

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE ENGENHARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AMBIENTE CONSTRUÍDO

Matheus Pereira Mendes

Proposta de sistemática para estudo da presença de fungos em elementos de vedação vertical de edificações: estudo de caso em ambiente hospitalar

Juiz de Fora

2020

Matheus Pereira Mendes

Proposta de sistemática para estudo da presença de fungos em elementos de vedação vertical de edificações: estudo de caso em ambiente hospitalar

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ambiente Construído Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ambiente Construído. Área de concentração: Ambiente Construído.

Orientadora: Dra. Maria Teresa Gomes Barbosa

Coorientadora: Dra. Iara Furtado Santiago

Juiz de Fora

2020

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Mendes, Matheus Pereira.

Proposta de sistemática para estudo da presença de fungos em elementos de vedação vertical de edificações : estudo de caso em ambiente hospitalar / Matheus Pereira Mendes. -- 2020.

123 p. : il.

Orientadora: Maria Teresa Gomes Barbosa

Coorientadora: Iara Furtado Santiago

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Engenharia. Programa de Pós-Graduação em Ambiente Construído, 2020.

1. Ambiente construído. 2. Microbiologia. 3. Patologia das construções. 4. Paredes de alvenaria. 5. Ambiente nosocomial. I. Barbosa, Maria Teresa Gomes, orient. II. Santiago, Iara Furtado, coorient. III. Título.

Matheus Pereira Mendes

Proposta de sistemática para estudo da presença de fungos em elementos de vedação vertical de edificações: estudo de caso em ambiente hospitalar

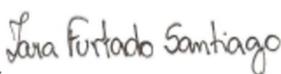
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ambiente Construído Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ambiente Construído. Área de concentração: Ambiente Construído.

BANCA EXAMINADORA



Dra. Maria Teresa Gomes Barbosa – Orientadora

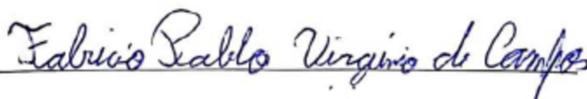
Universidade Federal de Juiz de Fora



Assinado de forma digital por Iara Furtado Santiago
Dados: 2020.07.07 12:46:51 -03'00'

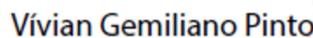
Dra. Iara Furtado Santiago – Coorientadora

Universidade Federal de Juiz de Fora



Dr. Fabrício Pablo Virgínio de Campos

Universidade Federal de Juiz de Fora



Assinado de forma digital por Vivian Gemiliano Pinto
Dados: 2020.07.09 14:34:41 -03'00'

Dra. Vivian Gemiliano Pinto

Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais



Assinado de forma digital por Nicole Andrade da Rocha
Dados: 2020.07.08 16:11:01 -03'00'

Dra. Nicole Andrade da Rocha

Faculdade Metodista Granbery

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha irmã e melhor amiga Júlia Mendes, por sempre acreditar em mim e por muitas das vezes, mais do que eu mesmo. Ao Diogo Machado, agradeço imensamente por todo companheirismo, suporte emocional e apoio técnico neste estudo, sempre me ajudando sem medir esforços. Agradeço aos meus pais, por sempre apoiarem minhas decisões e por terem me dado oportunidades para que chegasse aqui.

Agradeço imensamente à minha orientadora Maria Teresa Barbosa pelos anos de dedicação, suporte, e contribuição por este e outros trabalhos e para a minha formação profissional. Sem você nada disso teria ocorrido.

Agradeço grandiosamente à minha coorientadora Iara Santiago por introduzir uma nova perspectiva de estudo: a microbiologia. Obrigado por todo suporte e principalmente pela dedicação a este trabalho. Você foi peça fundamental deste estudo.

