente de concentrações de fungos, a temperatura mais alta foi positivamente associada a níveis mais altos de fungos, com exceção dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. A umidade relativa foi positivamente correlacionada com o *Cladosporium* e negativamente associada aos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. A pressão só teve uma correlação negativa com outros fungos. O ozônio foi negativamente correlacionado com fungos totais e o PM10 foi positivamente associado com fungos totais. Outros fatores ambientais, como THC,

CO, NO₂ e SO₂ também tiveram relações estatisticamente significantes com as concentrações de fungos (HO et al., 2005).

Qualidade do ar

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), os padrões de qualidade do ar variam de acordo com a abordagem adotada para balancear riscos à saúde, viabilidade técnica, considerações econômicas e vários outros fatores políticos e sociais, que por sua vez dependem, entre outras coisas, do nível de desenvolvimento e da capacidade nacional de gerenciar a qualidade do ar (CONAMA, 1990).

No Brasil, as análises de controle ambiental de ar atmosférico são realizadas caracterizando a parte química dos aerossóis. A fração orgânica tem sido relacionada principalmente à queima de biomassa e à combustão, embora exista presença significativa de áreas verdes na cidade que tornam as emissões biogênicas uma fonte adicional de carbono orgânico (ADAMS et al., 2013; EMYGDIO et al., 2018).

Os parâmetros brasileiros regulamentados pela legislação ambiental são os seguintes: partículas totais em suspensão, fumaça, partículas inaláveis, dióxido de enxofre, monóxido de carbono, ozônio e dióxido de nitrogênio. A mesma resolução estabelece ainda os critérios para episódios agudos de poluição do ar (Conama, 2018).

Padrões microbiológicos para o ar externo ainda não existem, mas este controle nas grandes cidades poderia ser realizado analisando as relações entre os fungos presentes no ar atmosférico e o ambiente, onde eles estão presentes da mesma forma que os líquens, bioindicadores sensíveis à poluição atmosférica utilizados em controle ambiental.

Líquens são associações entre algas e fungos. Eles são utilizados pelos ambientalistas em controles ambientais, porém as áreas que apresentam influência antrópica direta não exibem condições adequadas para o estabelecimento e desenvolvimento desta micota liquenizada, pois a alta concentração de poluentes impede o seu desenvolvimento (MARTINS; ISABEL; LEMOS, 2008; MUNZI; RAVERA; CANEVA, 2007) .

No Brasil, a crescente preocupação com a diversidade de fungos aerotransportados e seus potenciais alergênicos, além da possibilidade de serem novos indicadores de poluição ambiental, foram as principais razões para a existência de vários estudos de fungos anemófilos. A necessidade da expansão do conhecimento sobre estes bioindicadores levou pesquisadores a estudá-los. Isto ocorre pelo

crescente interesse por micro-organismos alergênicos e a procura de novos indicadores ambientais de poluição, já que a sua frequência e diversidade pode estar associada com fatores ambientais (BERNARDI, 2006; SCHOENLEIN-CRUSIUS et al., 2001).

Objetivo

Correlacionar a concentração de fungos e bactérias com condições atmosféricas e presença de poluentes no ar da região metropolitana de São Paulo.

Materiais e métodos

Este estudo avaliou o ar atmosférico da região metropolitana de São Paulo (RMASP) quanto a presença de fungos, durante seis anos. Totalizando 736 amostras.

Foram analisados quatro pontos, três na cidade de São Paulo, sendo um no Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências Atmosféricas situado na Cidade Universitária, dois no bairro Cerqueira César distintos pela altitude (andar térreo e 23º andar) e um na Cidade de Ibiúna-SP, no Bairro Votorantim, as duas cidades distam entre si 60,6 km². Tabela 3.

As amostras foram coletadas da seguinte forma: 2013 N=173 amostras, 2014 N= 65, 2015 N= 30; 2016 N= 35; 2017 N= 118 e 2018 N= 315: 127 no verão, 248 no inverno, 145 na primavera e 216 no outono (Tabela 4).

Tabela 3 - Identificação dos pontos de coleta e amostras coletadas

Ponto de coleta	Local	Total de amostras coletadas	Localização
Ponto 1	IAG	156	23°55'93" S 46°73'33" W
Ponto 2	IBIÚNA	212	23°39'23" S 47°13'21" O
Ponto 3	TERREO	137	23°55'60" S
Ponto 4	23º ANDAR	231	46°.66'81" W
Total Geral		736	

Tabela 4 - Distribuição das coletas por ano e estação

Estação do Ano	Ano de coleta						Total Geral
	2013	2014	2015	2016	2017	2018	
Inverno	48	49	30	9	31	81	248
Outono	83			8		125	216
Primavera	42	16		9	78		145
Verão				9	18	100	127
Total Geral	173	65	30	35	127	306	736

Os impactadores utilizados para as coletas foram o MAS 100-ECO (Merck®, Fr.) e o M air T (Millipore®), que possuem equivalência em sua capacidade (MOURA, M.L., CALDAS et al., 2015) (Figura 12).

A cada dia de coleta foram analisadas 3 amostras, com intervalos de uma hora entre elas. Cada coleta apresentou volume final de 250L (0,25m³) permitindo o isolamento das unidades formadoras de colônia (ufc/m³).

Os meios de cultura utilizados durante a coleta foram: Dicloran Rosa Bengala modificado (DRBC_m) para fungos e ágar caseína de soja com ciclohexitida (TSB) para bactérias (CASTRO SILVA D.M et al., 2015).

Durante as coletas foram medidas a temperatura e a umidade do ar.

Figura 13 - Impactadores de ar

M air T Millipore®

Mas 100 Merck®

Um isolado de cada gênero por dia de coleta/local foi identificado utilizando características fenotípicas (HOOG et al., 2014) (Figura 14).

Figura 14 - Placas com amostras de ar cultivadas 30°C

**Coleta de 250 l de ar em DRBCm
(7 dias de incubação a 30°C)**

**Coleta de 250 l de ar em TSB
(3 dias de incubação a 30°C)**

Os dados sobre os poluentes foram obtidos na Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) em relatórios diários on-line. <https://cetesb.sp.gov.br/ar/>.

O sistema apresenta valores diários dos poluentes e parâmetros meteorológicos para a estação selecionada. Neste estudo utilizamos os dados da Estação Cerqueira César para os pontos localizados na cidade de São Paulo e os dados da estação de Sorocaba para acompanhar as coletas de Ibiúna. Os dados de O₃ para os pontos de São Paulo foram obtidos na estação de Pinheiros, pois a Cerqueira César não faz estas medições. Os seguintes poluentes foram analisados: Ozônio (O₃); Óxidos de Nitrogênio (NO_x); Monóxido de Carbono (CO); Dióxido de Enxofre (SO₂); Partículas Inaláveis (MP₁₀).

Os dados sobre as condições atmosféricas foram obtidos no banco de dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do país (INMET). <http://www.inmet.gov.br/projetos/rede/pesquisa/inicio.php>. Onde realizamos um cadastro recebemos uma senha de autorização para determinada pesquisa.

As variáveis atmosféricas utilizadas neste estudo foram: precipitação de chuva, umidade e temperatura.

Um modelo de *regressão Poisson* foi utilizado na análise deste estudo para avaliar a relação entre a poluição atmosférica e o impacto na concentração de fungos e bactérias.

Resultados

Analisando a tabela 5 podemos dizer que a concentração de fungos se distribuiu de maneira equilibrada pelas estações do ano, destacando maior quantidade na estação de inverno. A maior frequência ocorreu atingindo 80 ufc/m³ (Figura 15).

Figura 15: Gráfico da concentração de UFC/ m3 Fungos isolados do ar na região do RMASP em estações do ano entre 2013- 2018

*G01≤20 ufc/m³ ; G02≤40; G03≤60; G04 ≤80; G5≤ 100; G6≤120; G7≤140; G8≤160; G9≤180

As concentrações de bactérias e fungos se distribuíram pelas estações do ano de maneira semelhante conforme apresentadas nas figuras 15 e 16.

A maior concentração esteve presente na estação de inverno.

Figura 16- Gráfico da concentração de UFC/m3 Bactérias isoladas do ar na região do RMASP em estações do ano entre 2013- 2018

*G01≤20 ufc/m³ ; G02≤40; G03≤60; G04 ≤80; G5≤ 100; G6≤120; G7≤140; G8≤160; G9≤180

A maior diversidade de gêneros ocorreu na zona rural, ponto de Ibiúna, local que apresentou também amostras com até 7 gêneros diferentes, caracterizando uma região sem poluição (Tabela 5).

Tabela 5- Quantidade de gêneros fúngicos isolados do ar na região do RMASP em estações do ano (2013-2018)

Número de gêneros isolados por amostra	Pontos de coleta				
	23º ANDAR	IAG	IBIÚNA	TERREO	Total Geral
1	74	50	41	73	238
2	68	48	59	81	256
3	13	27	51	52	143
4	7	6	32	16	61
5	3	3	10	6	22
6			3		3
7			1		3
Total Geral	165	134	197	228	726

Durante este estudo obtivemos 1630 isolados de fungos. Deste grupo, 219 não apresentaram estruturas de reprodução para identificação sendo classificados como micélio estéril ou micélio *esterila* e 1411 foram classificados em 17 gêneros diferentes de acordo com as análises fenotípicas realizadas (Tabela 6).

Tabela 6- Gêneros fúngicos isolados no ar atmosférico do RMASP (2013-2018)

Gênero	N	%
<i>Acremonium</i>	2	0,14
<i>Aureobasidium</i>	2	0,14
<i>Alternaria</i>	62	4,39
<i>Aspergillus</i>	367	26,01
<i>Bipolaris</i>	8	0,57
<i>Cladophyalophora</i>	42	2,98
<i>Curvularia</i>	175	12,40
<i>Fusarium</i>	138	9,78
<i>Mucor</i>	9	0,64
<i>Neurospora</i>	141	9,99
<i>Nigrospora</i>	9	0,64
<i>Paecilomyces</i>	16	1,13
<i>Penicillium</i>	234	16,58
<i>Phoma</i>	6	0,43
<i>Rhizopus</i>	101	7,16
<i>Scyncephalastrum</i>	9	0,64
<i>Trichoderma</i>	90	6,38
Total	1411	100

Quanto à concentração de MP10 é importante lembrar que ele agrupa o número de partículas fúngicas presentes no ar atmosférico mantendo a mesma proporção em todas as estações do ano. Com a análise estatística utilizando a correlação de *Pearson*, a concentração de NO, CO e SO₂ mostra influência inversa na concentração de fungos, $p < 0,001$ (Tabela 7).

Tabela 7 - Regressão de Poisson entre os poluentes SO₂, NO_x E CO e a concentração de fungos

Poluente	IRR	p	Intervalo de conf. 95%	
SO ₂	0,997	0,001	0,996	0,998
NO _x	0,995	0,001	0,995	0,996
CO	0,995	0,001	0,994	0,996

IRR – índice de risco relativo

As análises estatísticas foram feitas utilizando regressão de *Poisson aplicável* a ocorrências de um número de eventos em um intervalo específico.

As características meteorológicas: velocidade do vento e a nebulosidade analisadas não influenciaram diretamente na concentração de fungos, já a temperatura

e umidade, medidas no local da amostragem apresentaram influência representativa. Quanto mais alta a temperatura menor a quantidade de fungos e quanto maior a umidade, maior a quantidade de fungos presentes no ar tendo como resultado, $p < 0,001$ (Tabela 8).

Tabela 8- Características meteorológicas de acordo com as estações do ano da RMASP (2013-2018)

ESTAÇÕES DO ANO	UMIDADE %	TEMP. °C	UMIDADE RELATIVA %	VELOCIDADE DO VENTO km/h	NEBULOSIDADE %	UFC FUNGOS ufc/m ³	UFC BACTÉRIAS ufc/m ³
INVERNO							
MÉDIA	54,96	20,98	72,06	2,05	5,27	114,52	69,12
MIN/MAX	14-100	11-32,4	38-97	0-5,1	0-9,8	2-736	2-654
VERÃO							
MÉDIA	63,20	26,28	77,00	1,15	6,75	83,42	57,24
MIN/MAX	22-90	18-37,6	56-97	0-5	0-10	7-420	2-280
OUTONO							
MÉDIA	55,50	24,62	79,02	1,79	6,92	73,72	42,25
MIN/MAX	15-95	14,4-40	64-97	0-4,5	0-10	1-300	3-250
PRIMAVERA							
MÉDIA	56,76	25,27	71,63	2,28	8,21	59,28	58,91
MIN/MAX	15-86	16-42	38-89	0-5	0-10	3-230	5-450

(Fonte Cetesb)

Durante as coletas encontramos as maiores médias das concentrações de SO₂, CO e NO na estação de inverno em segundo lugar na estação do outono. Já a concentração de O₃ apresentou maior valor na primavera, seguido pelo verão e por último no inverno (Tabela 9).

Ao analisar o intervalo de concentração de fungos entre 200-460 ufc/m³, faixa maior encontrada, foi observado que a maioria das amostras estava na zona urbana e que estas coletas possuíam uma concentração de O₃ próximo ao valor máximo encontrado durante todas as coletas de inverno (Tabela 10).

Estudando as amostras que estavam no intervalo de 01-20 ufc/m³, sendo as menores concentrações encontradas verificou-se que elas estavam presentes apenas na zona urbana e que a concentração de poluentes não estavam fora do padrão de qualidade (Tabela 11).

Tabela 9 Concentração de poluentes no ar atmosférico da RMASP (2013-2018)

ESTAÇÕES	MP10 µg/m³	SO ₂ µg/m³	NO ₂ µg/m³	CO ppm	NO µg/m³	NOX µg/m³	O ₃ µg/m³	FUNGOS ufc/m³	BAC ufc/m³
INVERNO									
MÉDIA	39,88	14,17	61,38	13,99	47,72	64,33	43,45	114,52	69,12
MIN/MAX	0,7-168	0-187	2-185	0-1,44	0-478	0-234	0-125	2-460	2-654
VERÃO									
MÉDIA	19,01	1,79	29,96	4,26	17,67	30,55	61,33	83,42	57,24
MIN/MAX	0-94	0-7	0-71	0-38	0-91	0-109	6-142	7-420	2-280
OUTONO									
MÉDIA	20,23	15,04	51,24	11,62	36,09	51,43	26,42	73,72	42,25
MIN/MAX	0,3-165	0-123	5-168	0-92	3-195	6-264	0-104	1-300	3-250
PRIMAVERA									
MÉDIA	27,25	5,76	34,97	1,69	20,05	33,62	71,01	59,28	58,91
MIN/MAX	2-75	0-27	2-94	0-48	0-85	1-102	11-151	3-230	5-450

(Fonte: INMET)

Tabela 10 - Distribuição da concentração de poluentes encontrados nas amostras com maior concentração de fungos (200-460 ufc/m³)

ZONA	MP10 µg/m³	SO ₂ µg/m³	NO ₂ µg/m³	CO ppm	NO µg/m³	NOX µg/m³	O ₃ µg/m³	FUNGOS ufc/m³	BAC ufc/m³
RURAL (N=19)									
Média	10,0	8,7	21,5	13,4	20,5	20,3	50,9	248,0	95,1
Min/Max	10-26	02-27	4-35	2-21	4-62	4-35	46-74	200-400	15-300
URBANA (N=71)									
Média	29,9	6,7	34,4	7,2	28,8	36,7	41,7	281,6	114,2
Min/Max	10-84	1-10	7-125	0,1-10,7	9-91	12-200	0-120	200-460	27-311

(Fonte: INMET)

Tabela 11 Distribuição da concentração dos poluentes encontrados nas amostras com menor concentração de fungos (01-20 ufc/m³)

ZONA	MP10 µg/m³	SO ₂ µg/m³	NO ₂ µg/m³	CO ppm	NO µg/m³	NOX µg/m³	O ₃ µg/m³	FUNGOS ufc/m³	BAC ufc/m³
URBANA (N=128)									
Média	24	10	51	8	33	55	45	14	25
Min/Max	0,3-77	0-57	0-43	0-49	2-95	1-115	2-99	0-20	3-100

(Fonte: INMET)

Discussão

Na dinâmica da atmosfera é difícil avaliar a importância individual de cada componente devido à sua natureza. O que se sabe é que as investigações sobre bioaerossóis fúngicos são poucas e a atenção que tem sido dada às suas relações com as condições atmosféricas e a poluição também. Como os fungos anemófilos e as bactérias são componentes atmosféricos sensíveis as condições ambientais merecem análise mais detalhada de suas partículas presentes e transportadas pelo ar (GRINN-GOFROÑ; STRZELCZAK; WOLSKI, 2011).

É comum entre as pesquisas ambientais relatar a mesma relação que encontramos entre aumento de fungos com aumento da temperatura e diminuição deles com diminuição da umidade relativa do ar ao longo das estações do ano (BORGES, K R A; MONTEIRO, S G; MONTEIRO, 2012; REOLON; PEREZ; MEZZARI, 2004; ROSS et al., 2004; TÁVORA et al., 2003).

Antes de analisar os gêneros fúngicos isolados no ar atmosférico é importante saber que um estudo feito por Gorny et al. (2002), usando um contador de partículas ópticas, mostrou que fragmentos fúngicos são liberados em até 320 vezes mais do que os esporos. A liberação de propágulos fúngicos variou de acordo com as espécies de fungos, a velocidade do ar acima da superfície contaminada e a textura e vibração do material contaminado. Em contraste com os esporos, as liberações de fragmentos de superfícies lisas não foram afetadas pela velocidade do ar, indicando um mecanismo de liberação diferente, mostrando que a unidade formadora de colônia isolada utilizando impactadores pode não ser proveniente de um esporo (GÓRNY et al., 2002).

Fatores ambientais como: a localidade, estação de ano, umidade, temperatura, pressão barométrica, pluviometria, umidade relativa, velocidade do vento e insolação horária já foram registradas na dispersão aérea de fungos mais comumente isolados do ar atmosférico da cidade de São Paulo e esta influência foi registrada durante este estudo. (AMEND; SEIFERT; BRUNS, 2010; ONOFRE., 2010).

Quanto aos gêneros fúngicos isolados, o que se percebeu é que cada região possuía características associadas, neste estudo os gêneros *Aspergillus*, *Curvularia* e *Penicillium* apresentaram juntos 55% dos isolados de forma semelhante ao relatado em diversos estudos.

Nesta pesquisa a soma de isolados dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* foi de 42,59% das amostras, mostrando a influência direta da umidade e da temperatura no desenvolvimento fúngico.

Na cidade de São Paulo, as maiores concentrações de MP10, CO, NOx e SO₂ foram registradas durante o período de inverno, entre os meses de maio à setembro, devido aos baixos índices pluviométricos, ventos fracos e maior ocorrência de inversões térmicas. Concentrações elevadas de O₃ ocorreram na primavera, entre os meses de setembro e outubro, provavelmente relacionadas à menor nebulosidade em comparação ao observado no período de verão. (AGUIAR, 2015; CARVALHO et al., 2015; GRINN-GOFROÑ; STRZELCZAK; WOLSKI, 2011).

Conclusões

A umidade e a temperatura influenciam diretamente na concentração de fungos nos ambientes estudados.

Quanto maior a concentração de poluentes no ar da RMASP menor foi a concentração de fungos.

O monitoramento da concentração de fungos no ar atmosférico pode permitir estudos mais amplos determinando este grupo dos bioaerossóis como bioindicadores, tendo como justificativa a sua frequência e a sensibilidade a poluentes, podendo ser a forma mais adequada de obter parâmetros diretamente ligados à saúde.

Com a ampliação deste estudo teremos fortalecimento das pesquisas que estudam a relação de distância entre as comunidades microbianas e os componentes químicos existentes no ar atmosférico.

Referências Bibliográficas

ABDUL-WAHAB, S.; FADLALLAH, S.; AL-RASHDI, M. Evaluation of the impact of ground-level concentrations of SO₂, NO_x, CO, and PM₁₀ emitted from a steel melting plant on Muscat, Oman Sustainable Cities and Society, 2018.

ADAMS, R. I. et al. Dispersal in microbes: fungi in indoor air are dominated by outdoor air and show dispersal limitation at short distances. The ISME Journal, v. 7, p. 1262–1273, 2013.

AGUIAR; LAÍS SINHORINI. Estudo da relação da qualidade do ar e variáveis meteorológicas na ocorrência de morbidade respiratória e circulatória na região metropolitana. [s.l.] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2015.

AMATO, P. et al. Microorganisms isolated from the water phase of tropospheric clouds at the Puy de Dôme: Major groups and growth abilities at low temperatures. FEMS Microbiology Ecology. Anais...2007

AMEND, A. S.; SEIFERT, K. A.; BRUNS, T. D. Quantifying microbial communities with 454 pyrosequencing: Does read abundance count? Molecular Ecology, v. 19, n. 24, p. 5555–5565, 2010.

ARBEX, M. A. et al. A poluição do ar e o sistema respiratório. Jornal Brasileiro de Pneumologia, v. 38, n. 5, p. 643–655, 2012.

ARTAXO, P. et al. Atmospheric Chemistry in Amazonia: The forest and the biomass burning emissions controlling the composition of the Amazonian atmosphere Acta Amazonica, 2005.

BARAN, E. et al. Risk assessment of fungi reported from humans and animals*. MYCOSES, v. 39, n. 10, p. 407–417, 1996.

BARCELLOS, C. et al. Mudanças climáticas e ambientais e as doenças infecciosas: cenários e incertezas para o Brasil. Epidemiologia e Serviços de Saúde, v. 18, n. 3, p. 285–304, set. 2009.

BERNARDI, E. Fungos anemófilos e suas relações com fatores abióticos , na praia do Laranjal ,. REVISTA DE BIOLOGIA E CIÊNCIAS DA TERRA, v. 6, p. 91–96, 2006.

BIZZINI, A; GREUB, G. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, a revolution in clinical microbial identification. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, v. 16, n. 11, p. 1614–9, nov. 2010.

BLACKWELL, M. The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? American Journal of Botany, v. 98, n. 3, p. 426–438, 2011.

BORGES, K R A; MONTEIRO, S G; MONTEIRO, C. A. Diversity and prevalence of airborne fungi isolated from São Luís, Northeast Brazil. Revista Brasileira de Análises Clínicas, v. 44, n. 3–4, p. 132–138, 2012.

BRUNI, A. C., DIAS, C.S., OLIVEIRA, F. Plano de controle de poluição veicular 2017-2019. CETESB – Biblioteca, SP, Brasil, p. 61, 2017.

BUENO, F. F. et al. Qualidade do ar e interações por doenças respiratórias em

crianças no município de divinópolis, estado de minas gerais. *Acta Scientiarum - Health Sciences*, v. 32, n. 2, p. 185–189, 2010.

BURROWS, S. M. et al. Bacteria in the global atmosphere – Part 2: Modelling of emissions and transport between different ecosystems. *Atmospheric Chemistry and Physics Discussions*, v. 9, n. 3, p. 10829–10881, 2009.

CABRAL, J. P. S. Can we use indoor fungi as bioindicators of indoor air quality? Historical perspectives and open questions *Science of the Total Environment*, 2010.

CARVALHO, V. S. B. et al. Air quality status and trends over the Metropolitan Area of São Paulo, Brazil as a result of emission control policies. *Environmental Science & Policy*, v. 47, n. November, p. 68–79, 2015.

CASTRO e SILVA, D. M. et al. A new culture medium for recovering the agents of cryptococcosis from environmental sources. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 46, n. 2, p. 355–358, 2015.

CASTRO, H. A. DE et al. Questões metodológicas para a investigação dos efeitos da poluição do ar na saúde. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 6, n. 2, p. 135–149, 2003.

CHALUPOVÁ, J. et al. Identification of fungal microorganisms by MALDI-TOF mass spectrometry *Biotechnology Advances*, 2014.

CHOWDHARY, A.; AGARWAL, K.; MEIS, J. F. Filamentous Fungi in Respiratory Infections. What Lies Beyond Aspergillosis and Mucormycosis? *PLoS Pathogens*, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4849718/pdf/ppat.1005491.pdf>>. Acesso em: 6 maio. 2018

ÇOLAKOĞLU, G. Airborne fungal spores at the Belgrad forest near the city of Istanbul (Turkey) in the year 2001 and their relation to allergic diseases. *Journal of Basic Microbiology*, v. 43, n. 5, p. 376–384, 2003.

CONAMA. Padroes de qualidade do Ar, Resolucao CONAMA. v. 60, p. 342–346, 1990.

CORRÊA, R. DE A. et al. Carga de doença por infecções do trato respiratório inferior no Brasil, 1990 a 2015: estimativas do estudo Global Burden of Disease 2015. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 20, n. suppl 1, p. 171–181, maio 2017.

COSTA, W. R.; MINEO, M. F. Os líquens como bioindicadores de poluição atmosférica no município de Minas Gerais. p. 2690–2700, 2013.

COUTO, S. R.; TOCA-HERRERA, J. L. Laccase production at reactor scale by filamentous fungi *Biotechnology Advances*, 2007.

DE HOOG, G. S. et al. Name changes in medically important fungi and their implications for clinical practice *Journal of Clinical Microbiology*, 2015.

DILKIN, P. et al. Dosagem De Ergosterol Como Indicador De Contaminação Fúngica Em Milho Armazenado. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v. 70, p. 483–489, 2003.

DRUZHININA, I. S.; KOPCHINSKIY, A. G.; KUBICEK, C. P. The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. *Mycoscience*, v. 47, n. 2, p. 55–64, 2006.

DUNN, R. R. et al. The ecology of microscopic life in household dust . 2015.

SILVA, EFB; et al Aspergilose pulmonar necrotizante crônica. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, v. 35, n. 1, p. 95–98, 2009.

EGAN, C.; LI, D. W.; KLIRONOMOS, J. Detection of arbuscular mycorrhizal fungal spores in the air across different biomes and ecoregions. *Fungal Ecology*, v. 12, p. 26–31, 2014.

ELBERT, W. et al. Contribution of fungi to primary biogenic aerosols in the atmosphere: active discharge of spores, carbohydrates, and inorganic ions by Asco- and Basidiomycota. *Atmospheric Chemistry and Physics Discussions*, v. 6, p. 11317–11355, 2006.

EMILIE, J. et al. Poluição do ar e efeitos na saúde nas populações de duas grandes metrópoles brasileiras. v. 12, n. 1, p. 29–40, 2003.

EMYGDIO, A. P. M. et al. Biomarkers as indicators of fungal biomass in the atmosphere of São Paulo, Brazil. *Science of The Total Environment*, v. 612, p. 809–821, 15 jan. 2018.

FILALI BEN SIDEL, F. et al. Airborne fungal spores of *Alternaria*, meteorological parameters and predicting variables. *International Journal of Biometeorology*, v. 59, n. 3, p. 339–346, 2015.

FLORES, M. E. B. et al. Fungal spore concentrations in indoor and outdoor air in university libraries, and their variations in response to changes in meteorological variables. *International Journal of Environmental Health Research*, v. 24, n. 4, p. 320–340, 2014.

GALIMBERTI, R. et al. Emerging systemic fungal infections. *Clinics in dermatology*, v. 30, n. 6, p. 633–50, 2012.

GAMBALE W, PURCHIO A, P. C. Influência de fatores abióticos na dispersão aérea de fungos na cidade de São Paulo, Brasil. *Brazilian Society for Microbiology*, v. 14, p. 204–214, 1983.

GARNACHO-MONTERO, J. et al. Epidemiologia, diagnóstico y tratamiento de las infecciones fúngicas respiratorias en el paciente crítico. *Epidemiology, diagnosis and treatment of fungal respiratory infections in the critically ill patient*, v. 26, n. 2, p. 173–188, 2013.

GONCALVES, F. L. T.; MASSAMBANI, O. Bacteria and fungal spores as ice nuclei from *Coffea arabica* L. *Resumo. Ciencia & Natura*, v. 33, p. 73–93, 2011.

GÓRNY, R. L. et al. Fungal Fragments as Indoor Air Biocontaminants. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, n. 7, p. 3522–3531, 2002.

GRAVESEN, S. Fungi as a Cause of Allergic Disease *Allergy*, 1979.

GREEN, B. J. et al. Surveillance of fungal allergic sensitization using the fluorescent halogen immunoassay. *Journal de Mycologie Medicale*, v. 19, n. 4, p. 253–261, 2009.

GRINN-GOFRÓN, A.; BOSIACKA, B. Effects of meteorological factors on the composition of selected fungal spores in the air. *Aerobiologia*, v. 31, n. 1, p. 63–72, 2015.

GRINN-GOFRÓN, A.; MIKA, A. Selected airborne allergenic fungal spores and

meteorological factors in Szczecin, Poland, 2004-2006. *Aerobiologia*, v. 24, n. 2, p. 89–97, 2008.

GRINN-GOFRÓN, A.; STRZELCZAK, A.; WOLSKI, T. The relationships between air pollutants, meteorological parameters and concentration of airborne fungal spores. *Environmental Pollution*, v. 159, n. 2, p. 602–608, 2011.

GUTAROWSKA, B.; PIOTROWSKA, M. Methods of mycological analysis in buildings. *Building and Environment*, v. 42, n. 4, p. 1843–1850, abr. 2007.

HALEEM KHAN, A. A.; MOHAN KARUPPAYIL, S. Fungal pollution of indoor environments and its management. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v. 19, n. 4, p. 405–426, 2012a.

HAWKSWORTH, D. L. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research*, v. 95, n. 6, p. 641–655, 1991.

HAWKSWORTH, D. L. Managing and coping with names of pleomorphic fungi in a period of transition. *IMA FUNGUS*, v. 3, n. 1, p. 15–24, 2012.

HEALD, C. L.; SPRACKLEN, D. V. Atmospheric budget of primary biological aerosol particles from fungal spores. *Geophysical Research Letters*, v. 36, n. 9, 2009.

HIBBETT, D. S. et al. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, v. 111, n. 5, p. 509–547, 2007.

HO, H. M. et al. Characteristics and determinants of ambient fungal spores in Hualien, Taiwan. *Atmospheric Environment*, v. 39, n. 32, p. 5839–5850, 2005.

HOOG, C. et al. Atlas of Clinical Fungi. Disponível em: <<http://www.clinicalfungi.org/>>.

HUFFMAN, J. A. et al. High concentrations of biological aerosol particles and ice nuclei during and after rain. *Atmospheric Chemistry and Physics*, v. 13, p. 6151–6164, 2013.

INÊS, I. et al. Avaliação clínica e micológica de onicomicose em pacientes brasileiros com HIV / AIDS Clinical and mycological evaluation of onychomycosis among Brazilian HIV / AIDS patients. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 44, n. 1, p. 40–42, 2011.

JAENICKE, R. Abundance of cellular material and proteins in the atmosphere. *Science (New York, N.Y.)*, v. 308, n. 5718, p. 73, 2005.

JONES, A. M.; HARRISON, R. M. The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations - A review *Science of the Total Environment*, 2004a.

KEELING, P. J.; LUKER, M. A.; PALMER, J. D. Evidence from beta-tubulin phylogeny that microsporidia evolved from within the fungi. *Molecular Biology and Evolution*, v. 17, n. 1, p. 23–31, 2000.

KINSEY, G.; PATERSON, R.; KELLEY, J. Filamentous fungi in water systems. In: *Handbook of Water and Wastewater Microbiology*. [s.l: s.n.]. p. 77–98.

KIRK, P.M. ; CANNON, P.F. ; MINTER, D.W. ; STALPERS, J. A. Dictionary of the Fungi. 10. ed. The Netherlands: CABI INTERNATIONAL, 2009. v. 10th

KOCH, A et al. Indoor viable mold spores--a comparison between two cities, Erfurt (eastern Germany) and Hamburg (western Germany). *Allergy*, v. 55, n. 2, p. 176–80,

2000.

KUBICEK, C.; KOMON-ZELAZOWSKA, M.; DRUZHININA, I. Fungal genus *Hypocrea* / *Trichoderma*: from barcodes to biodiversity. *J Zhejiang Univ Sci B*, v. 9, n. 10, p. 753–763, 2008.

LANG-YONA, N. et al. 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.

LAU, A. F. et al. Development of a Clinically Comprehensive Database and a Simple Procedure for Identification of Molds from Solid Media by Matrix- Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight Mass. v. 51, n. 3, p. 828–834, 2013.

LEE, K. S. et al. A field comparison of four samplers for enumerating fungal aerosols I. Sampling characteristics. *Indoor Air*, v. 14, n. 5, p. 360–366, 2004.

LIGHTHART, B.; SHAFFER, B. T. Airborne bacteria in the atmospheric surface layer: Temporal distribution above a grass seed field. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 61, n. 4, p. 1492–1496, 1995.

LINDER, M. B. et al. Hydrophobins: The protein-amphiphiles of filamentous fungi *FEMS Microbiology Reviews*, 2005.

LINDOW, S. E.; ARNY, D. C.; UPPER, C. D. Bacterial ice nucleation: a factor in frost injury to plants. *Plant physiology*, v. 70, n. 4, p. 1084–1089, 1982.

LUOMA, M.; BATTERMAN, S. A. Characterization of particulate emissions from occupant activities in offices. *Indoor air*, v. 11, n. 1, p. 35–48, 2001.

MAGESTE, J., PEREIRA, T., SILVA, G., BARROS, R. . Estudo da microbiota fúngica anemófila de uma indústria farmacêutica de Juiz de Fora – MG. *FACIDER*, v. 1 set, 2012.

MAHIEU, L. M. et al. A prospective study on factors influencing *aspergillus* spore load in the air during renovation works in a neonatal intensive care unit. p. 191–197, 2000.

MARTINS, E. A. et al. Onychomycosis: clinical, epidemiological and mycological study in the municipality of São José do Rio Preto. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 40, n. 5, p. 596–598, 2007.

MARTINS, M. S. D. A.; ISABEL, M.; LEMOS, A. Liquefactors como bioindicadores da qualidade do ar numa área de termoeletrônica , Rio Grande do Sul , Brasil. *Hoehnea*, v. 35, n. 3, p. 425–433, 2008.

MATOS, D. DE et al. A new culture medium for recovering the agents of *Cryptococcosis* from environmental sources. v. 358, p. 355–358, 2015.

MATTHIAS-MASER, S. et al. Seasonal variation of primary biological aerosol particles in the remote continental region of Lake Baikal/Siberia. *Atmospheric Environment*, v. 34, n. 22, p. 3805–3811, 2000.

MÉHEUST, D. et al. Indoor fungal contamination: Health risks and measurement methods in hospitals, homes and workplaces *Critical Reviews in Microbiology*, 2014.

MEIJER, M. et al. Growth and hydrolase profiles can be used as characteristics to distinguish *Aspergillus niger* and other black *aspergilli*. *Studies in Mycology*, v. 69, p.

19–30, 2011.

MENDONÇA, D. U. et al. Aspergilose pulmonar em paciente imunocompetente e previamente sadio. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2011.

MITCHELL, C. S. et al. Current state of the science: health effects and indoor environmental quality. *Environmental health perspectives*, v. 115, n. 6, p. 958–64, jun. 2007.

MM, R. et al. Levantamento da microbiota fúngica em clínica de fisioterapia de um centro universitário de práticas supervisionadas. XIV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e X Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba. *Anais...*1990

MORRIS, C. E.; GEORGAKOPOULOS, D. G.; SANDS, D. C. Ice nucleation active bacteria and their potential role in precipitation. *Journal de Physique IV (Proceedings)*, v. 121, p. 87–103, 2004.

MORRISON, J. et al. Monitoring *Aspergillus* species by quantitative PCR during construction of a multi-storey hospital building *Journal of Hospital Infection*, 2004.

MOURA, M.L., CALDAS, C. C. et al. The impaction capacity of Millipore M air T ® and Merck MAS- 100 ® in an external environment. *Access Journal of Environmental Research*, v. 1, n. November, p. 1–6, 2015.

MUNZI, S.; RAVERA, S.; CANEVA, G. Epiphytic lichens as indicators of environmental quality in Rome. *Environmental Pollution*, v. 146, n. 2, p. 350–358, 2007.

NAFIS, A.; SHARMA, K. Isolation of aeromycoflora in the indoor environment of chawri bazar metro-railway station , Delhi , India. v. 4, n. 3, p. 4–5, 2012.

NEVALAINEN, A.; TÄUBEL, M.; HYVÄRINEN, A. Indoor fungi: Companions and contaminants *Indoor Air*, 2015.

NUCCI, M.; ANAÏSSIE, E. *Fusarium* infections in immunocompromised patients *Clinical Microbiology Reviews*, 2007.

NUNES, Z. G. et al. Indoor air microbiological evaluation of offices, hospitals, industries, and shopping centers. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 100, n. 4, p. 351–7, jul. 2005.

OLIVEIRA, M.; ABREU, I.; RIBEIRO, H. Esporos fúngicos na atmosfera da cidade do Porto e suas implicações alergológicas. p. 61–85, 2007.

OLIVEIRA, A. C. DE; KOVNER, C. T.; SOUZA, R. Infecção hospitalar em unidade de tratamento intensivo de um hospital universitário brasileiro. *Revista latino-americana de enfermagem*, v. 18, 2010.

OLIVEIRA, M. A. DE et al. Bioindicadores ambientais : insetos como um instrumento desta avaliação. p. 800–807, [s.d.].

ONOFRE., L. H. F. S. B. Determinação da presença de fungos anemófilos e leveduras em unidade de saúde da cidade de Francisco Beltrão- Pr. p. 22–26, 2010.

ORZECZOWSKI XAVIER, M. et al. Invasive pulmonary aspergillosis due to a mixed infection caused by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus fumigatus*. *Revista Iberoamericana de Micologia*, v. 25, n. 3, p. 176–178, 2008.

PARMAR, T. K.; RAWTANI, D.; AGRAWAL, Y. K. Bioindicators : the natural indicator of environmental pollution. v. 3769, 2016.

PASQUARELLA, C.; PITZURRA, O.; SAVINO, A. The index of microbial air contamination. p. 241–256, 2000.

PESCOTT, O. L. et al. Air pollution and its effects on lichens, bryophytes, and lichen-feeding Lepidoptera: Review and evidence from biological records. Biological Journal of the Linnean Society, v. 115, n. 3, p. 611–635, 2015.

POULEUR, S. et al. Ice nucleation activity in *Fusarium acuminatum* and *Fusarium avenaceum*. Applied and Environmental Microbiology, v. 58, n. 9, p. 2960–2964, 1992.

RAJA, N. S.; SINGH, N. N. Disseminated invasive aspergillosis in an apparently immunocompetent host. Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi, v. 39, n. 1, p. 73–77, 2006.

REOLON, A.; PEREZ, L. R. R.; MEZZARI, A. Prevalência de *Cryptococcus neoformans* nos pombos urbanos da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, v. 40, n. 5, p. 293–298, 2004.

Resolução CONAMA Nº 491 DE 19_11_2018 - Federal - LegisWeb. , [s.d.].

RIBEIRO, F. N. D. et al. Air quality in São Paulo – Brazil: temporal evolution and spatial distribution of carbon monoxide, coarse particulate matter and ozone. 2015.

ROSENFELD, D. et al. Flood or drought: how do aerosols affect precipitation? Science (New York, N.Y.), v. 321, n. 5894, p. 1309–13, 2008.

ROSS, C. et al. Studies on Fungal and Bacterial Population of Air- conditioned Environments. Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 47, n. September, p. 827–835, 2004.

SANTIAGO, R. et al. Biologically-Active Compounds from Brazilian Lichens and their Affinity with Ether. v. 4, 2017.

SANTOS, C. et al. Filamentous fungal characterizations by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. Journal of applied microbiology, v. 108, n. 2, p. 375–85, 2010.

SAUTOUR, M. et al. Profiles and seasonal distribution of airborne fungi in indoor and outdoor environments at a French hospital. Science of the Total Environment, v. 407, n. 12, p. 3766–3771, 2009.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H. et al. Airborne fungi in the region of cubatão , São Paulo State , Brazil. p. 61–65, 2001.

SEGAL, B. H. et al. Defining responses to therapy and study outcomes in clinical trials of invasive fungal diseases: Mycoses Study Group and European Organization for Research and Treatment of Cancer consensus criteria. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America, v. 47, n. 5, p. 674–83, 1 set. 2008.

SENG, P. et al. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America, v. 49, n. 4, p. 543–551, 2009.

SESARTIC, A.; LOHMANN, U.; STORELVMO, T. Modelling the impact of fungal spore ice nuclei on clouds and precipitation. *Environmental Research Letters*, v. 8, n. 1, p. 14029, 2013.

SMITH, G. R. et al. Competition-colonization tradeoffs structure fungal diversity. *ISME Journal*, v. 12, n. 7, p. 1758–1767, 2018.

SOUSA, L. et al. Monitoring of anamorphic fungal spores in Madeira region (Portugal), 2003–2008. *Aerobiologia*, n. January, p. 2003–2008, 2015.

SYMONDS, E. P. et al. Growth characteristics and enzyme activity in *Batrachochytrium dendrobatidis* isolates. *Mycopathologia*, v. 166, n. 3, p. 143–147, 2008.

TÁVORA, L. G. F. et al. Comparative performance of two air samplers for monitoring airborne fungal propagules. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 36, n. 5, p. 613–616, 2003.

TEIXEIRA, E. C.; FELTES, S.; DE SANTANA, E. R. R. Estudo das emissões de fontes móveis na região metropolitana de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Química Nova*, v. 31, n. 2, p. 244–248, 2008.

THEOTÔNIO, P. et al. O papel das partículas de aerossol no funcionamento do ecossistema amazônico. *Mudanças climáticas/ Artigos*, p. 48–50, 2007.

TORTORANO, A. M. et al. Invasive fungal infections in the intensive care unit: A multicentre, prospective, observational study in Italy (2006-2008). *Mycoses*, v. 55, n. 1, p. 73–79, 2012.

VIEIRA, K. M. et al. Incidência de *Aspergillus* seção *Nigri* em Cebolas Comercializadas no Estado do Paraná. v. 55, n. 43, p. 86057, 2015.

WHITTAKER, R. H. New concepts of kingdoms or organisms. Evolutionary relations are better represented by new classifications than by the traditional two kingdoms. *Science*, v. 163, n. 863, p. 150–160, 1969.

YAMAMOTO, N. et al. Particle-size distributions and seasonal diversity of allergenic and pathogenic fungi in outdoor air. *The ISME Journal*, v. 6, n. 10, p. 1801–1811, 2012a.

YAMAMOTO, N. et al. Particle-size distributions and seasonal diversity of allergenic and pathogenic fungi in outdoor air. *The ISME Journal*, v. 6, n. 10, p. 1801–1811, 2012b.

YAO, M. Bioaerosol: A bridge and opportunity for many scientific research fields. *Journal of Aerosol Science*, v. 115, n. August 2017, p. 108–112, 2018.

YASSIN, M. F.; ALMOUQATEA, S. Assessment of airborne bacteria and fungi in an indoor and outdoor environment. *International Journal of Environmental Science and Technology*, v. 7, n. 3, p. 535–544, 2010.

ZIEGLER M. F. Poluição em São Paulo diminuiu pela metade com greve dos caminhoneiros _ AGÊNCIA FAPESP 2018.

Artigo 2: Incidência do gênero *Aspergillus* e suas espécies no ar atmosférico na cidade de São Paulo - Brasil e suas relações com as estações climáticas.

Introdução

Os Bioaerossóis são os materiais biológicos suspensos no ar, incluindo bactérias, fungos, vírus, pólen e seus derivados. As pesquisas sobre eles envolvem diversos setores tais como: microbiologia, poluição do ar, ciência médica, epidemiologia, ciência imunológica, bioquímica, física, nanotecnologias e outros. O papel desta fração atmosférica bem como em suas respectivas tecnologias são principais desafios em estudos com bioaerossóis (NEVALAINEN; TÄUBEL; HYVÄRINEN, 2015; YAO, 2018).

Na composição dos bioaerossóis existe partículas viáveis de tamanhos variados. pólen de plantas têm diâmetros típicos de 17 a 58 μ m, os esporos fungos possuem de 1 a 30 μ m de diâmetro, as bactérias 0,25 a 8 μ m de diâmetro, enquanto as menores partículas, os vírus, podem ser transportados em gotículas emitidas por animais (JONES; HARRISON, 2004b; LIGHTHART; SHAFFER, 1995).

Os fungos que utilizam o ar atmosférico como veículo de dispersão de seus esporos são chamados de anemófilos. No ar encontramos também seus fragmentos que podem causar infecções fungicas as plantas, animais e ao homem. Eles podem ser encontrados em qualquer lugar que tenham condições para o seu desenvolvimento, portando a maioria deles não causam nenhum tipo de patologia no homem quando inalados por esse. Dos fungos encontrados no ar, 87% não causam nenhum tipo de doença no homem, 10% atuam como oportunistas e 3% são patogênicos (MAGESTE, J., PEREIRA, T., SILVA, G., BARROS, 2012).

A exposição a de um dos componentes alergênicos do fungo deve ser considerada forte fator de risco para a prevalência de doenças respiratórias. A concentração de fungos cultiváveis em medições ao ar livre e em ambientes fechados correlacionam-se aos padrões sazonais observados em contagens de ar atmosférico (NEVALAINEN; TÄUBEL; HYVÄRINEN, 2015; YAMAMOTO et al., 2012b).

Os gêneros fúngicos mais prevalentes no ar ambiente são *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus* e *Penicillium*. Várias espécies pertencentes aos gêneros

Aspergillus, *Fusarium* e *Zygomycetes* isolados do ar ao ar livre são patógenos fúngicos responsáveis infecção em pacientes imunocomprometidos.

O gênero *Aspergillus* pode ser encontrado em diferentes ambientes, habitando principalmente o solo, podendo ser encontrado em resíduos orgânicos como lixo urbano ou na natureza em plantas em decomposição. A sua forma de distribuição pelo ambiente é a via aérea. Existem mais de 200 espécies de *Aspergillus*, entretanto, apenas algumas são patogênicas para o ser humano o *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus terreus* são as mais comuns (INÊS et al., 2011; MENDONÇA et al., 2011).

Este gênero fúngico adquire relevância na infecção respiratória do paciente crítico sendo o *Aspergillus fumigatus* a espécie mais frequente, (80- 90% dos casos), causadora de doença pulmonar invasiva, embora outras espécies tenham sido isoladas com menor frequência, como é o caso do *Aspergillus flavus* e do *Aspergillus terreus*. Os esporos fúngicos são facilmente aerossolizados, sendo a transmissão por via aérea quase universal. O homem e os animais inalam estas partículas continuamente, mas em geral eles são eficientemente eliminados pelo sistema imunológico. O isolamento de *Aspergillus* é mais frequente quando ocorre obras de renovação em hospitais, centros de recuperação de animais ou surtos reportados em unidades de tratamento intensivo ligada ao isolamento deste fungo no sistema de ar condicionado (GARNACHO-MONTERO et al., 2013; ORZECOWSKI XAVIER et al., 2008).

Aspergilose é uma doença causada por fungos filamentosos do gênero *Aspergillus* cujas manifestações clínicas são determinadas pela resposta imune do hospedeiro, podendo se apresentar de forma alérgica, saprofítica ou invasiva. Em indivíduos atópicos esta micose pode desencadear rinite alérgica, asma, pneumonite por hipersensibilidade e aspergilose broncopulmonar alérgica. (EDUARDO FELIPE BARBOSA SILVA, 2009; ORZECOWSKI XAVIER et al., 2008).

A transmissão para os seres vivos ocorre por inalação dos esporos que se depositam no aparelho respiratório causando infecções do trato respiratório inferior e seios da face, já o envolvimento saprofítico inclui otomicose e a aspergiloma pulmonar. Nos processos alérgicos este fungo pode estar associado a sinusite alérgica e a aspergilose broncopulmonar. Nas doenças invasivas ele atua no sistema nervoso central, no sistema cardiovascular e também em outros tecidos que podem estar infectados como resultado de doenças hematogênicas. As manifestações clínicas decorrentes da infecção dependem da virulência do fungo, da intensidade da

exposição, do estado imunológico do doente e da presença de patologia pulmonar prévia. Em indivíduos saudáveis a inalação, geralmente, não provoca doença. (CHOWDHARY; AGARWAL; MEIS, 2016; EDUARDO FELIPE BARBOSA SILVA, 2009; SEGAL et al., 2008).

A exposição de esporos fúngicos ao ar urbano poluído pode afetar sua alergenicidade. A modificação inicial envolve a nitração de proteínas, Além disso, o processo detectado de desamidação de proteínas leva à diminuição da potência com o aumento da exposição, moderando o aumento da alergenicidade devido à nitração. No entanto, as pessoas podem estar expostas a alérgenos de maior potência, principalmente durante as primeiras 12 h de exposição a alérgenos na poluição atmosférica urbana (LANG-YONA et al., 2016).

O homem e os animais inalam estas partículas continuamente, mas em geral eles são eficientemente eliminados pelo sistema imunológico. O isolamento de *Aspergillus* é mais frequente quando ocorre obras de renovação em hospitais, centros de recuperação de animais ou surtos reportados na UTI ligada ao isolamento deste fungo no sistema de ar condicionado (GARNACHO-MONTERO et al., 2013; ORZECOWSKI XAVIER et al., 2008).

A Região Metropolitana de São Paulo (MASP) é uma megalópole com uma população de 21 milhões, correspondendo a mais de 11% da população total do Brasil, com isso carrega uma das marcas mais tristes do desenvolvimento urbano do país: a poluição. No MASP o ar está infestado de substâncias geradas por atividades humanas, principalmente, a intensa circulação de veículos que afeta a qualidade de vida das pessoas, podendo a poluição do ar provocar sérios problemas de saúde.

Em 2018 a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (Conama) nº 491/2018 estabelece a obrigatoriedade da elaboração do Plano de Controle de Poluição Veicular pelos órgãos ambientais estaduais e determina novos limites de emissão e procedimentos para a avaliação do estado de manutenção de veículos em uso. São analisadas as seguintes substâncias: partículas Totais em Suspensão (PTS); Fumaça; Partículas inaláveis (PM10); Dióxido de Enxofre (SO₂); Monóxido de Carbono (CO); Ozônio (O₃) e Dióxido de Nitrogênio (NO₂). (CONAMA, 2018)

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) define a legislação brasileira para controle de ar em ambientes fechados vigente e propõe controle ambiental dos edifícios com sistemas de ar condicionado com manutenção dos sistemas de

climatização. O plano obedece aos a parâmetros regulamentados pela Resolução 9/2003 da Anvisa.

Para o controle microbiológico - O Valor Máximo Recomendável - VMR, para contaminação microbiológica deve ser ≤ 750 ufc/m³ de fungos, para a relação I/E $\leq 1,5$, onde I é a quantidade de fungos no ambiente interior e E é a quantidade de fungos no ambiente exterior, na legislação é inaceitável a presença de fungos patogênicos e toxigênicos (CONAMA, 1990) .

A poluição do ar é determinada pela quantificação das substâncias tóxicas, poluentes, presentes no ar na região onde está sendo monitorada e a comparação aos padrões estabelecidos pela legislação. Eles podem ser divididos em primários, quando emitidos diretamente por uma fonte, e secundários, quando formados na atmosfera através de reações químicas entre poluentes primários e os constituintes naturais da atmosfera. As fontes são basicamente duas: fixas (indústrias, usinas, incineradores de resíduos, etc.) e móveis (meios de transporte). A qualidade do ar sofre influência direta das condições meteorológicas (BRUNI, A. C., DIAS, C.S., OLIVEIRA, 2017).

As pesquisas relacionadas ao ar atmosférico analisam as contaminações em ambientes internos, não levando em consideração o ar circulante no entorno dos locais analisados, onde as pessoas passam uma boa parte do tempo. Estes estudos se referem a construções individuais e seus ocupantes, tais como construção e manutenção de edifícios, uso atual e histórico do edifício, ventilação, controle de umidade, materiais de superfície, ocupantes e suas atividades além do estilo de vida. Todos estes fatores são colaboradores na composição do ar interno, mas não levam em consideração a contaminação do ar externo e suas consequências. A produção e mesmo a dispersão destes materiais influenciam este contexto, aumentando ou reduzindo seus níveis, modificando suas emissões na atmosfera sob a influência da velocidade da direção dos ventos, da precipitação, da temperatura e da instabilidade do ar (BUENO et al., 2010; NEVALAINEN; TÄUBEL; HYVÄRINEN, 2015).

No RMASP os estudos realizados com materiais particulados em suspensão (MP10) e de carbono orgânico (OC) para identificar fontes poluidoras revelam as emissões veiculares e a re-suspensão do solo como as principais fontes identificadas. A contribuição da biomassa fúngica estimada é de 2% e 8% do total de MP10 e o OC respectivamente, bastante representativa para uma área urbana no Brasil.(EMYGDIO et al., 2018)

Diversos grupos taxonômicos podem servir como bioindicadores, entretanto, nem todos os processos biológicos, espécies ou comunidades são bons parâmetros da qualidade do ambiente.

A necessidade da expansão do conhecimento sobre os bioindicadores levou pesquisadores a estudar os fungos anemófilos, isto ocorre pelo crescente interesse por micro-organismos alergênicos e a procura de novos indicadores ambientais de poluição, já que a sua frequência e diversidade pode estar associada com fatores ambientais (BERNARDI, 2006).

A importância médica dos esporos fúngicos no ar tem sido enfatizada em conexão com reações alérgicas com um amplo espectro de formas clínicas. Como estes esporos são componentes do bioaerossol e também considerados como indicadores do nível de poluição atmosférica, uma melhor compreensão desses fenômenos exige um levantamento detalhado das partículas transportadas pelo ar. (GRINN-GOFROÑ; BOSIACKA, 2015)

Objetivo

Caracterizar a frequência de fungos do gênero *Aspergillus* no ar atmosférico de São Paulo alertando a importância de monitorar este micro-organismo.

Materiais e Métodos

A análise epidemiológica deste estudo consiste em avaliar o ar atmosférico do RMASP quanto a presença de fungos, durante um ano de coleta entre setembro de 2017 e agosto de 2018. Durante o estudo foi analisado três locais de coleta, dois na cidade de São Paulo no bairro Cerqueira Cesar distintos pela altitude (andar térreo e 23º andar) e na Cidade de Ibiúna no Bairro Votorantim, as duas cidades estão distantes entre si por 60,6 km² (Tabela 12).

Totalizando 400 amostras de ar, distribuídas da seguinte forma: 118 no verão, 88 no inverno, 78 na primavera e 116 no outono.

As amostras de ar foram coletadas com o equipamento, MAS 100-ECO (Merck®, Fr.) e o M air T (Millipore®), que possuem equivalência em sua capacidade. (MOURA, M.L., CALDAS et al., 2015)

As coletas ocorreram uma vez por semana, sendo três amostras em cada local, com intervalos de uma hora entre elas. Cada coleta apresentou volume final de 250L (0,25m³) permitindo o isolamento das unidades formadoras de colônia.

Tabela 12 - Identificação dos pontos de coleta

Ponto de coleta	Local	Área (km ²)	Localização	Altitude
01	Ibiúna-Br	1058.08	23°39'23" S 47°13'21" O	996
02	São Paulo-Br	1.521,11	23.5560° S, 46.6681° W	737
03	São Paulo-Br			849

No momento da coleta foi utilizada placa de Petri descartável contendo 20mL de meio de cultura, sendo Dicloran Rosa Bengala modificado (DRBCm) para isolamento de fungos e o ágar Caldo Soja Trypticaseína (TSB) para o cultivo de bactérias. (CASTRO e SILVA DM et al., 2015).

As placas contendo DRBCm foram incubadas em estufa bacteriológica ajustada à 30° ± 2°C por até 7 dias para isolamento e identificação fenotípica de gênero seguindo metodologia específica. (HOOG et al., 2014).

Após a incubação foi analisada a concentração de fungos e bactérias. Não foi realizado cultivo de bactérias. Os isolados de fungos foram identificados até gênero, e os fungos pertencentes ao gênero *Aspergillus* foram identificados até espécie.

A identificação das espécies: *A. flavus*; *A. fumigatus*; *A. orizeae*; *A. ochraceus*; *A. glaucus*; *A. nidulans* e *A. terreus* foi realizada por métodos fenotípicos e confirmados pelo método de MALDI-TOF MS, espectrometria de massa de dessorção a laser / tempo de ionização assistida por matriz (HOOG et al., 2014; LAU et al., 2013).

A identificação das espécies pertencentes a Seção *Nigri* não foi desmembrada com a taxonomia básica e nem com o sistema MALDI-TOF MS.

As variáveis atmosféricas: temperatura e umidade foram medidas durante as coletas com a utilização de um termo higrômetro.

Os dados sobre os poluentes foram obtidos na Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) em relatórios diários on-line, O sistema apresenta valores diários dos poluentes e parâmetros meteorológicos para a estação selecionada. Neste estudo utilizamos a Estação Cesar para os pontos localizados na cidade de São Paulo e os dados da estação de Sorocaba para acompanhar as coletas de Ibiúna. Os dados de O₃ para os pontos de São Paulo foram obtidos na estação de Pinheiros, pois a Cerqueira Cesar não faz estas medições. Analisamos os seguintes poluentes. Ozônio (O₃); Óxidos de Nitrogênio (NO_x); Monóxido de Carbono (CO); Dióxido de Enxofre (SO₂); Partículas Inaláveis (MP₁₀); dióxido de nitrogênio (NO₂) <https://cetesb.sp.gov.br/ar/>.

Resultados

As análises sobre as condições atmosféricas de umidade e temperatura e a concentração de poluentes foram analisadas de acordo com as estações do ano.

No inverno foi encontrado as maiores taxas de SO₂, NO₂, CO e NO coincidindo com as maiores concentrações de fungos e bactérias no ar (Tabela 13).

Foi observado que a quantidade de fungos diminui com altas temperaturas e quanto maior a umidade, maior a quantidade de fungos presentes no ar tendo como resultado, $p < 0,001$.

As concentrações de bactérias durante o período de um ano de coleta não apresentaram alterações de acordo com as estações do ano do ano. Ficando entre 20 e 80 ufc/m³ (Tabela 14).

Nas amostras de ar analisadas as maiores concentrações de fungos ocorreram no inverno entre 160 a 450 ufc/m³, seguido do outono, diluindo suas medidas entre 120 a 450m³. Na primavera e no verão as concentrações foram mais baixas entre 20 e 80 ufc/m³ (Tabela 15).

Tabela 13 Características meteorológicas e concentração de gases, fungos e bactérias de acordo com as estações do ano da RMASP (2017- 2018)

ESTAÇÃO DO ANO	UMIDADE	TEMPERATURA	MP10 µg/m³	SO2 µg/m³	NO2 µg/m³	CO ppm	NO µg/m³	UFC/FUNG ufc/m³	UFC/BAC ufc/m³
PRIMAVERA									
MÉDIA	54,81	26,80	20,05	8,75	32,58	2,78	15,63	63,10	68,12
MAX/MIN	15-86	11,8-42	2-75	1-27	2-62	0,2-48	0-49	12-230	6-450
VERÃO									
MÉDIA	56,23	26,30	13,99	16,15	39,70	12,45	22,36	78,59	54,33
MAX/MIN	22-88	18-37,5	0-60	0-16	0-71	0-38	0-91	7-360	2-280
OUTONO									
MÉDIA	52,36	25,27	2,58	24,42	47,27	18,74	24,93	89,68	46,37
MAX/MIN	15-84	15,4-40	0,3-1,3	1-101	5-168	33635,00	3-62	8-300	4-250
INVERNO									
MÉDIA	52,16	22,00	24,71	39,38	58,91	73,07	37,59	141,38	74,62
MAX/MIN	14-88	13-32,2	0,7-82	1-87	6-174	0,3-144	1-109	2-480	2-280

(Fonte: INMET)

Tabela 14 Concentração de bactérias isoladas no ar atmosférico de São Paulo durante um ano de coleta distribuídos por estação do ano

Concentração de Bactérias (ufc/m³)*											
Estações do Ano	G01	G02	G03	G04	G05	G06	G07	G08	G09	G10	Total Geral
Inverno	10	16	18	8	6	3	2	4	5	4	76
Outono	51	24	12	10	4	4	1	4	3	3	116
Primavera	13	17	16	10	8	1	1	2	2	3	73
Verão	32	28	23	9	7	6	4	5	2	1	117
Total Geral	106	85	69	37	25	14	8	15	12	11	382

*G01≤20 ufc/m³ ; G02≤40; G03≤60; G04 ≤80; G5≤ 100; G6≤120; G7≤140; G8≤160; G9≤180; G10 ≤ 450.

Tabela 15 Concentração de fungos isolados no ar atmosférico de São Paulo durante um ano de coleta distribuídos por estação do ano

Concentração de fungos (ufc/m³)*											
Estações do ano	G01	G02	G03	G04	G05	G06	G07	G08	G09	G10	Total geral
Inverno	-	10	25	6	6	5	1	7	10	18	88
Outono	38	19	5	4	5	16	3	7	8	11	116
Primavera	10	24	15	9	5	4	3	2	3	2	77
Verão	26	34	20	9	2	4	3	3	7	10	118
Total Geral	74	87	65	28	18	29	10	19	28	41	399

*G01≤20 ufc/m³; G02≤40; G03≤60; G04 ≤80; G5≤ 100; G6≤120; G7≤140; G8≤160; G10≤180

Durante as análises morfológicas, os fungos foram separados de acordo com a pigmentação das hifas, sendo classificados como demáceos para hifas pigmentadas e hialinos para hifas sem pigmentos. O resultado obtido foi que os fungos hialinos estão presentes com maior frequência que os demáceos em todas as estações, ocorrendo maior incidência no outono e no verão da mesma forma que os demáceos. A presença concomitante ocorre da mesma forma em todas as estações (Figura 17).

Os números de gêneros isolados durante este estudo variaram de forma semelhante ao total isolados fúngicos, aumentado no inverno e diminuindo na primavera. No outono e no verão encontramos maior diversidade de gêneros durante as coletas.

Figura 17 - Gráfico da ocorrência de fungos demáceos e hialinos isolados do ar em São Paulo por estações do ano durante um ano de coleta.

Durante este estudo obtivemos 759 isolados de fungos, dos quais 65 (8,5%) eram estéreis, não permitindo o andamento de sua identificação, 694 (91,4%) apresentaram corpo de frutificação seguindo os protocolos de caracterização fenotípica e que foram classificados em 14 gêneros diferentes (Tabela 16).

Tabela 16 - Distribuição dos gêneros fúngicos isolados nas coletas do ar em São Paulo do ano durante um ano de coleta (2017-2018).

Gênero	Ponto 01	%	Ponto 02	%	Ponto 03	%	Total	%
<i>Alternaria</i>	3	17,65	6	35,29	8	47,06	17	2,45
<i>Aspergillus</i>	63	25,93	83	34,16	97	39,92	243	35,01
<i>Bipolaris</i>	3	75,00	0	0,00	1	25,00	4	0,58
<i>Cladophyalophora</i>	5	55,56	2	22,22	2	22,22	9	1,30
<i>Curvularia</i>	31	35,23	22	25,00	35	39,77	88	12,68
<i>Fusarium</i>	19	29,69	27	42,19	18	28,13	64	9,22
<i>Neurospora</i>	14	19,44	28	38,89	30	41,67	72	10,37
<i>Nigrospora</i>	0	0,00	1	33,33	2	66,67	3	0,43
<i>Paecilomyces</i>	0	0,00	5	50,00	5	50,00	10	1,44
<i>Penicillium</i>	23	27,38	29	34,52	32	38,10	84	12,10
<i>Phoma</i>	0	0,00	1	50,00	1	50,00	2	0,29
<i>Rhizopus</i>	18	27,27	23	34,85	25	37,88	66	9,51
<i>Scyncephalastrum</i>	0	0,00	1	50,00	1	50,00	2	0,29
<i>Trichoderma</i>	7	23,33	14	46,67	9	30,00	30	4,32
Total	186	26,80	242	34,87	266	38,33	694	100,00

O gênero *Aspergillus* ficou em primeiro lugar com 35,01% de incidência em relação aos outros gêneros, seguido de 12,68% *Curvularia* 12,10% *Penicillium*; 10,37% *Neurospora*; 9,22 % *Fusarium*; 9,51% *Rhizopus*; e outros com menor incidência.

O gênero *Cladophyalophora* apresentou maior concentração no ponto 1, os gêneros *Fusarium* e *Trichoderma* no ponto 02, os gêneros *Nigrospora* e *Rhizopus* no ponto 3. Os gêneros *Paecilomyces*, *Phoma* e *Scyncephalastrum* não foram isolados no ponto 1.

Em 400 amostras detectamos 68,25% (243/400) com *Aspergillus*, mas em 3,5% (13/400) não obtivemos o isolado para prosseguir a identificação.

As amostras de *Aspergillus* no ponto 01 totalizaram 25,7% (83/400), no 02, 37,2% (120/400) e no 03, 37,5% (121/400). A concentração do gênero *Aspergillus* na zona

urbana se diferencia da zona rural em até 16% (N=49/243) em comparação ao ponto 03 e 12,8% (N= 39/243) ao ponto 02 (Tabela 17).

Tabela 17- Distribuição das espécies isoladas do gênero *Aspergillus* nas amostras de ar atmosférico em um ano de coleta 2017/2018.

Espécies	Ponto 01	Ponto 02	Ponto 03
<i>A. flavus</i>	21	36	36
<i>A. fumigatus</i>	13	25	25
<i>A. glaucus</i>	1	1	0
<i>A. nidulans</i>	0	0	2
<i>A. niger</i>	27	44	49
<i>A. ochraceus</i>	2	1	1
<i>A. orizeae</i>	0	1	0
<i>A. terreus</i>	2	2	1
<i>Aspergillus spp</i>	9	4	6
Total	75	114	120

Os fungos pertencentes a seção *Nigri* aparecem em 38,0% (123/ 323) das espécies identificadas, seguido do *A. flavus* com 31 % (100/323) e do *A. fumigatus* com 21,0% (68/323) (Tabela 18).

A concentração de *Aspergillus* revelou predominância na zona urbana, 24,3% no ponto 01; 36,9% no ponto 02 e 38,8% no ponto 03.

Das 243 amostras que apresentaram isolados do gênero *Aspergillus*, obtivemos 309 isolados, com diversas espécies.

Tabela 18 Ocorrência e quantificação dos isolados de *Aspergillus spp* de amostras de ar em um ano de coleta 2017/2018.

Nº vezes	Seção <i>Nigri</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>A. orizeae</i>	<i>A. ochraceus</i>	<i>A. glaucus</i>	<i>A. nidulans</i>	<i>A. terreus</i>	<i>Aspergillus spp</i>
1	x	x	x		x				
1	x	x		x					
1	x						x		
1	x					x			
1	x	x							
1			x		x				
1			x					x	
1			x						x
2	x				x				
2		x						x	
8	x	x	x						
16	x		x						
17		x	x						
18									x
31	x	x							

Discussão

Como relatado em diversas pesquisas a diversidade de fungos anemófilos é extensa. A composição taxonômica de fungos no ar varia com a estação do ano analisada, como relatado em referências atuais, a maior diversidade de fungos ocorre no outono. Na verdade, estamos expostos a milhares de espécies bacterianas e fúngicas que circulam no ar. No entanto, atualmente não temos uma compreensão abrangente de como as comunidades microbianas encontradas nas residências chegam até elas (DUNN et al., 2015; YAMAMOTO et al., 2012b).

Com os resultados obtidos neste estudo verificamos que as condições ambientais influenciam a concentração de fungos no ar atmosférico e que as condições atmosféricas no inverno favorecem o aumento de esporos no ar, principalmente na zona rural. Em estudo feito na cidade do Porto em Portugal podemos confirmar a influência ambiental relatada da mesma forma eles relatam que durante os dois anos de estudo, as concentrações mais elevadas de esporos na atmosfera foram observadas durante os meses de Verão e Outono, enquanto as concentrações mais baixas foram registradas nos meses de Inverno e início da Primavera (OLIVEIRA; ABREU; RIBEIRO, 2007).

Os gêneros fúngicos variaram de acordo com a concentração total de fungos. As condições ambientais da estação de inverno favoreceram a diversidade fúngica enquanto as oferecidas pela primavera reduzem este número. No outono e no verão o ar atmosférico apresentou maior diversidade de gêneros isolados durante as coletas, porque no verão há calor e umidade disponíveis.

O tamanho, a forma e a densidade dos esporos estão sujeitos a flutuações, dependendo diretamente da umidade do ar, quando ela aumenta facilita o aerotransporte, em condições contrárias pode ocorrer a desintegração das partículas transmitidas pelo ar, diminuindo as forças de ligação e aumentando as tensões.(JONES; HARRISON, 2004b)

A maior incidência dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Curvularia* *Neurospora*, *Fusarium* e *Rhizopus* já foi registrado em outros trabalhos com ar atmosférico apresentado dados semelhantes (FLORES et al., 2014; JONES; HARRISON, 2004b; NAFIS; SHARMA, 2012).

Os fungos anemófilos são onipresentes na distribuição e são uma séria ameaça à saúde pública em ambientes internos, seu papel como contaminante biológicos e seu impacto na saúde humana é de grande importância para a ciência.

Na Itália 27 hospitais tiveram sua demanda analisada para infecções fúngicas. Foram encontrados 384 casos em um período de dois anos. A infecção por *Aspergillus* foi diagnosticada em 32 pacientes clínicos e 25 pacientes cirúrgicos. A aspergilose demonstrou ser mais grave do que a candidíase, pois a taxa bruta de mortalidade foi significativamente maior 63% vs. 46% (HALEEM KHAN; MOHAN KARUPPAYIL, 2012a; TORTORANO et al., 2012).

A presença de *Aspergillus* no ar atmosférico acompanha obras e ou construções em ambientes hospitalares, representando um dos principais fatores de risco, necessitando de medidas de proteção que necessita ser implementado. Com mudanças na rotina hospitalar frequentemente ocorre um aumento na incidência de Aspergiloses pulmonares em pacientes imunocomprometidos ou simplesmente hospitalizados durante a reforma realizada. (MAHIEU et al., 2000; MARTINS et al., 2007; MITCHELL et al., 2007; ONOFRE., 2010; SAUTOUR et al., 2009).

As pesquisas relacionadas ao ar atmosférico ainda não levam em consideração o ar circulante no entorno dos ambientes hospitalares. Normalmente estes estudos se referem a construções individuais e seus ocupantes, fatores que colaboram na composição do ar interno, mas não levam em consideração a contaminação do ar externo e suas consequências, quando isto for avaliado o sistema pode ter parâmetros para melhor controle ambiental e assistência à saúde (NEVALAINEN; TÄUBEL; HYVÄRINEN, 2015).

A utilização do Sistema MALDI-TOF na identificação de espécies fúngicas do gênero *Aspergillus* trouxe à tona algumas dificuldades que devem ser trabalhadas, como por exemplo definir qual a fase de reprodução de cada gênero que favorece a produção de diferentes proteínas para obtenção de melhor leitura no equipamento.

Neste estudo a caracterização das espécies do gênero *Aspergillus* utilizando o sistema MALDI foi de grande importância pois confirmou as provas fenotípicas.(CHALUPOVÁ et al., 2014).

A não desmembramento da Seção *Nigri* não alterou os resultados finais pois esta seção agrupa micro-organismos com comportamentos ambientais semelhantes. A seção *Nigri* aparece com em outros estudos “*A. niger*” com maior frequência 40%,

seguida do *A. flavus* com 28,3 % e do *A. fumigatus* com 17,2%.. (MEIJER et al., 2011; VIEIRA et al., 2015)

Conclusões

Caracterizar a frequência de fungos do gênero *Aspergillus* no ar atmosférico de São Paulo alertando a importância de monitorar este micro-organismo.

O gênero fúngico mais incidente no ar atmosférico da região Metropolitana de São Paulo foi o *Aspergillus*. Sua frequência se manteve durante todo o período de coleta como já relatado em outros estudos.

Neste estudo foi observado que os fungos do gênero *Aspergillus* são sensíveis a contaminação ambiental, variando sua concentração de acordo com as estações do ano e os pontos de coleta.

Compreender as interações entre os poluentes e os fungos alérgenos mais comuns em ambientes urbanos pode ajudar a decifrar o aumento geral na suscetibilidade a alergias observado nas últimas décadas.

Utilizar os fungos do gênero *Aspergillus* como biomarcadores de poluição pode ser adequado aos grandes centros urbanos, tendo como justificativa a sua frequência e a sensibilidade à concentração de poluentes.

Referências Bibliográficas

ABDUL-WAHAB, S.; FADLALLAH, S.; AL-RASHDI, M. Evaluation of the impact of ground-level concentrations of SO₂, NO_x, CO, and PM₁₀ emitted from a steel melting plant on Muscat, Oman Sustainable Cities and Society, 2018.

ADAMS, R. I. et al. Dispersal in microbes: fungi in indoor air are dominated by outdoor air and show dispersal limitation at short distances. The ISME Journal, v. 7, p. 1262–1273, 2013.

AGUIAR; LAÍS SINHORINI. Estudo da relação da qualidade do ar e variáveis meteorológicas na ocorrência de morbidade respiratória e circulatória na região metropolitana. [s.l.] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2015.

AMATO, P. et al. Microorganisms isolated from the water phase of tropospheric clouds at the Puy de Dôme: Major groups and growth abilities at low temperatures. FEMS Microbiology Ecology. Anais...2007

AMEND, A. S.; SEIFERT, K. A.; BRUNS, T. D. Quantifying microbial communities with 454 pyrosequencing: Does read abundance count? Molecular Ecology, v. 19, n. 24, p. 5555–5565, 2010.

ARBEX, M. A. et al. A poluição do ar e o sistema respiratório. Jornal Brasileiro de Pneumologia, v. 38, n. 5, p. 643–655, 2012.

ARTAXO, P. et al. Atmospheric Chemistry in Amazonia: The forest and the biomass burning emissions controlling the composition of the Amazonian atmosphere Acta Amazonica, 2005.

BARAN, E. et al. Risk assessment of fungi reported from humans and animals*. MYCOSES, v. 39, n. 10, p. 407–417, 1996.

BARCELLOS, C. et al. Mudanças climáticas e ambientais e as doenças infecciosas: cenários e incertezas para o Brasil. Epidemiologia e Serviços de Saúde, v. 18, n. 3, p. 285–304, set. 2009.

BERNARDI, E. Fungos anemófilos e suas relações com fatores abióticos , na praia do Laranjal ,. Revista de Biologia e Ciências da Terra, v. 6, p. 91–96, 2006.

BIZZINI, A; GREUB, G. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, a revolution in clinical microbial identification. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, v. 16, n. 11, p. 1614–9, nov. 2010.

BLACKWELL, M. The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? American Journal of Botany, v. 98, n. 3, p. 426–438, 2011.

BORGES, K R A; MONTEIRO, S G; MONTEIRO, C. A. Diversity and prevalence of airborne fungi isolated from São Luís, Northeast Brazil. Revista Brasileira de Análises Clínicas, v. 44, n. 3–4, p. 132–138, 2012.

BRUNI, A. C., DIAS, C.S., OLIVEIRA, F. Plano de controle de poluição veicular 2017-2019. CETESB – Biblioteca, SP, Brasil, p. 61, 2017.

BUENO, F. F. et al. Qualidade do ar e internações por doenças respiratórias em

crianças no município de divinópolis, estado de minas gerais. *Acta Scientiarum - Health Sciences*, v. 32, n. 2, p. 185–189, 2010.

BURROWS, S. M. et al. Bacteria in the global atmosphere – Part 2: Modelling of emissions and transport between different ecosystems. *Atmospheric Chemistry and Physics Discussions*, v. 9, n. 3, p. 10829–10881, 2009.

CABRAL, J. P. S. Can we use indoor fungi as bioindicators of indoor air quality? Historical perspectives and open questions *Science of the Total Environment*, 2010.

CARVALHO, V. S. B. et al. Air quality status and trends over the Metropolitan Area of São Paulo, Brazil as a result of emission control policies. *Environmental Science & Policy*, v. 47, n. November, p. 68–79, 2015.

CASTRO E SILVA, D. M et al. A new culture medium for recovering the agents of cryptococcosis from environmental sources. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 46, n. 2, p. 355–358, 2015.

CASTRO, H. A. DE et al. Questões metodológicas para a investigação dos efeitos da poluição do ar na saúde. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 6, n. 2, p. 135–149, 2003.

CHALUPOVÁ, J. et al. Identification of fungal microorganisms by MALDI-TOF mass spectrometry *Biotechnology Advances*, 2014.

CHOWDHARY, A.; AGARWAL, K.; MEIS, J. F. Filamentous Fungi in Respiratory Infections. What Lies Beyond Aspergillosis and Mucormycosis? *PLoS Pathogens*, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4849718/pdf/ppat.1005491.pdf>>. Acesso em: 6 maio. 2018

ÇOLAKOĞLU, G. Airborne fungal spores at the Belgrad forest near the city of Istanbul (Turkey) in the year 2001 and their relation to allergic diseases. *Journal of Basic Microbiology*, v. 43, n. 5, p. 376–384, 2003.

CONAMA. Padroes de qualidade do Ar, Resolucao CONAMA. v. 60, p. 342–346, 1990.

CORRÊA, R. DE A. et al. Carga de doença por infecções do trato respiratório inferior no Brasil, 1990 a 2015: estimativas do estudo Global Burden of Disease 2015. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 20, n. suppl 1, p. 171–181, maio 2017.

COSTA, W. R.; MINEO, M. F. Os líquens como bioindicadores de poluição atmosférica no município de Minas Gerais. p. 2690–2700, 2013.

COUTO, M. S. Urbanizados e preservados de um campus universitário. p. 41–47, 2007.

COUTO, S. R.; TOCA-HERRERA, J. L. Laccase production at reactor scale by filamentous fungi *Biotechnology Advances*, 2007.

DE HOOG, G. S. et al. Name changes in medically important fungi and their implications for clinical practice *Journal of Clinical Microbiology*, 2015.

DILKIN, P. et al. Dosagem de ergosterol como indicador de contaminação fúngica em milho armazenado. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v. 70, p. 483–489, 2003.

DRUZHININA, I. S.; KOPCHINSKIY, A. G.; KUBICEK, C. P. The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. *Mycoscience*, v. 47, n. 2, p. 55–64, 2006.

- DUNN, R. R. et al. The ecology of microscopic life in household dust . 2015.
- EDUARDO FELIPE BARBOSA SILVA, M. DE P. B. M. A. A. DE O. R. R. M. J. F. E S. Aspergilose pulmonar necrotizante crônica. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, v. 35, n. 1, p. 95–98, 2009.
- EGAN, C.; LI, D. W.; KLIRONOMOS, J. Detection of arbuscular mycorrhizal fungal spores in the air across different biomes and ecoregions. *Fungal Ecology*, v. 12, p. 26–31, 2014.
- ELBERT, W. et al. Contribution of fungi to primary biogenic aerosols in the atmosphere: active discharge of spores, carbohydrates, and inorganic ions by Asco- and Basidiomycota. *Atmospheric Chemistry and Physics Discussions*, v. 6, p. 11317–11355, 2006.
- EMILIE, J. et al. Poluição do ar e efeitos na saúde nas populações de duas grandes metrópoles brasileiras. v. 12, n. 1, p. 29–40, 2003.
- EMYGDIO, A. P. M. et al. Biomarkers as indicators of fungal biomass in the atmosphere of São Paulo, Brazil. *Science of The Total Environment*, v. 612, p. 809–821, 15 jan. 2018.
- FILALI BEN SIDEL, F. et al. Airborne fungal spores of *Alternaria*, meteorological parameters and predicting variables. *International Journal of Biometeorology*, v. 59, n. 3, p. 339–346, 2015.
- FLORES, M. E. B. et al. Fungal spore concentrations in indoor and outdoor air in university libraries, and their variations in response to changes in meteorological variables. *International Journal of Environmental Health Research*, v. 24, n. 4, p. 320–340, 2014.
- GALIMBERTI, R. et al. Emerging systemic fungal infections. *Clinics in dermatology*, v. 30, n. 6, p. 633–50, 2012.
- GAMBALE W, PURCHIO A, P. C. Influência de fatores abióticos na dispersão aérea de fungos na cidade de São Paulo, Brasil. *Brazilian Society for Microbiology*, v. 14, p. 204–214, 1983.
- GARNACHO-MONTERO, J. et al. Epidemiologia, diagnostico y tratamiento de las infecciones fungicas respiratorias en el paciente critico. *Epidemiology, diagnosis and treatment of fungal respiratory infections in the critically ill patient*, v. 26, n. 2, p. 173–188, 2013.
- GONCALVES, F. L. T.; MASSAMBANI, O. Bacteria and fungal spores as ice nuclei from *Coffea arabica* L . *Resumo. Ciencia & Natura*, v. 33, p. 73–93, 2011.
- GÓRNY, R. L. et al. Fungal Fragments as Indoor Air Biocontaminants. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, n. 7, p. 3522–3531, 2002.
- GRAVESEN, S. Fungi as a Cause of Allergic Disease. *Allergy*, 1979.
- GREEN, B. J. et al. Surveillance of fungal allergic sensitization using the fluorescent halogen immunoassay. *Journal de Mycologie Medicale*, v. 19, n. 4, p. 253–261, 2009.
- GRINN-GOFRÓN, A.; BOSIACKA, B. Effects of meteorological factors on the composition of selected fungal spores in the air. *Aerobiologia*, v. 31, n. 1, p. 63–72,

2015.

GRINN-GOFRÓN, A.; MIKA, A. Selected airborne allergenic fungal spores and meteorological factors in Szczecin, Poland, 2004-2006. *Aerobiologia*, v. 24, n. 2, p. 89–97, 2008.

GRINN-GOFRÓN, A.; STRZELCZAK, A.; WOLSKI, T. The relationships between air pollutants, meteorological parameters and concentration of airborne fungal spores. *Environmental Pollution*, v. 159, n. 2, p. 602–608, 2011.

GUTAROWSKA, B.; PIOTROWSKA, M. Methods of mycological analysis in buildings. *Building and Environment*, v. 42, n. 4, p. 1843–1850, abr. 2007.

HALEEM KHAN, A. A.; MOHAN KARUPPAYIL, S. Fungal pollution of indoor environments and its management. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v. 19, n. 4, p. 405–426, 2012.

HAWKSWORTH, D. L. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research*, v. 95, n. 6, p. 641–655, 1991.

HAWKSWORTH, D. L. Managing and coping with names of pleomorphic fungi in a period of transition. *IMA FUNGUS*, v. 3, n. 1, p. 15–24, 2012.

HEALD, C. L.; SPRACKLEN, D. V. Atmospheric budget of primary biological aerosol particles from fungal spores. *Geophysical Research Letters*, v. 36, n. 9, 2009.

HIBBETT, D. S. et al. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, v. 111, n. 5, p. 509–547, 2007.

HO, H. M. et al. Characteristics and determinants of ambient fungal spores in Hualien, Taiwan. *Atmospheric Environment*, v. 39, n. 32, p. 5839–5850, 2005.

HOOG, C. et al. Atlas of Clinical Fungi. Disponível em: <<http://www.clinicalfungi.org/>>.

HUFFMAN, J. A. et al. High concentrations of biological aerosol particles and ice nuclei during and after rain. *Atmospheric Chemistry and Physics*, v. 13, p. 6151–6164, 2013.

INÊS, I. et al. Artigo / Article Avaliação clínica e micológica de onicomicose em pacientes brasileiros com HIV / AIDS Clinical and mycological evaluation of onychomycosis among Brazilian HIV / AIDS patients. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 44, n. 1, p. 40–42, 2011.

JAENICKE, R. Abundance of cellular material and proteins in the atmosphere. *Science (New York, N.Y.)*, v. 308, n. 5718, p. 73, 2005.

JONES, A. M.; HARRISON, R. M. The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations - A review *Science of the Total Environment*, 2004.

KEELING, P. J.; LUKER, M. A.; PALMER, J. D. Evidence from beta-tubulin phylogeny that microsporidia evolved from within the fungi. *Molecular Biology and Evolution*, v. 17, n. 1, p. 23–31, 2000.

KINSEY, G.; PATERSON, R.; KELLEY, J. Filamentous fungi in water systems. In: *Handbook of Water and Wastewater Microbiology*. [s.l: s.n.]. p. 77–98.

KIRK, P.M. ; CANNON, P.F. ; MINTER, D.W. ; STALPERS, J. A. Dictionary of the Fungi. 10. ed. The Netherlands: CABI INTERNATIONAL, 2009. v. 10th

KOCH, A et al. Indoor viable mold spores--a comparison between two cities, Erfurt (eastern Germany) and Hamburg (western Germany). *Allergy*, v. 55, n. 2, p. 176–80, 2000.

KUBICEK, C.; KOMON-ZELAZOWSKA, M.; DRUZHININA, I. Fungal genus *Hypocrea* / *Trichoderma*: from barcodes to biodiversity. *J Zhejiang Univ Sci B*, v. 9, n. 10, p. 753–763, 2008.

LANG-YONA, N. et al. 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.

LAU, A. F. et al. Development of a Clinically Comprehensive Database and a Simple Procedure for Identification of Molds from Solid Media by Matrix- Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight Mass. v. 51, n. 3, p. 828–834, 2013.

LEE, K. S. et al. A field comparison of four samplers for enumerating fungal aerosols I. Sampling characteristics. *Indoor Air*, v. 14, n. 5, p. 360–366, 2004.

LIGHTHART, B.; SHAFFER, B. T. Airborne bacteria in the atmospheric surface layer: Temporal distribution above a grass seed field. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 61, n. 4, p. 1492–1496, 1995.

LINDER, M. B. et al. Hydrophobins: The protein-amphiphiles of filamentous fungi *FEMS Microbiology Reviews*, 2005.

LINDOW, S. E.; ARNY, D. C.; UPPER, C. D. Bacterial ice nucleation: a factor in frost injury to plants. *Plant physiology*, v. 70, n. 4, p. 1084–1089, 1982.

LOBATO R.C.; et.al.. Sazonalidade e prevalênciade fungos anemófilos em ambiente hospitalar no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. *Rev.Fac.Ciênc.Méd.Sorocaba*, v. 11, n. 2, p. 21–28, 2009.

LUOMA, M.; BATTERMAN, S. A. Characterization of particulate emissions from occupant activities in offices. *Indoor air*, v. 11, n. 1, p. 35–48, 2001.

MAGESTE, J., PEREIRA, T., SILVA, G., BARROS, R. . Estudo da microbiota fúngica anemófila de uma indústria farmacêutica de Juiz de Fora – MG. *FACIDER*, v. 1 set, 2012.

MAHIEU, L. M. et al. A prospective study on factors influencing *aspergillus* spore load in the air during renovation works in a neonatal intensive care unit. p. 191–197, 2000.

MARTINS, E. A. et al. Onychomycosis: clinical, epidemiological and mycological study in the municipality of São José do Rio Preto. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 40, n. 5, p. 596–598, 2007.

MARTINS, M. S. D. A.; ISABEL, M.; LEMOS, A. Liqueus como bioindicadores da qualidade do ar numa área de termoeletrica , Rio Grande do Sul , Brasil. *Hoehnea*, v. 35, n. 3, p. 425–433, 2008.

MATTHIAS-MASER, S. et al. Seasonal variation of primary biological aerosol particles in the remote continental region of Lake Baikal/Siberia. *Atmospheric Environment*, v. 34, n. 22, p. 3805–3811, 2000.

MÉHEUST, D. et al. Indoor fungal contamination: Health risks and measurement methods in hospitals, homes and workplaces *Critical Reviews in Microbiology*, 2014.

MEIJER, M. et al. Growth and hydrolase profiles can be used as characteristics to distinguish *Aspergillus niger* and other black aspergilli. *Studies in Mycology*, v. 69, p. 19–30, 2011.

MENDONÇA, D. U. et al. Aspergilose pulmonar em paciente imunocompetente e previamente sadio *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2011.

MITCHELL, C. S. et al. Current state of the science: health effects and indoor environmental quality. *Environmental health perspectives*, v. 115, n. 6, p. 958–64, jun. 2007.

MM, R. et al. Levantamento da microbiota fúngica em clínica de fisioterapia de um centro universitário de práticas supervisionadas. *Xiv Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e X Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba. Anais...*1990

MORRIS, C. E.; GEORGAKOPOULOS, D. G.; SANDS, D. C. Ice nucleation active bacteria and their potential role in precipitation. *Journal de Physique IV (Proceedings)*, v. 121, p. 87–103, 2004.

MORRISON, J. et al. Monitoring *Aspergillus* species by quantitative PCR during construction of a multi-storey hospital building *Journal of Hospital Infection*, 2004.

MOURA, M.L., CALDAS, C. C. et al. The impaction capacity of Millipore M air T ® and Merck MAS- 100 ® in an external environment. *Access Journal of Environmental Research*, v. 1, n. November, p. 1–6, 2015.

MUNZI, S.; RAVERA, S.; CANEVA, G. Epiphytic lichens as indicators of environmental quality in Rome. *Environmental Pollution*, v. 146, n. 2, p. 350–358, 2007.

NAFIS, A.; SHARMA, K. Isolation of aeromycoflora in the indoor environment of chawri bazar metro-railway station , Delhi , India. v. 4, n. 3, p. 4–5, 2012.

NEVALAINEN, A.; TÄUBEL, M.; HYVÄRINEN, A. Indoor fungi: Companions and contaminants *Indoor Air*, 2015.

NUCCI, M.; ANAÏSSIE, E. *Fusarium* infections in immunocompromised patients *Clinical Microbiology Reviews*, 2007.

NUNES, Z. G. et al. Indoor air microbiological evaluation of offices, hospitals, industries, and shopping centers. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 100, n. 4, p. 351–7, jul. 2005.

OLAYA L. R.; L. J. R.; VALENCIA, M. L. C. DE. Delimitación de áreas de isocontaminación atmosférica en el campus de la Universidad Nacional de Colombia mediante el análisis de bioindicadores (líquenes epífitos). *Acta Biológica Colombiana*, v. 11, n. 2, p. 87–102, 1982.

OLIVEIRA, M.; ABREU, I.; RIBEIRO, H. Esporos fúngicos na atmosfera da cidade do Porto e suas implicações alergológicas. p. 61–85, 2007.

OLIVEIRA, A. C. DE; KOVNER, C. T.; SOUZA, R. Infecção hospitalar em unidade de tratamento intensivo de um hospital universitário brasileiro. *Revista latino-americana de enfermagem*, v. 18, 2010.

OLIVEIRA, M. A. DE et al. Bioindicadores ambientais : insetos como um instrumento desta avaliação. p. 800–807, [s.d.].

ONOFRE., L. H. F. S. B. Determinação da presença de fungos anemófilos e leveduras em unidade de saúde da cidade de Francisco Beltrão- PR. p. 22–26, 2010.

ORZECOWSKI XAVIER, M. et al. Invasive pulmonary aspergillosis due to a mixed infection caused by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus fumigatus*. *Revista Iberoamericana de Micologia*, v. 25, n. 3, p. 176–178, 2008.

PARMAR, T. K.; RAWTANI, D.; AGRAWAL, Y. K. Bioindicators : the natural indicator of environmental pollution. v. 3769, 2016.

PASQUARELLA, C.; PITZURRA, O.; SAVINO, A. The index of microbial air contamination. p. 241–256, 2000.

PESCOTT, O. L. et al. Air pollution and its effects on lichens, bryophytes, and lichen-feeding Lepidoptera: Review and evidence from biological records. *Biological Journal of the Linnean Society*, v. 115, n. 3, p. 611–635, 2015.

POULEUR, S. et al. Ice nucleation activity in *Fusarium acuminatum* and *Fusarium avenaceum*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 58, n. 9, p. 2960–2964, 1992.

RAJA, N. S.; SINGH, N. N. Disseminated invasive aspergillosis in an apparently immunocompetent host. *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi*, v. 39, n. 1, p. 73–77, 2006.

REOLON, A.; PEREZ, L. R. R.; MEZZARI, A. Prevalência de *Cryptococcus neoformans* nos pombos urbanos da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 40, n. 5, p. 293–298, 2004.

Resolução CONAMA Nº 491 DE 19_11_2018 - Federal - LegisWeb. , [s.d.].

RIBEIRO, F. N. D. et al. Air quality in São Paulo – Brazil: temporal evolution and spatial distribution of carbon monoxide, coarse particulate matter and ozone. 2015.

ROSENFELD, D. et al. Flood or drought: how do aerosols affect precipitation? *Science (New York, N.Y.)*, v. 321, n. 5894, p. 1309–13, 2008.

ROSS, C. et al. Studies on Fungal and Bacterial Population of Air- conditioned Environments. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 47, n. September, p. 827–835, 2004.

SANTIAGO, R. et al. Biologically-Active Compounds from Brazilian Lichens and their Affinity with Ether. v. 4, 2017.

SANTOS, C. et al. Filamentous fungal characterizations by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Journal of applied microbiology*, v. 108, n. 2, p. 375–85, 2010.

SAUTOUR, M. et al. Profiles and seasonal distribution of airborne fungi in indoor and outdoor environments at a French hospital. *Science of the Total Environment*, v. 407, n. 12, p. 3766–3771, 2009.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H. et al. Airborne fungi in the region of Cubatão , São Paulo State , Brazil. p. 61–65, 2001.

SEGAL, B. H. et al. Defining responses to therapy and study outcomes in clinical trials of invasive fungal diseases: Mycoses Study Group and European Organization for Research and Treatment of Cancer consensus criteria. *Clinical infectious diseases : an*

official publication of the Infectious Diseases Society of America, v. 47, n. 5, p. 674–83, 1 set. 2008.

SENG, P. et al. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 49, n. 4, p. 543–551, 2009.

SESARTIC, A.; LOHMANN, U.; STORELVMO, T. Modelling the impact of fungal spore ice nuclei on clouds and precipitation. *Environmental Research Letters*, v. 8, n. 1, p. 14029, 2013.

SMITH, G. R. et al. Competition-colonization tradeoffs structure fungal diversity. *ISME Journal*, v. 12, n. 7, p. 1758–1767, 2018.

SOUSA, L. et al. Monitoring of anamorphic fungal spores in Madeira region (Portugal), 2003–2008. *Aerobiologia*, n. January, p. 2003–2008, 2015.

SYMONDS, E. P. et al. Growth characteristics and enzyme activity in *Batrachochytrium dendrobatidis* isolates. *Mycopathologia*, v. 166, n. 3, p. 143–147, 2008.

TÁVORA, L. G. F. et al. Comparative performance of two air samplers for monitoring airborne fungal propagules. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 36, n. 5, p. 613–616, 2003.

TEIXEIRA, E. C.; FELTES, S.; DE SANTANA, E. R. R. Estudo das emissões de fontes móveis na região metropolitana de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Química Nova*, v. 31, n. 2, p. 244–248, 2008.

THEOTÔNIO, P. et al. O papel das partículas de aerossol no funcionamento do ecossistema amazônico. *Mudanças climáticas/ Artigos*, p. 48–50, 2007.

TORTORANO, A. M. et al. Invasive fungal infections in the intensive care unit: A multicentre, prospective, observational study in Italy (2006-2008). *Mycoses*, v. 55, n. 1, p. 73–79, 2012.

VIEIRA, K. M. et al. Incidência de *Aspergillus* seção *Nigri* em Cebolas Comercializadas no Estado do Paraná. v. 55, n. 43, p. 86057, 2015.

WHITTAKER, R. H. New concepts of kingdoms or organisms. Evolutionary relations are better represented by new classifications than by the traditional two kingdoms. *Science*, v. 163, n. 863, p. 150–160, 1969.

YAMAMOTO, N. et al. Particle-size distributions and seasonal diversity of allergenic and pathogenic fungi in outdoor air. *The ISME Journal*, v. 6, n. 10, p. 1801–1811, 2012.

YAO, M. Bioaerosol: A bridge and opportunity for many scientific research fields. *Journal of Aerosol Science*, v. 115, n. August 2017, p. 108–112, 2018.

YASSIN, M. F.; ALMOUQATEA, S. Assessment of airborne bacteria and fungi in an indoor and outdoor environment. *International Journal of Environmental Science and Technology*, v. 7, n. 3, p. 535–544, 2010.

ZIEGLER M. F. Poluição em São Paulo diminuiu pela metade com greve dos caminhoneiros _ AGÊNCIA FAPESP.

Artigo 3: Impacto da diminuição da poluição na concentração de fungos em São Paulo durante uma greve no setor de transporte em São Paulo, Brasil, em maio de 2018

Introdução

O crescimento urbano que ocorre no mundo, leva ao aparecimento de megacidades, trazendo sérias consequências ao próprio homem e à natureza. A poluição é uma delas. O ar atmosférico não passa por um tratamento prévio antes de ser usado pelos seres vivos e tem sido contaminado por diversas substâncias tóxicas emitidas por automóveis, indústrias e outras fontes. Os atuais níveis de poluição do ar presentes em muitos locais podem comprometer o presente e o futuro das populações (ARBEX et al., 2012)

A utilização de bioindicadores, seres vivos ou parte deles, no monitoramento ambiental já é frequente em algumas áreas da biologia. Eles são ferramentas utilizadas na detecção de mudanças ambientais, seja ela positiva ou negativa, e seus efeitos subsequentes na sociedade humana.

Os bioindicadores podem também detectar mudanças no ambiente devido à presença de poluentes que por sua vez afetam a biodiversidade bem como as espécies presentes nele (PARMAR; RAWTANI; AGRAWAL, 2016)

A utilização de bioindicadores, seres vivos ou parte deles, no monitoramento ambiental já é frequente em algumas áreas da biologia. Eles são ferramentas utilizadas na detecção de mudanças ambientais, seja ela positiva ou negativa, e seus efeitos subsequentes na sociedade humana.

Os bioindicadores podem também detectar mudanças no ambiente devido à presença de poluentes que por sua vez afetam a biodiversidade bem como as espécies presentes nele (PARMAR; RAWTANI; AGRAWAL, 2016)

Dentre os bioindicadores conhecidos, os líquens incluem espécies altamente sensíveis ao ambiente que mudam conforme a concentração de poluentes, em especial o dióxido de enxofre, proveniente de queima de combustível. Eles mostram alta sensibilidade a poluentes não somente pela diminuição da sua vitalidade, como por sinais externos característicos. A grande sensibilidade está estreitamente relacionada com sua biologia. (MARTINS; ISABEL; LEMOS, 2008; PESCOTT et al., 2015).

A sensibilidade a distúrbios ambientais mostrada pelos Líquens é tão clara que fortalece o potencial desta associação simbiótica como bioindicadores. (COSTA; MINEO, 2013).

Os líquens são poiquilohídricos, ou seja, não apresentam capacidade de controlar o seu déficit hídrico, variando este de acordo com a umidade do ambiente. Eles são associações simbióticas de mutualismo entre fungos e algas, e o fungo é geralmente um basidiomiceto (SANTIAGO et al., 2017).

Como o parceiro fúngico compreende cerca de 95% da associação encontrada nos líquens existe a possibilidade de que o monitoramento de fungos pertencentes aos bioaerossóis possa permitir um melhor monitoramento ambiental.

As partículas biológicas podem perfazer de 10 a 50% da massa total do ar, dependendo da estação do ano e da localização geográfica. O tamanho das partículas pode variar de 0,01 mm até mais de 100 mm. São constituídos de diversas partículas vivas tais como: grãos de pólen; bactérias; vírus e fungos, além de seus fragmentos (BERNARDI, 2006; GONCALVES; MASSAMBANI, 2011; JAENICKE, 2005; JONES; HARRISON, 2004b; KINSEY; PATERSON; KELLEY, 2003) .

Os fungos que fazem parte dos bioaerossóis são conhecidos como anemófilos. Investigados em pesquisas multidisciplinares, que envolvem muitas áreas diferentes como: a microbiologia, ciências atmosféricas, ciência médica, epidemiologia, ciência imunológica, são componentes dos bioaerossóis e também podem ser considerados como indicadores do nível atmosférico de bio-poluição. Na botânica são relacionados às doenças de plantas. Na medicina, a importância de esporos fúngicos no ar tem sido enfatizada em conexão com reações alérgicas com um amplo espectro de formas clínicas (GRAVESEN, 1979).

Os anemófilos presentes na composição dos bioaerossóis podem apresentar concentrações e composições que flutuam de acordo com a complexa interação entre fatores biológicos e ambientais, tais como: localização geográfica, poluição do ar, condições climáticas, atividade humana e fonte local de vegetação.

Fatores meteorológicos que influenciam na ocorrência de esporos no ar têm sido destacados por muitos autores em diferentes ambientes. A distribuição pelo ambiente é bastante complexa pois são ubíquos, isto é, conseguem viver em diversos ambientes com as mais variadas condições ambientais. Na prática, o nicho ecológico de um fungo pode ser qualquer lugar onde ele se desenvolva, permitindo muitas vezes a proliferação de uma determinada espécie com maior intensidade que

outra. No entanto, muitos fungos são capazes de suportar condições extremas e mesmo assim se reproduzir para manter seu ciclo de vida (HOOG et al., 2014; SOUSA et al., 2015).

Vários fatores podem ser levados em conta para explicar as diferentes concentrações de esporos ao longo do ano em diferentes ambientes, mas é importante lembrar que todos os esporos não estão viáveis e a sua viabilidade é influenciada por variações meteorológicas, propriedades do solo, quantidade de matéria orgânica, entre outros fatores (EMYGDIO et al., 2018).

Com a modernidade, as regiões poluídas passaram a ser monitoradas quanto a qualidade do ar. A poluição por sua vez afeta o desenvolvimento dos líquens, que já são conhecidos como bioindicadores. Como resposta a poluição nas regiões urbanas eles desapareceram aos poucos, primeiro os mais sensíveis e depois os oportunistas que não encontram espaços para o seu desenvolvimento, devido a sua resistência e/ou tolerância aos efeitos da poluição.

Com esta mudança a cidade acaba perdendo um controle biológico natural de poluição, os líquens, trazendo uma nova demanda em busca de novos bioindicadores agora nas regiões urbanas.

Neste caso temos uma hipótese: O monitoramento de anemófilos e de suas relações com as condições ambientais pode determinar a sensibilidade dos mesmos quanto à poluição dispersa no ar sinalizando possíveis alterações no meio ambiente.

Monitoramento microbiológico

Existem dois métodos recomendados de amostragem de micro-organismos no ar. O método passivo, que utiliza a sedimentação dos micro-organismos presentes no ar em placas e o de impactação, que pode ser feito em ágar, meio líquido, centrifugação, filtração ou precipitação eletrostática. Dentro deste modo de amostragem, o processo mais utilizado para ambientes internos é por impactação em meio sólido. (COUTO; TOCA-HERRERA, 2007; HALEEM KHAN; MOHAN KARUPPAYIL, 2012b; NUNES et al., 2005).

A legislação brasileira proposta pela Anvisa em 2018 sobre o controle ambiental dos edifícios com sistemas de ar condicionado define o controle e a manutenção dos sistemas de climatização a partir de um Plano de ação, Operação e Controle, com o objetivo de prevenir ou minimizar riscos à saúde dos ocupantes. O

plano obedece aos a parâmetros regulamentados pela Resolução 9/2003 da Anvisa. (“Resolução CONAMA Nº 491 DE 19_11_2018 - Federal - LegisWeb”, [s.d.])

Para o controle microbiológico - O Valor Máximo Recomendável - VMR, para contaminação microbiológica deve ser ≤ 750 ufc/m³ de fungos, para a relação I/E $\leq 1,5$, onde I é a quantidade de fungos no ambiente interior e E é a quantidade de fungos no ambiente exterior, na legislação é inaceitável a presença de fungos patogênicos e toxigênicos (CONAMA, 1990) .

Para ambientes externos a Resolução N. 491, DE 19 DE NOVEMBRO DE 2018 determina que os bioaerossóis ficam inclusos no padrão de qualidade do ar em materiais particulados inaláveis e que não podem ultrapassar o valor de 80 µg/m³ pois poderão afetar a saúde, a segurança e o bem-estar da população, já a Organização Mundial da Saúde recomenda valores de até 50 µg/m³ de partículas inaláveis em 24 horas (Conama 2018).

Região metropolitana de São Paulo e suas fontes poluidoras

Nas grandes cidades as fontes veiculares têm uma participação acentuada na degradação da qualidade do ar atmosférico. Os congestionamentos de grandes extensões, a redução da velocidade média do trânsito, o maior gasto de combustível são questões que fazem parte da rotina diária. As emissões causadas por veículos carregam então diversas substâncias tóxicas que podem modificar a qualidade do ar circulante (TEIXEIRA; FELTES; DE SANTANA, 2008).

Na cidade de São Paulo isto não é diferente. Em 2016 a frota circulante de veículos foi estimada é de 15,3 milhões de veículos. Um grande volume desses veículos em circulação tem idade avançada, nesse caso, o impacto se agrava pela tecnologia de controle da emissão defasada, pelo desgaste natural do motor e componentes e pela manutenção pouco eficiente no aspecto ambiental. De um modo geral, os poluentes que causam maior preocupação nas regiões urbanas são o ozônio (O₃) e as partículas inaláveis (MP_{2,5} e MP₁₀), poluentes gerados em processos de combustão advindos das fontes móveis e dos segmentos industrial e agrícola. (BRUNI, A. C., DIAS, C.S., OLIVEIRA, 2017).

A região metropolitana de São Paulo emite anualmente 165.000 toneladas de monóxido de carbono (CO), 46.000 toneladas de hidrocarbonetos (HC), 71.000

toneladas de óxidos de nitrogênio (NOx), 10.000 toneladas de óxidos de enxofre (SOx) e 5.000 toneladas de material particulado PM).

As emissões veiculares são responsáveis por 97% de 82% de HC, 78% de NOx, 43 % de SOx e 40% de PM (RIBEIRO et al., 2015).

A região metropolitana de São Paulo emite anualmente 165.000 toneladas de monóxido de carbono (CO), 46.000 toneladas de hidrocarbonetos (HC), 71.000 toneladas de óxidos de nitrogênio (NOx), 10.000 toneladas de óxidos de enxofre (SOx) e 5.000 toneladas de material particulado PM).

As emissões veiculares são responsáveis por 97% de 82% de HC, 78% de NOx, 43% de SOx e 40% de PM (RIBEIRO et al., 2015).

Devido aos problemas relacionados ao trânsito, a cidade de São Paulo apresenta desde 1997 um programa de rodizio veicular que funciona de acordo com o final de placa e dia da semana, os veículos não podem circular nas ruas e avenidas internas ao chamado centro expandido das 7 às 10 horas e das 17 às 20 horas, menos nos fins de semana (<https://www1.folha.uol.com.br/fsp/cotidian/ff061001.htm>) (Figura 18).

Figura 18 - Mapa da área de rodizio de veículos da cidade de São Paulo

Imagem adaptada: http://s2.glbimg.com/yq_95ARXdcKd3RbvDvIznIzQuzk=/s.glbimg.com/jo/g1/f/original/2015/01/11/maps620.jpg

A paralização dos caminhoneiros

No mês de maio de 2018 ocorreu uma manifestação de caminhoneiros em todo o país, modificando os hábitos na região metropolitana de São Paulo principalmente a circulação pela cidade (Figura 19).

A manifestação foi contra o aumento de preço do diesel, com duração de sete dias. Este movimento na cidade de São Paulo provocou modificações estruturais e principalmente na composição do ar atmosférico (ZIEGLER M. F., 2018).

Eles bloquearam as principais rodovias da região metropolitana de São Paulo, fato este que promoveu mudanças no trânsito da cidade e, por consequência, na concentração de poluentes dispersos no ar. Esta greve resultou em transtornos graves para a população e para os negócios. No entanto, a redução do tráfego, principalmente o de caminhões, constituiu ambiente raro para avaliar índices e efeitos da poluição do ar na capital paulista. Neste período o governo suspendeu o rodízio de carros por cinco dias.

As emissões em São Paulo caíram pela metade em duas estações do Sistema de Informações de Qualidade do Ar da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo, a localizada no Ibirapuera e a que fica no bairro Cerqueira César, ao lado do local onde foram realizadas as coletas (ZIEGLER M. F., 2018).

Figura 19 - Foto da greve dos caminhoneiros

(Foto: Marcelo Camargo / Agência Brasil)

Atividades cotidianas nas grandes cidades ao longo do tempo modificam ambientes biologicamente estruturados. As consequências podem ser drásticas e, por isso, faz-se necessária a busca de ferramentas e ou instrumentos que auxiliam o monitoramento da diversidade biológica desses locais.

Objetivo

Medir a concentração de fungos e bactérias no ar atmosférico durante a greve de caminhoneiros e relacionar com as condições atmosféricas e a concentração de poluentes e identificar os fungos anemófilos isolados, aproveitando a oportunidade ocasionada pelo movimento diferenciado ocorrido na cidade de São Paulo – Brasil.

Materiais e métodos

Este estudo valeu-se de um experimento natural ocorrido na cidade de São Paulo em que a poluição atmosférica foi reduzida drasticamente em um curto espaço de tempo. Teve início no dia 25 de maio de 2018, quando a paralização dos caminhoneiros já estava no terceiro dia e durou até o dia 30 do mesmo mês. (Figura 20 e 21).

Figura 20- Fotos do ponto de coleta 23º Andar do ICESP durante o período de greve dos caminhoneiros

24 DE MAIO

30 DE MAIO

Figura 21 - Fotos dos locais de coleta de ar durante a greve de caminhoneiros

Ibiúna

**ICESP
Andar térreo**

**ICESP
23 º andar**

Tendo em vista a possibilidade de alterações ambientais motivadas pela redução no número de veículos em circulação pela cidade foram realizados cinco dias de coleta na cidade de São Paulo, no bairro Cerqueira César, e como controle dois dias na Cidade de Ibiúna, no Bairro Votorantim, distantes entre si 60,6 quilômetros. Figura 22.

Figura 22 - Mapa de localização das duas cidades estudadas

Em São Paulo as coletas ocorreram em um mesmo local com altitudes diferentes de 737 e 849 metros.

Foram coletadas três amostras diárias no nível da avenida Dr. Arnaldo, bairro Cerqueira César e três amostras no 23º andar sobre o prédio do ICESP (Instituto do Câncer do Estado de São Paulo) com 112 metros de altura. Para controle, foram feitos dois dias de coletas na cidade de Ibiúna, zona rural, interior do estado de São Paulo, onde não ocorre normalmente circulação de automóveis (Tabela 19).

As amostras de ar para isolamento de bactérias e fungos foram coletadas com o equipamento impactador, MAS 100-ECO (Merck®, Fr.). Somente os isolados de fungos foram identificados até gênero.

Durante os procedimentos de coleta foi utilizado uma placa de Petri descartável contendo 20mL de meio de cultura, sendo Dicloran Rosa Bengala modificado (DRBCm) (DE MATOS CASTRO E SILVA et al., 2015)) para isolamento de fungos e o ágar Caldo Soja Trypticaseína (TSB) para o cultivo de bactérias.

Cada coleta apresentou volume final de 250L (0,25m³) permitindo analisar a concentração de fungos e bactérias.

Tabela 19- Características geográficas e frota de caminhões das cidades estudadas.

Local	Área (km ²)	População da cidade	Densidade demográfica (hab/km ²)	Altitude (metros)	Frota de caminhões
Chácara Dna. Maria - Ibiúna	1058.08	77.566	67,31	996	33119
ICESP – Térreo - SP	1.521,11	12.106.920	7398,26	737	8.694.466
ICESP - 23º Andar -SP				849	

As placas contendo DRBCm foram incubadas em estufa bacteriológica ajustada à 30° ± 2°C por até 7 dias para isolamento e identificação fenotípica de gênero de fungos seguindo método específico (HOOG et al., 2014).

Os dados sobre as condições atmosféricas foram extraídos do banco de dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do país (INMET) que provê informações meteorológicas.

<http://www.inmet.gov.br/projetos/rede/pesquisa/inicio.php>.

Os dados sobre os poluentes foram obtidos na Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) em relatórios diários on-line. <https://cetesb.sp.gov.br/ar/>.

Resultados

Observando os registros de condições ambientais na tabela 2 nota-se que nos últimos 18 anos as médias de temperatura apresentaram variações significativas no mês de maio. Em 2018 o valor registrado pelo INMET foi de 25°C valor atingido pela última vez em 2009, já a umidade relativa foi a menor nos últimos 9 anos (Tabela 20).

Durante os dias de coleta a temperatura, umidade e a nebulosidade apresentaram variações relevantes na cidade de São Paulo. A média de umidade caiu de 57,3 para 34% e a temperatura subiu de 19,2 para 26,7°C e a nebulosidade diminuiu de 10 para 3% (Tabela 21).

Tabela 20 - Registro das médias de temperatura e umidade relativa do ar dos últimos dezoito anos na cidade de São Paulo do ar durante o mês de maio.

	ANO									
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Temperatura (média)	13.9	23	25	23.6	22.0	25.1	22.1	23.0	23	25
Umidade (média)	68.1	74.5	73.7	70	81.3	71.2	74.4	74.7	70.7	79
Ano	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	
Temperatura (média)	23.7	23	23	15	23.5	22.8	23	23	25.0	
Umidade (média)	74.5	75.2	77.2	74.8	73.6	78.6	76.4	80	71.5	

(Fonte: INMET)

Tabela 21 - Média das condições atmosféricas durante os dias de greve de caminhoneiros na cidade de São Paulo- Brasil.

DIA	PREC. DA CHUVA %	UMIDADE %	TEMP. °C	NEBULOSIDADE %
24/mai	0	57,3	19,2	10,0
25/mai	10	59,7	19,5	10,0
28/mai	0	46,2	24,4	10,0
29/mai	0	42,7	23,9	1,0
30/mai	10	34,0	26,7	3,0

Para uma análise mais ampla dos poluentes foi acrescentado os dados as medições do fim de semana no período em estudo que apresentou variações significativas (Tabela 22).

Tabela 22 - Concentração de poluentes durante a greve de caminhoneiros na cidade de São Paulo- Brasil.

DIA	DIA DA SEMANA	SO ₂ µg/m ³	NO ₂ µg/m ³	CO ppm	NO µg/m ³	O ₃ µg/m ³	NO _x µg/m ³
24/mai	Quinta	39	82	16	31	4	48
25/mai	Sexta	12	44	23	24	4	40
26/mai	Sábado	2	17	0	11	44	13
27/mai	Domingo	3	12	0	3	50	8
28/mai	Segunda	73	114	6	19	3	43
29/mai	Terça	73	69	75	34	3	38
30/mai	Quarta	78	52	56	32	3	35

(Fonte: INMET)

As menores taxas de SO₂, NO₂, CO, NO e NO_x foram encontradas nos dias 26 e 27 de maio correspondente ao fim de semana, ao contrário da concentração de O₃ que apresentou neste período a maior medida.

Durante este período de estudo houve um aumento significativo da concentração de O₃ no ar atmosférico durante o fim de semana. Tendo conhecimento sobre a formação do O₃ e analisando o gráfico pode-se criar a hipótese de que com a diminuição de poluentes houve redução na densidade de uma camada em suspensão, permitindo uma maior penetração dos raios ultravioleta na atmosfera.

As taxas de SO₂, NO e NO_x apresentaram crescimento após o fim de semana e se mantiveram estáveis. O CO e o NO₂ apresentaram aumento e depois ao decorrer dos dias iniciou um processo de queda (Figura 23).

Durante as análises verificou-se que a concentração de bactérias não apresentou modificações relevantes frente às diferentes condições ambientais apresentadas no período, porém isto não aconteceu com os fungos. Nos dias 24 e 25 de maio ocorreu maior isolamento de colônias, em média 20ufc/m³, já nos dias 28, 29 e 30 a média foi de 137ufc/m³, mostrando que reagiram às modificações ambientais promovida pela greve dos caminhoneiros em maio de 2018, aumentando o número de isolados em aproximadamente 80% (Figura 24).

Figura 23 - Gráficos da concentração de poluentes durante a greve de caminhoneiros na cidade de São Paulo- Brasil.

Figura 24 - Foto das placas com crescimento fúngico das coletas de ar nos dias 25 e 30 de maio de 2018

As concentrações de fungos nos dias 28, 29 e 30/05 se aproximaram aos dados obtidos na cidade de Ibiúna nos dias 24 e 25/05 mostrando comportamento de uma área sem poluição. (Tabela 23 e Figura 25).

Tabela 23 - Concentração de fungos e bactérias isolados nos pontos de coleta durante a greve de caminhoneiros em maio de 2018.

Data	Ibiúna		ICESP Térreo		ICESP 23º andar	
	Fungos	Bactérias	Fungos	Bactérias	Fungos	Bactérias
	ufc/m ³	ufc/m ³	ufc/m ³	ufc/m ³	ufc/m ³	ufc/m ³
24/mai	195	20	25	15	17	15
24/mai	150	16	28	20	12	18
24/mai	54	63	18	25	14	21
25/mai	120	130	16	28	12	10
25/mai	130	160	23	18	30	15
25/mai	180	180	25	15	28	12
28/mai	SM*	SM*	156	15	121	5
28/mai	SM*	SM*	150	10	123	8
28/mai	SM*	SM*	100	10	122	4
29/mai	SM*	SM*	162	12	114	6
29/mai	SM*	SM*	125	15	110	4
29/mai	SM*	SM*	150	12	104	4
30/mai	SM*	SM*	200	20	103	15
30/mai	SM*	SM*	202	10	120	10
30/mai	SM*	SM*	180	15	121	8

SM –Sem medida

Figura 25- Gráficos da concentração de fungos e bactérias no ar de São Paulo nos dias de greve dos caminhoneiros na Cidade de São Paulo

Figura 26 - Gráfico da distribuição dos 78 isolados de 32 amostras de ar coletadas nos pontos de coleta durante a greve de caminhoneiros.

Analisando as tabelas 24 e 25 que relacionam o número de gêneros fúngicos isolados e os dias de coleta, observa-se uma diminuição em todas as amostras no decorrer dos dias de greve de maneira inversa a concentração de fungos. No dia 30 de maio as amostras urbanas se aproximaram dos dados da cidade de Ibiúna (n=11 e 12, n=7 respectivamente).

Tabela 24 Frequência de gêneros e da concentração de fungos isolados durante a greve de caminhoneiros na Cidade de São Paulo- Brasil.

Dia da coleta	24	25	24	25	28	29	30	24	25	28	29	30
Média de gêneros isolados	1,3	1	3,6	1	1,6	1	2,6	2,3	3,6	1	1	2,3
Concentração de fungos (ufc/m ³)	133	143	24	21	135	145	194	14	23	122	109	115

Tabela 25 Gêneros fúngicos isolados nos três locais de coleta durante a greve dos caminhoneiros.

Gêneros	Ibiúna	São Paulo			
		Térreo		23º andar	
	24 e 25	24 e 25	29-30	24 e 25	29-30
<i>Aspergillus</i>	0	5	1	3	3
<i>Bipolaris</i>	0	0	0	0	0
<i>Curvularia</i>	2	7	5	6	3
<i>Penicillium</i>	2	5	1	1	1
<i>Neurospora</i>	0	6	4	6	3
<i>Rhizopus</i>	3	5	1	2	0
<i>Trichoderma</i>	0	0	0	2	1
Total:	7	28	12	20	11

Discussão

A poluição do ar é um complexo problema em Saúde Pública. O avanço tecnológico e industrial do mundo moderno trouxe aumento na quantidade e na variedade de poluentes eliminados na atmosfera, prejudicando de maneira muito séria a qualidade de vida em nosso planeta. As consequências ambientais causadas pelo aumento de veículos e indústrias na zona urbana e a expansão das populações no sentido cidade-interior apontam riscos para o ecossistema, causando a perda da diversidade, mesmo no mundo dos micro-organismos (CASTRO et al., 2003).

O monitoramento da poluição atmosférica já é feito nas grandes cidades a curto, médio e longo prazo, utilizando equipamentos específicos e de alto custo.

Com este trabalho conseguimos mostrar que os fungos estavam presentes em todas as amostras de ar atmosférico da região metropolitana de São Paulo, e que eles são sensíveis as variações climáticas e a concentração de poluentes dispersos no ar.

Como a dispersão e a concentração dos fungos anemófilos sofrem modificações de acordo com as condições ambientais eles podem ser utilizados como bioindicadores de poluição. É possível então avaliar os níveis de poluição atmosférica monitorando fungos (COSTA; MINEO, 2013).

No entanto, não há trabalhos utilizando micro-organismos como bioindicadores de poluição. Devido ao aumento de poluentes no ar, se faz necessário cada vez mais implementar medidas de controle avaliando não só os poluentes como também a vida dos fungos presentes no ar.

Nesta pesquisa, a diversidade fúngica durante o período de estudo não mostrou diferenças particulares, visto que os gêneros isolados são comuns no ar da região metropolitana de São Paulo, mas o número de unidades formadoras de colônias sofreu uma modificação clara, aumentando cerca de 80% respondendo a modificações ambientais oferecidas pela paralização dos caminhoneiros (EMYGDIO et al., 2018; GAMBALE W, PURCHIO A, 1983).

As Teorias da Ecologia Espacial explicam que a diversidade microbiana apresenta capacidade de colonizar e competir por ambientes específicos e são capazes e suficientes para explicar a estrutura observada em comunidades específicas, portanto, podem oferecer uma lente subvalorizada e útil por meio da qual se pode examinar comunidades microbianas na natureza (SMITH et al., 2018).

Os anemófilos por sua vez desempenham papéis importantes no clima e na saúde. Torna-se, portanto, importante avaliá-los não como poluentes participantes do MP10, mas também como seres vivos presentes no ar que podem ser marcadores biológicos revelando a condição de vida em determinados ambientes.

A alta concentração de fungos anemófilos próximo no 23º andar pode estar relacionado à influência direta dos ventos em direção à área. Isto pode ter sido favorecido pela época do ano, período com baixa umidade, dificultando a dispersão e o aumento da concentração. A sua proliferação diferenciada também pode ter sido influenciada pelos mesmos fatores, visto que houve uma mudança por causa do movimento de greve dos caminhoneiros no período de estudo.

Conclusões

Com este estudo foi observado que os fungos são sensíveis as condições meteorológicas e a exposição á poluentes atmosféricos podendo diminuir ou aumentar sua concentração de acordo com estas variáveis.

A associação entre a concentração de particulados no ar e os problemas de saúde ressalta ainda a atenção que deve ser dada à qualidade do ar externo das grandes metrópoles, devendo ser colocada como uma das prioridades enquanto estratégia de política pública visando controle e saúde ambiental.

Nesse sentido, fica evidente a importância do monitoramento da qualidade do ar frente a biomarcadores, mas como não existe líquens presentes na cidade podemos monitorar usando a presença de fungos anemófilos, com a mesma técnica utilizada em ambientes internos para medição de micro-organismos.

Referências Bibliográficas

- ABDUL-WAHAB, S.; FADLALLAH, S.; AL-RASHDI, M. Evaluation of the impact of ground-level concentrations of SO₂, NO_x, CO, and PM₁₀ emitted from a steel melting plant on Muscat, Oman Sustainable Cities and Society, 2018.
- ADAMS, R. I. et al. Dispersal in microbes: fungi in indoor air are dominated by outdoor air and show dispersal limitation at short distances. The ISME Journal, v. 7, p. 1262–1273, 2013.
- AGUIAR;LAÍS SINHORINI. Estudo da relação da qualidade do ar e variáveis meteorológicas na ocorrência de morbidade respiratória e circulatória na região metropolitana. [s.l.] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2015.
- AMATO, P. et al. Microorganisms isolated from the water phase of tropospheric clouds at the Puy de Dôme: Major groups and growth abilities at low temperatures. FEMS Microbiology Ecology. Anais...2007
- AMEND, A. S.; SEIFERT, K. A.; BRUNS, T. D. Quantifying microbial communities with 454 pyrosequencing: Does read abundance count? Molecular Ecology, v. 19, n. 24, p. 5555–5565, 2010.
- ARBEX, M. A. et al. A poluição do ar e o sistema respiratório. Jornal Brasileiro de Pneumologia, v. 38, n. 5, p. 643–655, 2012.
- ARTAXO, P. et al. Atmospheric Chemistry in Amazonia: The forest and the biomass burning emissions controlling the composition of the Amazonian atmosphere Acta Amazonica, 2005.
- BARAN, E. et al. Risk assessment of fungi reported from humans and animals*. MYCOSES, v. 39, n. 10, p. 407–417, 1996.
- BARCELLOS, C. et al. Mudanças climáticas e ambientais e as doenças infecciosas: cenários e incertezas para o Brasil. Epidemiologia e Serviços de Saúde, v. 18, n. 3, p. 285–304, set. 2009.
- BERNARDI, E. Fungos anemófilos e suas relações com fatores abióticos , na praia do Laranjal ,. Revista de Biologia e Ciências da Terra, v. 6, p. 91–96, 2006.
- BIZZINI, A; GREUB, G. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, a revolution in clinical microbial identification. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, v. 16, n. 11, p. 1614–9, nov. 2010.
- BLACKWELL, M. The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? American Journal of Botany,

v. 98, n. 3, p. 426–438, 2011.

BORGES, K R A; MONTEIRO, S G; MONTEIRO, C. A. Diversity and prevalence of airborne fungi isolated from São Luís, Northeast Brazil. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, v. 44, n. 3–4, p. 132–138, 2012.

BRUNI, A. C., DIAS, C.S., OLIVEIRA, F. Plano de controle de poluição veicular 2017-2019. CETESB – Biblioteca, SP, Brasil, p. 61, 2017.

BUENO, F. F. et al. Qualidade do ar e interações por doenças respiratórias em crianças no município de divinópolis, estado de minas gerais. *Acta Scientiarum - Health Sciences*, v. 32, n. 2, p. 185–189, 2010.

BURROWS, S. M. et al. Bacteria in the global atmosphere – Part 2: Modelling of emissions and transport between different ecosystems. *Atmospheric Chemistry and Physics Discussions*, v. 9, n. 3, p. 10829–10881, 2009.

CABRAL, J. P. S. Can we use indoor fungi as bioindicators of indoor air quality? Historical perspectives and open questions *Science of the Total Environment*, 2010.

CARVALHO, V. S. B. et al. Air quality status and trends over the Metropolitan Area of São Paulo, Brazil as a result of emission control policies. *Environmental Science & Policy*, v. 47, n. November, p. 68–79, 2015.

CASTRO, H. A. DE et al. Questões metodológicas para a investigação dos efeitos da poluição do ar na saúde. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 6, n. 2, p. 135–149, 2003.

CHALUPOVÁ, J. et al. Identification of fungal microorganisms by MALDI-TOF mass spectrometry *Biotechnology Advances*, 2014.

CHOWDHARY, A.; AGARWAL, K.; MEIS, J. F. Filamentous Fungi in Respiratory Infections. What Lies Beyond Aspergillosis and Mucormycosis? *PLoS Pathogens*, 2016.

Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4849718/pdf/ppat.1005491.pdf>>.

ÇOLAKOĞLU, G. Airborne fungal spores at the Belgrad forest near the city of Istanbul (Turkey) in the year 2001 and their relation to allergic diseases. *Journal of Basic Microbiology*, v. 43, n. 5, p. 376–384, 2003.

CONAMA. Padroes de qualidade do Ar, Resolucao CONAMA. v. 60, p. 342–346, 1990.

CORRÊA, R. DE A. et al. Carga de doença por infecções do trato respiratório inferior no Brasil, 1990 a 2015: estimativas do estudo Global Burden of Disease 2015. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 20, n. suppl 1, p. 171–181, maio 2017.

COSTA, W. R.; MINEO, M. F. Os líquens como bioindicadores de poluição atmosférica

no município de Minas Gerais. p. 2690–2700, 2013.

COUTO, M. S. Urbanizados e preservados de um campus universitário. p. 41–47, 2007.

COUTO, S. R.; TOCA-HERRERA, J. L. Laccase production at reactor scale by filamentous fungi *Biotechnology Advances*, 2007.

DE HOOG, G. S. et al. Name changes in medically important fungi and their implications for clinical practice *Journal of Clinical Microbiology*, 2015.

DILKIN, P. et al. Dosagem de ergosterol como indicador de contaminação fúngica em milho armazenado. *Arq. Inst. Biol., São Paulo*, v. 70, p. 483–489, 2003.

DRUZHININA, I. S.; KOPCHINSKIY, A. G.; KUBICEK, C. P. The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. *Mycoscience*, v. 47, n. 2, p. 55–64, 2006.

DUNN, R. R. et al. The ecology of microscopic life in household dust . 2015.

EDUARDO FELIPE BARBOSA SILVA, M. DE P. B. M. A. A. DE O. R. R. M. J. F. E S. Aspergilose pulmonar necrotizante crônica. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, v. 35, n. 1, p. 95–98, 2009.

EGAN, C.; LI, D. W.; KLIRONOMOS, J. Detection of arbuscular mycorrhizal fungal spores in the air across different biomes and ecoregions. *Fungal Ecology*, v. 12, p. 26–31, 2014.

ELBERT, W. et al. Contribution of fungi to primary biogenic aerosols in the atmosphere: active discharge of spores, carbohydrates, and inorganic ions by Asco- and Basidiomycota. *Atmospheric Chemistry and Physics Discussions*, v. 6, p. 11317–11355, 2006.

EMILIE, J. et al. Poluição do ar e efeitos na saúde nas populações de duas grandes metrópoles brasileiras. v. 12, n. 1, p. 29–40, 2003.

EMYGDIO, A. P. M. et al. Biomarkers as indicators of fungal biomass in the atmosphere of São Paulo, Brazil. *Science of The Total Environment*, v. 612, p. 809–821, 15 jan. 2018.

FILALI BEN SIDEL, F. et al. Airborne fungal spores of *Alternaria*, meteorological parameters and predicting variables. *International Journal of Biometeorology*, v. 59, n. 3, p. 339–346, 2015.

FLORES, M. E. B. et al. Fungal spore concentrations in indoor and outdoor air in university libraries, and their variations in response to changes in meteorological variables. *International Journal of Environmental Health Research*, v. 24, n. 4, p. 320–340, 2014.

GALIMBERTI, R. et al. Emerging systemic fungal infections. *Clinics in dermatology*, v.

30, n. 6, p. 633–50, 2012.

GAMBALE W, PURCHIO A, P. C. Influência de fatores abióticos na dispersão aérea de fungos na cidade de São Paulo, Brasil. *Brazilian Society for Microbiology*, v. 14, p. 204–214, 1983.

GARNACHO-MONTERO, J. et al. Epidemiologia, diagnostico y tratamiento de las infecciones fungicas respiratorias en el paciente critico. *Epidemiology, diagnosis and treatment of fungal respiratory infections in the critically ill patient*, v. 26, n. 2, p. 173–188, 2013.

GONCALVES, F. L. T.; MASSAMBANI, O. Bacteria and fungal spores as ice nuclei from *Coffea arabical* L . Resumo. *Ciencia & Natura*, v. 33, p. 73–93, 2011.

GÓRNY, R. L. et al. Fungal Fragments as Indoor Air Biocontaminants. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, n. 7, p. 3522–3531, 2002.

GRAVESEN, S. Fungi as a Cause of Allergic Disease *Allergy*, 1979.

GREEN, B. J. et al. Surveillance of fungal allergic sensitization using the fluorescent halogen immunoassay. *Journal de Mycologie Medicale*, v. 19, n. 4, p. 253–261, 2009.

GRINN-GOFRÓN, A.; BOSIACKA, B. Effects of meteorological factors on the composition of selected fungal spores in the air. *Aerobiologia*, v. 31, n. 1, p. 63–72, 2015.

GRINN-GOFRÓN, A.; MIKA, A. Selected airborne allergenic fungal spores and meteorological factors in Szczecin, Poland, 2004-2006. *Aerobiologia*, v. 24, n. 2, p. 89–97, 2008.

GRINN-GOFRÓN, A.; STRZELCZAK, A.; WOLSKI, T. The relationships between air pollutants, meteorological parameters and concentration of airborne fungal spores. *Environmental Pollution*, v. 159, n. 2, p. 602–608, 2011.

GUTAROWSKA, B.; PIOTROWSKA, M. Methods of mycological analysis in buildings. *Building and Environment*, v. 42, n. 4, p. 1843–1850, abr. 2007.

HALEEM KHAN, A. A.; MOHAN KARUPPAYIL, S. Fungal pollution of indoor environments and its management. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v. 19, n. 4, p. 405–426, 2012a.

HALEEM KHAN, A. A.; MOHAN KARUPPAYIL, S. Fungal pollution of indoor environments and its management. *Saudi journal of biological sciences*, v. 19, n. 4, p. 405–26, out. 2012b.

HAWKSWORTH, D. L. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research*, v. 95, n. 6, p. 641–655, 1991.

HAWKSWORTH, D. L. Managing and coping with names of pleomorphic fungi in a period of transition. *IMA FUNGUS*, v. 3, n. 1, p. 15–24, 2012.

HEALD, C. L.; SPRACKLEN, D. V. Atmospheric budget of primary biological aerosol particles from fungal spores. *Geophysical Research Letters*, v. 36, n. 9, 2009.

HIBBETT, D. S. et al. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, v. 111, n. 5, p. 509–547, 2007.

HO, H. M. et al. Characteristics and determinants of ambient fungal spores in Hualien, Taiwan. *Atmospheric Environment*, v. 39, n. 32, p. 5839–5850, 2005.

HOOG, C. et al. Atlas of Clinical Fungi. Disponível em: <<http://www.clinicalfungi.org/>>.

HUFFMAN, J. A. et al. High concentrations of biological aerosol particles and ice nuclei during and after rain. *Atmospheric Chemistry and Physics*, v. 13, p. 6151–6164, 2013.

INÊS, I. et al. Artigo / Article Avaliação clínica e micológica de onicomicose em pacientes brasileiros com HIV / AIDS Clinical and mycological evaluation of onychomycosis among Brazilian HIV / AIDS patients. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 44, n. 1, p. 40–42, 2011.

JAENICKE, R. Abundance of cellular material and proteins in the atmosphere. *Science (New York, N.Y.)*, v. 308, n. 5718, p. 73, 2005.

JONES, A. M.; HARRISON, R. M. The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations - A review *Science of the Total Environment*, 2004a.

JONES, A. M.; HARRISON, R. M. The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations - A review. *Science of the Total Environment*, v. 326, p. 151–180, 2004b.

KEELING, P. J.; LUKER, M. A.; PALMER, J. D. Evidence from beta-tubulin phylogeny that microsporidia evolved from within the fungi. *Molecular Biology and Evolution*, v. 17, n. 1, p. 23–31, 2000.

KINSEY, G.; PATERSON, R.; KELLEY, J. Filamentous fungi in water systems. In: *Handbook of Water and Wastewater Microbiology*. [s.l: s.n.]. p. 77–98.

KIRK, P.M. ; CANNON, P.F. ; MINTER, D.W. ; STALPERS, J. A. *Dictionary of the Fungi*. 10. ed. The Netherlands: CABI INTERNATIONAL, 2009. v. 10th

KOCH, A et al. Indoor viable mold spores--a comparison between two cities, Erfurt (eastern Germany) and Hamburg (western Germany). *Allergy*, v. 55, n. 2, p. 176–80, 2000.

KUBICEK, C.; KOMON-ZELAZOWSKA, M.; DRUZHININA, I. Fungal genus *Hypocrea* / *Trichoderma*: from barcodes to biodiversity. *J Zhejiang Univ Sci B*, v. 9, n. 10, p. 753–

763, 2008.

LANG-YONA, N. et al. 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.

LAU, A. F. et al. Development of a Clinically Comprehensive Database and a Simple Procedure for Identification of Molds from Solid Media by Matrix- Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight Mass. v. 51, n. 3, p. 828–834, 2013.

LEE, K. S. et al. A field comparison of four samplers for enumerating fungal aerosols I. Sampling characteristics. *Indoor Air*, v. 14, n. 5, p. 360–366, 2004.

LIGHTHART, B.; SHAFFER, B. T. Airborne bacteria in the atmospheric surface layer: Temporal distribution above a grass seed field. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 61, n. 4, p. 1492–1496, 1995.

LINDER, M. B. et al. Hydrophobins: The protein-amphiphiles of filamentous fungi *FEMS Microbiology Reviews*, 2005.

LINDOW, S. E.; ARNY, D. C.; UPPER, C. D. Bacterial ice nucleation: a factor in frost injury to plants. *Plant physiology*, v. 70, n. 4, p. 1084–1089, 1982.

LUOMA, M.; BATTERMAN, S. A. Characterization of particulate emissions from occupant activities in offices. *Indoor air*, v. 11, n. 1, p. 35–48, 2001.

MAGESTE, J., PEREIRA, T., SILVA, G., BARROS, R. . Estudo da microbiota fúngica anemófila de uma indústria farmacêutica de Juiz de Fora – MG. *FACIDER*, v. 1 set, 2012.

MAHIEU, L. M. et al. A prospective study on factors influencing *aspergillus* spore load in the air during renovation works in a neonatal intensive care unit. p. 191–197, 2000.

MARTINS, E. A. et al. Onychomycosis: clinical, epidemiological and mycological study in the municipality of São José do Rio Preto. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 40, n. 5, p. 596–598, 2007.

MARTINS, M. S. D. A.; ISABEL, M.; LEMOS, A. Liqueus como bioindicadores da qualidade do ar numa área de termoeletrônica , Rio Grande do Sul , Brasil. *Hoehnea*, v. 35, n. 3, p. 425–433, 2008.

MATTHIAS-MASER, S. et al. Seasonal variation of primary biological aerosol particles in the remote continental region of Lake Baikal/Siberia. *Atmospheric Environment*, v. 34, n. 22, p. 3805–3811, 2000.

MÉHEUST, D. et al. Indoor fungal contamination: Health risks and measurement methods in hospitals, homes and workplaces *Critical Reviews in Microbiology*, 2014.

MEIJER, M. et al. Growth and hydrolase profiles can be used as characteristics to distinguish *Aspergillus niger* and other black aspergilli. *Studies in Mycology*, v. 69, p. 19–30, 2011.

MENDONÇA, D. U. et al. Aspergilose pulmonar em paciente imunocompetente e previamente sadio *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2011.

MITCHELL, C. S. et al. Current state of the science: health effects and indoor environmental quality. *Environmental health perspectives*, v. 115, n. 6, p. 958–64, jun. 2007.

MM, R. et al. Levantamento da microbiota fúngica em clínica de fisioterapia de um centro universitário de práticas supervisionadas. XIV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e X Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba. *Anais...*1990

MORRIS, C. E.; GEORGAKOPOULOS, D. G.; SANDS, D. C. Ice nucleation active bacteria and their potential role in precipitation. *Journal de Physique IV (Proceedings)*, v. 121, p. 87–103, 2004.

MORRISON, J. et al. Monitoring *Aspergillus* species by quantitative PCR during construction of a multi-storey hospital building *Journal of Hospital Infection*, 2004.

MOURA, M.L., CALDAS, C. C. et al. The impaction capacity of Millipore M air T ® and Merck MAS- 100 ® in an external environment. *Access Journal of Environmental Research*, v. 1, n. November, p. 1–6, 2015.

MUNZI, S.; RAVERA, S.; CANEVA, G. Epiphytic lichens as indicators of environmental quality in Rome. *Environmental Pollution*, v. 146, n. 2, p. 350–358, 2007.

NAFIS, A.; SHARMA, K. Isolation of aeromycoflora in the indoor environment of chawri bazar metro-railway station , Delhi , India. v. 4, n. 3, p. 4–5, 2012.

NEVALAINEN, A.; TÄUBEL, M.; HYVÄRINEN, A. Indoor fungi: Companions and contaminants *Indoor Air*, 2015.

NUCCI, M.; ANAISSIE, E. *Fusarium* infections in immunocompromised patients *Clinical Microbiology Reviews*, 2007.

NUNES, Z. G. et al. Indoor air microbiological evaluation of offices, hospitals, industries, and shopping centers. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 100, n. 4, p. 351–7, jul. 2005.

OLAYA L. R.; et al. Delimitación de áreas de isocontaminación atmosférica en el campus de la Universidad Nacional de Colombia mediante el análisis de bioindicadores (líquenes epífitos). *Acta Biológica Colombiana*, v. 11, n. 2, p. 87–102, 1982.

OLIVEIRA, M.; ABREU, I.; RIBEIRO, H. Esporos fúngicos na atmosfera da cidade do Porto e suas implicações alergológicas. p. 61–85, 2007.

OLIVEIRA, A. C. DE; KOVNER, C. T.; SOUZA, R. Infecção hospitalar em unidade de tratamento intensivo de um hospital universitário brasileiro. *Revista latino-americana de enfermagem*, v. 18, 2010.

OLIVEIRA, M. A. DE et al. Bioindicadores ambientais : insetos como um instrumento desta avaliação. p. 800–807, [s.d.].

ONOFRE., L. H. F. S. B. DETERMINAÇÃO DA PRESENÇA DE FUNGOS ANEMÓFILOS E LEVEDURAS EM UNIDADE DE SAÚDE DA CIDADE DE FRANCISCO BELTRÃO- PR. p. 22–26, 2010.

ORZECOWSKI XAVIER, M. et al. Invasive pulmonary aspergillosis due to a mixed infection caused by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus fumigatus*. *Revista Iberoamericana de Micologia*, v. 25, n. 3, p. 176–178, 2008.

PARMAR, T. K.; RAWTANI, D.; AGRAWAL, Y. K. Bioindicators : the natural indicator of environmental pollution. v. 3769, 2016.

PASQUARELLA, C.; PITZURRA, O.; SAVINO, A. The index of microbial air contamination. p. 241–256, 2000.

PESCOTT, O. L. et al. Air pollution and its effects on lichens, bryophytes, and lichen-feeding Lepidoptera: Review and evidence from biological records. *Biological Journal of the Linnean Society*, v. 115, n. 3, p. 611–635, 2015.

POULEUR, S. et al. Ice nucleation activity in *Fusarium acuminatum* and *Fusarium avenaceum*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 58, n. 9, p. 2960–2964, 1992.

RAJA, N. S.; SINGH, N. N. Disseminated invasive aspergillosis in an apparently immunocompetent host. *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi*, v. 39, n. 1, p. 73–77, 2006.

REOLON, A.; PEREZ, L. R. R.; MEZZARI, A. Prevalência de *Cryptococcus neoformans* nos pombos urbanos da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 40, n. 5, p. 293–298, 2004.

Resolução CONAMA Nº 491 DE 19_11_2018 - Federal - LegisWeb. , [s.d.].

RIBEIRO, F. N. D. et al. Air quality in São Paulo – Brazil: temporal evolution and spatial distribution of carbon monoxide, coarse particulate matter and ozone. 2015.

ROSENFELD, D. et al. Flood or drought: how do aerosols affect precipitation? *Science*

(New York, N.Y.), v. 321, n. 5894, p. 1309–13, 2008.

ROSS, C. et al. Studies on Fungal and Bacterial Population of Air- conditioned Environments. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 47, n. September, p. 827–835, 2004.

LOBATO R.C. , et al. Sazonalidade e prevalênciade fungos anemófilos em ambiente hospitalar no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. *Rev.Fac.Ciênc.Méd.Sorocaba*, v. 11, n. 2, p. 21–28, 2009.

SANTIAGO, R. et al. Biologically-Active Compounds from Brazilian Lichens and their Affinity with Ether. v. 4, 2017.

SANTOS, C. et al. Filamentous fungal characterizations by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Journal of applied microbiology*, v. 108, n. 2, p. 375–85, 2010.

SAUTOUR, M. et al. Profiles and seasonal distribution of airborne fungi in indoor and outdoor environments at a French hospital. *Science of the Total Environment*, v. 407, n. 12, p. 3766–3771, 2009.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H. et al. Airborne Fungi in the Region of Cubatão , São Paulo State , Brazil. p. 61–65, 2001.

SEGAL, B. H. et al. Defining responses to therapy and study outcomes in clinical trials of invasive fungal diseases: Mycoses Study Group and European Organization for Research and Treatment of Cancer consensus criteria. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 47, n. 5, p. 674–83, 1 set. 2008.

SENG, P. et al. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 49, n. 4, p. 543–551, 2009.

SESARTIC, A.; LOHMANN, U.; STORELMO, T. Modelling the impact of fungal spore ice nuclei on clouds and precipitation. *Environmental Research Letters*, v. 8, n. 1, p. 14029, 2013.

SMITH, G. R. et al. Competition-colonization tradeoffs structure fungal diversity. *ISME Journal*, v. 12, n. 7, p. 1758–1767, 2018.

SOUSA, L. et al. Monitoring of anamorphic fungal spores in Madeira region (Portugal), 2003–2008. *Aerobiologia*, n. January, p. 2003–2008, 2015.

SYMONDS, E. P. et al. Growth characteristics and enzyme activity in *Batrachochytrium*

dendrobatidis isolates. *Mycopathologia*, v. 166, n. 3, p. 143–147, 2008.

TÁVORA, L. G. F. et al. Comparative performance of two air samplers for monitoring airborne fungal propagules. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 36, n. 5, p. 613–616, 2003.

TEIXEIRA, E. C.; FELTES, S.; DE SANTANA, E. R. R. Estudo das emissões de fontes móveis na região metropolitana de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Química Nova*, v. 31, n. 2, p. 244–248, 2008.

THEOTÔNIO, P. et al. O Papel Das Partículas De Aerossol No Funcionamento Do Ecossistema Amazônico. *Mudanças climáticas/ Artigos*, p. 48–50, 2007.

TORTORANO, A. M. et al. Invasive fungal infections in the intensive care unit: A multicentre, prospective, observational study in Italy (2006-2008). *Mycoses*, v. 55, n. 1, p. 73–79, 2012.

VIEIRA, K. M. et al. Incidência de *Aspergillus* seção *Nigri* em Cebolas Comercializadas no Estado do Paraná. v. 55, n. 43, p. 86057, 2015.

WHITTAKER, R. H. New concepts of kingdoms or organisms. Evolutionary relations are better represented by new classifications than by the traditional two kingdoms. *Science*, v. 163, n. 863, p. 150–160, 1969.

YAMAMOTO, N. et al. Particle-size distributions and seasonal diversity of allergenic and pathogenic fungi in outdoor air. *The ISME Journal*, v. 6, n. 10, p. 1801–1811, 2012a.

YAO, M. Bioaerosol: A bridge and opportunity for many scientific research fields. *Journal of Aerosol Science*, v. 115, n. August 2017, p. 108–112, 2018.

YASSIN, M. F.; ALMOUQATEA, S. Assessment of airborne bacteria and fungi in an indoor and outdoor environment. *International Journal of Environmental Science and Technology*, v. 7, n. 3, p. 535–544, 2010.

ZIEGLER M. F. Poluição em São Paulo diminuiu pela metade com greve dos caminhoneiros _ AGÊNCIA FAPESP.

CONCLUSÕES FINAIS

- Os fungos anemófilos presentes no ar atmosférico de São Paulo são sensíveis a condições atmosféricas, principalmente temperatura e umidade, variando sua concentração de acordo com as condições ambientais.
- A relação entre a concentração de particulados no ar e os problemas de saúde, ressalta a atenção que deve ser dada à qualidade do ar externo das grandes metrópoles, devendo ser colocada como uma das prioridades enquanto estratégia de política pública visando controle e saúde ambiental.
- A utilização de fungos como controle biológico, no lugar de líquens, pode permitir estudos mais amplos tendo como justificativa a sua frequência e a sensibilidade a poluentes, podendo ser a forma mais adequada de obter parâmetros diretamente ligados às condições ambientais, como marcadores de poluição.
- O monitoramento de bioaerossóis associado ao controle de poluentes e condições atmosféricas fortalece as pesquisas relacionadas as atividades existentes no ar atmosférico.
- Identificar e verificar a frequência de espécies do gênero *Aspergillus* no ar atmosférico de São Paulo utilizando o Sistema Maldi toff foi de grande interesse já que o banco de dados deste sistema ainda não possui as características de amostras isoladas do ar atmosférico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL-WAHAB, S.; FADLALLAH, S.; AL-RASHDI, M. Evaluation of the impact of ground-level concentrations of SO₂, NO_x, CO, and PM₁₀ emitted from a steel melting plant on Muscat, Oman Sustainable Cities and Society, 2018.

AGUIAR, L. Estudo da relação da qualidade do ar e variáveis meteorológicas na ocorrência de morbidade respiratória e circulatória na Região Metropolitana de São Paulo. p. 105, 2015.

AMATO, P. et al. Microorganisms isolated from the water phase of tropospheric clouds at the Puy de Dôme: Major groups and growth abilities at low temperatures. FEMS Microbiology Ecology. Anais...2007

AMEND, A. S.; SEIFERT, K. A.; BRUNS, T. D. Quantifying microbial communities with 454 pyrosequencing: Does read abundance count? Molecular Ecology, v. 19, n. 24, p. 5555–5565, 2010.

ARBEX, M. A. et al. A poluição do ar e o sistema respiratório. Jornal Brasileiro de Pneumologia, v. 38, n. 5, p. 643–655, 2012.

ARTAXO, P. et al. Atmospheric Chemistry in Amazonia: The forest and the biomass burning emissions controlling the composition of the Amazonian atmosphere Acta Amazonica, 2005.

BARAN, E. et al. Risk assessment of fungi reported from humans and animals*. MYCOSES, v. 39, n. 10, p. 407–417, 1996.

BARCELLOS, C. et al. Mudanças climáticas e ambientais e as doenças infecciosas: cenários e incertezas para o Brasil. Epidemiologia e Serviços de Saúde, v. 18, n. 3, p. 285–304, set. 2009.

BERNARDI, E. Fungos anemófilos e suas relações com fatores abióticos , na praia do Laranjal ,. Revista de Biologia e Ciências da Terra, v. 6, p. 91–96, 2006.

BIZZINI, A; GREUB, G. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, a revolution in clinical microbial identification. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, v. 16, n. 11, p. 1614–9, nov. 2010.

BLACKWELL, M. The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? American Journal of Botany, v. 98, n. 3, p. 426–438, 2011.

BORGES, K R A; MONTEIRO, S G; MONTEIRO, C. A. Diversity and prevalence of airborne fungi isolated from São Luís, Northeast Brazil. Revista Brasileira de Análises Clínicas, v. 44, n. 3–4, p. 132–138, 2012.

BRUNI, A. C., DIAS, C.S., OLIVEIRA, F. Plano de controle de poluição veicular 2017-2019. CETESB – Biblioteca, SP, Brasil, p. 61, 2017.

BUENO, F. F. et al. Qualidade do ar e internações por doenças respiratórias em crianças no município de divinópolis, estado de minas gerais. *Acta Scientiarum - Health Sciences*, v. 32, n. 2, p. 185–189, 2010.

BURROWS, S. M. et al. Bacteria in the global atmosphere – Part 2: Modelling of emissions and transport between different ecosystems. *Atmospheric Chemistry and Physics Discussions*, v. 9, n. 3, p. 10829–10881, 2009.

CABRAL, J. P. S. Can we use indoor fungi as bioindicators of indoor air quality? Historical perspectives and open questions *Science of the Total Environment*, 2010.

CARVALHO, V. S. B. et al. Air quality status and trends over the Metropolitan Area of São Paulo, Brazil as a result of emission control policies. *Environmental Science & Policy*, v. 47, n. November, p. 68–79, 2015.

CASTRO E SILVA, D. M et al. A new culture medium for recovering the agents of cryptococcosis from environmental sources. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 46, n. 2, p. 355–358, 2015.

CASTRO, H. A. DE et al. Questões metodológicas para a investigação dos efeitos da poluição do ar na saúde. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 6, n. 2, p. 135–149, 2003.

CHALUPOVÁ, J. et al. Identification of fungal microorganisms by MALDI-TOF mass spectrometry *Biotechnology Advances*, 2014.

CHOWDHARY, A.; AGARWAL, K.; MEIS, J. F. Filamentous Fungi in Respiratory Infections. What Lies Beyond Aspergillosis and Mucormycosis? *PLoS Pathogens*, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4849718/pdf/ppat.1005491.pdf>>.

ÇOLAKOĞLU, G. Airborne fungal spores at the Belgrad forest near the city of Istanbul (Turkey) in the year 2001 and their relation to allergic diseases. *Journal of Basic Microbiology*, v. 43, n. 5, p. 376–384, 2003.

CONAMA. Padroes de qualidade do Ar, Resolucao CONAMA. v. 60, p. 342–346, 1990.

CORRÊA, R. DE A. et al. Carga de doença por infecções do trato respiratório inferior no Brasil, 1990 a 2015: estimativas do estudo Global Burden of Disease 2015. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 20, n. suppl 1, p. 171–181, maio 2017.

COSTA, W. R.; MINEO, M. F. Os líquens como bioindicadores de poluição atmosférica no município de Minas Gerais. p. 2690–2700, 2013.

COUTO, M. S. URBANIZADOS E PRESERVADOS DE UM CAMPUS UNIVERSITÁRIO. p. 41–47, 2007.

COUTO, S. R.; TOCA-HERRERA, J. L. Laccase production at reactor scale by filamentous fungi *Biotechnology Advances*, 2007.

DE HOOG, G. S. et al. Name changes in medically important fungi and their implications for clinical practice *Journal of Clinical Microbiology*, 2015.

CASTRO E SILVA, D. et al. A new culture medium for recovering the agents of cryptococcosis from environmental sources. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 46, n. 2, p. 355–358, 2015.

DILKIN, P. et al. DOSAGEM DE ERGOSTEROL COMO INDICADOR DE CONTAMINAÇÃO FÚNGICA EM MILHO ARMAZENADO. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v. 70, p. 483–489, 2003.

DRUZHININA, I. S.; KOPCHINSKIY, A. G.; KUBICEK, C. P. The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. *Mycoscience*, v. 47, n. 2, p. 55–64, 2006.

DUNN, R. R. et al. The ecology of microscopic life in household dust . 2015.

EDUARDO FELIPE BARBOSA SILVA E. F.B.:et.al. Aspergilose pulmonar necrotizante crônica. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, v. 35, n. 1, p. 95–98, 2009.

EGAN, C.; LI, D. W.; KLIRONOMOS, J. Detection of arbuscular mycorrhizal fungal spores in the air across different biomes and ecoregions. *Fungal Ecology*, v. 12, p. 26–31, 2014.

ELBERT, W. et al. Contribution of fungi to primary biogenic aerosols in the atmosphere: active discharge of spores, carbohydrates, and inorganic ions by Asco- and Basidiomycota. *Atmospheric Chemistry and Physics Discussions*, v. 6, p. 11317–11355, 2006.

EMILIE, J. et al. Poluição do ar e efeitos na saúde nas populações de duas grandes metrópoles brasileiras. v. 12, n. 1, p. 29–40, 2003.

EMYGDIO, A. P. M. et al. Biomarkers as indicators of fungal biomass in the atmosphere of São Paulo, Brazil. *Science of The Total Environment*, v. 612, p. 809–821, 15 jan. 2018.

FILALI BEN SIDEL, F. et al. Airborne fungal spores of *Alternaria*, meteorological parameters and predicting variables. *International Journal of Biometeorology*, v. 59, n. 3, p. 339–346, 2015.

FLORES, M. E. B. et al. Fungal spore concentrations in indoor and outdoor air in university libraries, and their variations in response to changes in meteorological variables. *International Journal of Environmental Health Research*, v. 24, n. 4, p. 320–340, 2014.

GALIMBERTI, R. et al. Emerging systemic fungal infections. *Clinics in dermatology*, v. 30, n. 6, p. 633–50, 2012.

GAMBALE W, PURCHIO A, P. C. Influência de fatores abióticos na dispersão aérea de fungos na cidade de São Paulo, Brasil. *Brazilian Society for Microbiology*, v. 14, p. 204–214, 1983.

GARNACHO-MONTERO, J. et al. Epidemiologia, diagnostico y tratamiento de las infecciones fungicas respiratorias en el paciente critico. *Epidemiology, diagnosis and treatment of fungal respiratory infections in the critically ill patient*, v. 26, n. 2, p. 173–188, 2013.

GONCALVES, F. L. T.; MASSAMBANI, O. Bacteria and fungal spores as ice nuclei from *Coffea arabica* L. . *Resumo. Ciencia & Natura*, v. 33, p. 73–93, 2011.

GÓRNY, R. L. et al. Fungal Fragments as Indoor Air Biocontaminants. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, n. 7, p. 3522–3531, 2002.

GRAVESEN, S. *Fungi as a Cause of Allergic Disease* Allergy, 1979.

GREEN, B. J. et al. Surveillance of fungal allergic sensitization using the fluorescent halogen immunoassay. *Journal de Mycologie Medicale*, v. 19, n. 4, p. 253–261, 2009.

GRINN-GOFROŃ, A.; BOSIACKA, B. Effects of meteorological factors on the composition of selected fungal spores in the air. *Aerobiologia*, v. 31, n. 1, p. 63–72, 2015.

GRINN-GOFROŃ, A.; MIKA, A. Selected airborne allergenic fungal spores and meteorological factors in Szczecin, Poland, 2004-2006. *Aerobiologia*, v. 24, n. 2, p. 89–97, 2008.

GRINN-GOFROŃ, A.; STRZELCZAK, A.; WOLSKI, T. The relationships between air pollutants, meteorological parameters and concentration of airborne fungal spores. *Environmental Pollution*, v. 159, n. 2, p. 602–608, 2011.

GUTAROWSKA, B.; PIOTROWSKA, M. Methods of mycological analysis in buildings. *Building and Environment*, v. 42, n. 4, p. 1843–1850, abr. 2007.

HALEEM KHAN, A. A.; MOHAN KARUPPAYIL, S. Fungal pollution of indoor environments and its management. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v. 19, n. 4, p. 405–426, 2012a.

HAWKSWORTH, D. L. Managing and coping with names of pleomorphic fungi in a period of transition. *IMA FUNGUS*, v. 3, n. 1, p. 15–24, 2012.

HAWKSWORTH, D. L. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research*, v. 95, n. 6, p. 641–655, 1991.

HEALD, C. L.; SPRACKLEN, D. V. Atmospheric budget of primary biological aerosol particles from fungal spores. *Geophysical Research Letters*, v. 36, n. 9, 2009.

HIBBETT, D. S. et al. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, v. 111, n. 5, p. 509–547, 2007.

HO, H. M. et al. Characteristics and determinants of ambient fungal spores in Hualien, Taiwan. *Atmospheric Environment*, v. 39, n. 32, p. 5839–5850, 2005.

HOOG, C. et al. *Atlas of Clinical Fungi*. Disponível em: <<http://www.clinicalfungi.org/>>.

HUFFMAN, J. A. et al. High concentrations of biological aerosol particles and ice nuclei during and after rain. *Atmospheric Chemistry and Physics*, v. 13, p. 6151–6164, 2013.

JAENICKE, R. Abundance of cellular material and proteins in the atmosphere. *Science* (New York, N.Y.), v. 308, n. 5718, p. 73, 2005.

JONES, A. M.; HARRISON, R. M. The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations - A review *Science of the Total Environment*, 2004.

KEELING, P. J.; LUKER, M. A.; PALMER, J. D. Evidence from beta-tubulin phylogeny that microsporidia evolved from within the fungi. *Molecular Biology and Evolution*, v. 17, n. 1, p. 23–31, 2000.

KINSEY, G.; PATERSON, R.; KELLEY, J. Filamentous fungi in water systems. In: *Handbook of Water and Wastewater Microbiology*. [s.l: s.n.]. p. 77–98.

KIRK, P.M. ; CANNON, P.F. ; MINTER, D.W. ; STALPERS, J. A. *Dictionary of the Fungi*. 10. ed. The Netherlands: CABI INTERNATIONAL, 2009. v. 10th

KOCH, A et al. Indoor viable mold spores--a comparison between two cities, Erfurt (eastern Germany) and Hamburg (western Germany). *Allergy*, v. 55, n. 2, p. 176–80, 2000.

KUBICEK, C.; KOMON-ZELAZOWSKA, M.; DRUZHININA, I. Fungal genus *Hypocrea* / *Trichoderma*: from barcodes to biodiversity. *J Zhejiang Univ Sci B*, v. 9, n. 10, p. 753–763, 2008.

LANG-YONA, N. et al. 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.

LAU, A. F. et al. Development of a Clinically Comprehensive Database and a Simple Procedure for Identification of Molds from Solid Media by Matrix- Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight Mass. v. 51, n. 3, p. 828–834, 2013.

LEE, K. S. et al. A field comparison of four samplers for enumerating fungal aerosols I. Sampling characteristics. *Indoor Air*, v. 14, n. 5, p. 360–366, 2004.

LIGHTHART, B.; SHAFFER, B. T. Airborne bacteria in the atmospheric surface layer: Temporal distribution above a grass seed field. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 61, n. 4, p. 1492–1496, 1995.

LINDER, M. B. et al. Hydrophobins: The protein-amphiphiles of filamentous fungi *FEMS Microbiology Reviews*, 2005.

LINDOW, S. E.; ARNY, D. C.; UPPER, C. D. Bacterial ice nucleation: a factor in frost injury to plants. *Plant physiology*, v. 70, n. 4, p. 1084–1089, 1982.

LOBATO R. C. et al. Sazonalidade e prevalênciade fungos anemófilos em ambiente hospitalar no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. *Rev.Fac.Ciênc.Méd.Sorocaba*, v. 11, n. 2, p. 21–28, 2009.

LUOMA, M.; BATTERMAN, S. A. Characterization of particulate emissions from occupant activities in offices. *Indoor air*, v. 11, n. 1, p. 35–48, 2001.

MAHIEU, L. M. et al. A prospective study on factors influencing aspergillus spore load in the air during renovation works in a neonatal intensive care unit. p. 191–197, 2000.

MARTINS, E. A. et al. Onychomycosis: clinical, epidemiological and mycological study in the municipality of São José do Rio Preto. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 40, n. 5, p. 596–598, 2007.

MARTINS, E. A. et al. Onychomycosis: clinical, epidemiological and mycological study in the municipality of São José do Rio Preto. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 40, n. 5, p. 596–598, 2007.

MARTINS, M. S. D. A.; ISABEL, M.; LEMOS, A. Liquefactors as bioindicators of air quality in a thermoelectric area, Rio Grande do Sul, Brazil. *Hoehnea*, v. 35, n. 3, p. 425–433, 2008.

MATOS, D. de et al. A new culture medium for recovering the agents of Cryptococcosis from environmental sources. v. 358, p. 355–358, 2015.

MATTHIAS-MASER, S. et al. Seasonal variation of primary biological aerosol particles in the remote continental region of Lake Baikal/Siberia. *Atmospheric Environment*, v. 34, n. 22, p. 3805–3811, 2000.

MÉHEUST, D. et al. Indoor fungal contamination: Health risks and measurement methods in hospitals, homes and workplaces *Critical Reviews in Microbiology*, 2014.

MEIJER, M. et al. Growth and hydrolase profiles can be used as characteristics to distinguish *Aspergillus niger* and other black aspergilli. *Studies in Mycology*, v. 69, p. 19–30, 2011.

MEIJER, M. et al. Growth and hydrolase profiles can be used as characteristics to distinguish *Aspergillus niger* and other black aspergilli. *Studies in Mycology*, v. 69, p. 19–30, 2011.

MENDONÇA, D. U. et al. Aspergilose pulmonar em paciente imunocompetentes e previamente sadio *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2011.

MITCHELL, C. S. et al. Current state of the science: health effects and indoor environmental quality. *Environmental health perspectives*, v. 115, n. 6, p. 958–64, jun. 2007.

MM, R. et al. Levantamento da microbiota fúngica em clínica de fisioterapia de um centro universitário de práticas supervisionadas. XIV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e X Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba. *Anais...*1990

MORRIS, C. E.; GEORGAKOPOULOS, D. G.; SANDS, D. C. Ice nucleation active bacteria and their potential role in precipitation. *Journal de Physique IV (Proceedings)*, v. 121, p. 87–103, 2004.

MORRISON, J. et al. Monitoring *Aspergillus* species by quantitative PCR during construction of a multi-storey hospital building *Journal of Hospital Infection*, 2004.

MOURA, M.L., CALDAS, C. C. et al. The impaction capacity of Millipore M air T ® and Merck MAS- 100 ® in an external environment. *Access Journal of Environmental Research*, v. 1, n. November, p. 1–6, 2015.

MUNZI, S.; RAVERA, S.; CANEVA, G. Epiphytic lichens as indicators of environmental quality in Rome. *Environmental Pollution*, v. 146, n. 2, p. 350–358, 2007.

NAFIS, A.; SHARMA, K. Isolation of aeromycoflora in the indoor environment of chawri bazar metro-railway station , Delhi , India. v. 4, n. 3, p. 4–5, 2012.

NEVALAINEN, A.; TÄUBEL, M.; HYVÄRINEN, A. Indoor fungi: Companions and contaminants *Indoor Air*, 2015.

NUCCI, M.; ANAÏSSIE, E. *Fusarium* infections in immunocompromised patients *Clinical Microbiology Reviews*, 2007.

NUNES, Z. G. et al. Indoor air microbiological evaluation of offices, hospitals, industries, and shopping centers. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 100, n. 4, p. 351–7, jul. 2005.

OLAYA L. R. L. J. R.; VALENCIA, M. L. C. DE. Delimitación de áreas de isocontaminación atmosférica en el campus de la Universidad Nacional de Colombia mediante el análisis de bioindicadores (líquenes epífitos). *Acta Biológica Colombiana*, v. 11, n. 2, p. 87–102, 1982.

OLIVEIRA, A. C. DE; KOVNER, C. T.; SOUZA, R. Infecção hospitalar em unidade de tratamento intensivo de um hospital universitário brasileiro. *Revista latino-americana de enfermagem*, v. 18, 2010.

OLIVEIRA, M. A. DE et al. Bioindicadores ambientais : insetos como um instrumento desta avaliação. p. 800–807, [s.d.].

OLIVEIRA, M.; ABREU, I.; RIBEIRO, H. Esporos fúngicos na atmosfera da cidade do Porto e suas implicações alergológicas. p. 61–85, 2007.

ONOFRE., L. H. F. S. B. Determinação da presença de fungos anemófilos e leveduras em unidade de saúde da cidade de Francisco Beltrão- Pr. p. 22–26, 2010.

ORZECZOWSKI XAVIER, M. et al. Invasive pulmonary aspergillosis due to a mixed infection caused by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus fumigatus*. *Revista Iberoamericana de Micologia*, v. 25, n. 3, p. 176–178, 2008.

PARMAR, T. K.; RAWTANI, D.; AGRAWAL, Y. K. Bioindicators : the natural indicator of environmental pollution. v. 3769, 2016.

PASQUARELLA, C.; PITZURRA, O.; SAVINO, A. The index of microbial air contamination. p. 241–256, 2000.

PESCOTT, O. L. et al. Air pollution and its effects on lichens, bryophytes, and lichen-feeding Lepidoptera: Review and evidence from biological records. *Biological Journal of the Linnean Society*, v. 115, n. 3, p. 611–635, 2015.

POULEUR, S. et al. Ice nucleation activity in *Fusarium acuminatum* and *Fusarium avenaceum*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 58, n. 9, p. 2960–2964, 1992.

RAJA, N. S.; SINGH, N. N. Disseminated invasive aspergillosis in an apparently immunocompetent host. *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi*, v. 39, n. 1, p. 73–77, 2006.

REOLON, A.; PEREZ, L. R. R.; MEZZARI, A. Prevalência de *Cryptococcus neoformans* nos pombos urbanos da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 40, n. 5, p. 293–298, 2004.

Resolução CONAMA Nº 491 DE 19_11_2018 - Federal - LegisWeb. , [s.d.].

RIBEIRO, F. N. D. et al. Air quality in São Paulo – Brazil: temporal evolution and spatial distribution of carbon monoxide, coarse particulate matter and ozone. 2015.

ROSENFELD, D. et al. Flood or drought: how do aerosols affect precipitation? *Science* (New York, N.Y.), v. 321, n. 5894, p. 1309–13, 2008.

ROSS, C. et al. Studies on Fungal and Bacterial Population of Air- conditioned Environments. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 47, n. September, p. 827–835, 2004.

SANTIAGO, R. et al. Biologically-Active Compounds from Brazilian Lichens and their Affinity with Ether. v. 4, 2017.

SANTOS, C. et al. Filamentous fungal characterizations by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Journal of applied microbiology*, v. 108, n. 2, p. 375–85, 2010.

SAUTOUR, M. et al. Profiles and seasonal distribution of airborne fungi in indoor and outdoor environments at a French hospital. *Science of the Total Environment*, v. 407, n. 12, p. 3766–3771, 2009.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H. et al. Airborne fungi in the region of cubatão , São Paulo State , Brazil. p. 61–65, 2001.

SEGAL, B. H. et al. Defining responses to therapy and study outcomes in clinical trials of invasive fungal diseases: Mycoses Study Group and European Organization for Research and Treatment of Cancer consensus criteria. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 47, n. 5, p. 674–83, 1 set. 2008.

SENG, P. et al. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 49, n. 4, p. 543–551, 2009.

SESARTIC, A.; LOHMANN, U.; STORELVMO, T. Modelling the impact of fungal spore ice nuclei on clouds and precipitation. *Environmental Research Letters*, v. 8, n. 1, p. 14029, 2013.

SMITH, G. R. et al. Competition-colonization tradeoffs structure fungal diversity. *ISME Journal*, v. 12, n. 7, p. 1758–1767, 2018.

SOUSA, L. et al. Monitoring of anamorphic fungal spores in Madeira region (Portugal), 2003–2008. *Aerobiologia*, n. January, p. 2003–2008, 2015.

SYMONDS, E. P. et al. Growth characteristics and enzyme activity in *Batrachochytrium dendrobatidis* isolates. *Mycopathologia*, v. 166, n. 3, p. 143–147, 2008.

TÁVORA, L. G. F. et al. Comparative performance of two air samplers for monitoring airborne fungal propagules. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 36, n. 5, p. 613–616, 2003.

TEIXEIRA, E. C.; FELTES, S.; DE SANTANA, E. R. R. Estudo das emissões de fontes móveis na região metropolitana de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Quimica Nova*, v. 31, n. 2, p. 244–248, 2008.

THEOTÔNIO, P. et al. O papel das partículas de aerossol no funcionamento do ecossistema amazônico. *Mudanças climáticas/ Artigos*, p. 48–50, 2007.

TORTORANO, A. M. et al. Invasive fungal infections in the intensive care unit: A multicentre, prospective, observational study in Italy (2006-2008). *Mycoses*, v. 55, n. 1, p. 73–79, 2012.

VIEIRA, K. M. et al. Incidência de *Aspergillus* seção *Nigri* em Cebolas Comercializadas no Estado do Paraná. v. 55, n. 43, p. 86057, 2015.

WHITTAKER, R. H. New concepts of kingdoms or organisms. Evolutionary relations are better represented by new classifications than by the traditional two kingdoms. *Science*, v. 163, n. 863, p. 150–160, 1969.

YAMAMOTO, N. et al. Particle-size distributions and seasonal diversity of allergenic and pathogenic fungi in outdoor air. *The ISME Journal*, v. 6, n. 10, p. 1801–1811, 2012b.

YAO, M. Bioaerosol: A bridge and opportunity for many scientific research fields. *Journal of Aerosol Science*, v. 115, n. August 2017, p. 108–112, 2018.

YASSIN, M. F.; ALMOUQATEA, S. Assessment of airborne bacteria and fungi in an indoor and outdoor environment. *International Journal of Environmental Science and Technology*, v. 7, n. 3, p. 535–544, 2010.

YASSIN, M. F.; ALMOUQATEA, S. Assessment of airborne bacteria and fungi in an indoor and outdoor environment. *International Journal of Environmental Science and Technology*, v. 7, n. 3, p. 535–544, 2010.

ZIEGLER M. F. Poluição em São Paulo diminuiu pela metade com greve dos caminhoneiros _ AGÊNCIA FAPESP 2018.

Dulcilena de Matos Castro e Silva

Pesquisadora Científica no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo 1990- Concluiu a Licenciatura e Bacharelado na Organização Santamarens de Educação e Cultura (Hoje - UNISA) 2013 Concluiu o mestrado em Ciências pelo Centro de Controle de Doenças de São Paulo. Área de Microbiologia, com ênfase em fontes animais e vegetais de leveduras potencialmente patogênicas ao homem e em coleção de fungos. 2015 ? Está cursando o Doutorado na Faculdade de Saúde Pública de São Paulo, no Programa de Pós-graduação de Doutorado em Epidemiologia - com orientação da Profª. Drª. Maria Regina Alves Cardoso. Projeto intitulado: ?Caracterização de espécies fúngicas na atmosfera Grande São Paulo?

Certificado pelo autor em 09/02/2017

[Abrir Currículo](#)[Contato](#)[Fechar](#)

Maria Regina Alves Cardoso

Possui graduação em Odontologia pela Universidade de São Paulo (1979), Mestrado em Saúde Pública pela Universidade de São Paulo (1990), Doutorado em Epidemiologia pela University of London (1997) e Livre-Docência pela Universidade de São Paulo (2007). Atualmente é Professora Titular do Departamento de Epidemiologia. Coordena o Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia (PPG-Epi) da Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo desde agosto de 2015 e coordena o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública - USP desde outubro de 2015. Tem experiência na área de Saúde Coletiva, com ênfase em Epidemiologia, atuando principalmente em temas de Epidemiologia Ambiental.

Certificado pelo autor em 09/10/2018

No CNPq

[Currículo Lattes](#)

[Abrir Currículo](#)[Contato](#)[Fechar](#)

CLDY-D-18-00841 - Submission Confirmation

1 mensagem

Climate Dynamics (CLDY) <em@editorialmanager.com>

27 de novembro de 2018 14:07

Responder a: "Climate Dynamics (CLDY)" <merlyn.daniel@springernature.com>

Para: Dulcilena de Matos Castro e Silva <dulmatos.ial@gmail.com>

Dear Mrs Castro e Silva,

Thank you for submitting your manuscript, Anemophilous fungi concentrations during the episode of truck strike in São Paulo, Brazil, in May 2018, to Climate Dynamics.

The submission id is: CLDY-D-18-00841

Please refer to this number in any future correspondence.

During the review process, you can keep track of the status of your manuscript by accessing the Journal's website.

Your username is: DULCILENA

If you forgot your password, you can click the 'Send Login Details' link on the EM Login page at <https://cldy.editorialmanager.com/>.

Should you require any further assistance please feel free to e-mail the Editorial Office by clicking on "Contact Us" in the menu bar at the top of the screen.

With kind regards,
Springer Journals Editorial Office
Climate Dynamics

Now that your article will undergo the editorial and peer review process, it is the right time to think about publishing your article as open access. With open access your article will become freely available to anyone worldwide and you will easily comply with open access mandates. Springer's open access offering for this journal is called Open Choice (find more information on www.springer.com/openchoice). Once your article is accepted, you will be offered the option to publish through open access. So you might want to talk to your institution and funder now to see how payment could be organized; for an overview of available open access funding please go to www.springer.com/oa-funding. Although for now you don't have to do anything, we would like to let you know about your upcoming options.

Recipients of this email are registered users within the Editorial Manager database for this journal. We will keep your information on file to use in the process of submitting, evaluating and publishing a manuscript. For more information on how we use your personal details please see our privacy policy at <https://www.springernature.com/production-privacy-policy> or email dataprotection@springernature.com. If you no longer wish to receive messages from this journal or you have questions regarding the Editorial Manager database and the publishing process, please email our publication office, stating the journal name(s) and your email address(es): PublicationOfficeSPS@springernature.com

In compliance with data protection regulations, please contact the publication office if you would like to have your personal information removed from the database.