Agradeço aos amigos que contribuíram para que este estudo pudesse ser realizado. Ao Vitor Dias, o presente que ganhei desta pós-graduação, obrigado por ser meu colega de trabalho, por nossa produção conjunta e por toda amizade. Agradeço ao Marcel Arruda, por se mostrar sempre solícito e disposto a fornecer consultoria técnica na área de biológicas. Agradeço também a Angela Nicolato, por contribuir tecnicamente para este trabalho. Ao Vicente Rosse, obrigado por todo suporte a este trabalho e por nossa produção conjunta.

Agradeço aos funcionários do Hospital Universitário da UFJF, Renata Fiuza, Fabiano, e Wallace Silva por nos receber de braços abertos para que pudéssemos realizar este trabalho. Obrigado por estarem dispostos a contribuir para o desenvolvimento da educação e ciência.

Agradeço a Iramaia Moraes do Laboratório de Qualidade Ambiental da Universidade Federal de Juiz de Fora por se prestar sempre solidária a fornecer recursos a esta pesquisa. Além disso, agradeço ao corpo técnico do Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais. Obrigado ambos por fornecerem ferramentas de qualidade para que pudéssemos alcançar nossos objetivos.

Agradeço, grandiosamente, aos membros que compõe a banca avaliadora. Obrigado por fazerem contribuições que ajudarão este trabalho crescer mais.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo fomento da pesquisa.

E por fim, agradeço ao corpo administrativo e docentes do Programa de Pós-Graduação em Ambiente Construído.

RESUMO

A colonização e crescimento dos fungos nas edificações resultam em consequências estéticas, degradação, corrosão, incrustação, dentre outros. Nos seres humanos, estes microrganismos encontrados em edificações podem causar doenças. Diante disso, este trabalho apresenta uma sistematização para investigar a presença de fungos em elementos de vedação vertical de edificações (ou seja, paredes) mais especificamente, em um ambiente hospitalar (devido às consequências que podem ser geradas nesses locais). Nesse contexto, foi detalhado um minucioso sistema de coleta e análise dos materiais constituintes dos elementos de vedação vertical considerando as diversas camadas, fazendo a análise microbiológica dos gêneros fúngicos encontrados e qual risco eles representam ao ambiente construído. Além disso realizou-se um levantamento das condicionantes ambientais existentes para que fosse possível a previsão do crescimento fúngico através de modelos numéricos. Constatou-se que a camada de tinta foi aquela que abrigou o maior número de colônias fúngicas, uma vez que está exposta aos aerossóis do ambiente interno, que podem conter uma gama de esporos fúngicos. Nas áreas mais úmidas das paredes e mais expostas às intempéries identificou-se o maior número de colônias, inclusive, abrigando dois dos três gêneros que oferecem maior risco à edificação e aos seus ocupantes (*Aspergillus* e *Cladosporium*). Através dos modelos de previsão de crescimento fúngico comprovou-se que na superfície dos materiais de construção expostos ao ambiente externo ocorre o crescimento e a estabilização de fungos em grandes quantidades, já no ambiente interno e nos materiais constituintes da parede, ocorre pouco ou nenhum crescimento. Este trabalho contribuiu para o conhecimento acerca dos fungos nos materiais de construção, principalmente no ambiente hospitalar.

Palavras-chave: Ambiente construído. Microbiologia. Patologia das construções. Paredes de alvenaria. Ambiente nosocomial.

ABSTRACT

Fungus colonization and growth in building materials results in molds, corrosion, fouling, cracking, peeling, among others. In human beings, species of fungi found in the built environment can cause diseases. Therefore, this work aims to present a systematization to investigate the presence of fungi in buildings walls, which was carried out in a case study on a hospital environment (due to the consequences on this environment). In this context, this paper presents a detailed method to sample and analyse construction materials of the layers on masonry walls, performing a microbiological analysis of the fungi genera found in a study case and the risk they offer to the built environment. Furthermore, a survey was carried out of the environmental conditions and this information was used to estimate fungal growth by numerical prediction models. It was found that the ink layer had one of the greatest number of fungal colonies, since it is exposed to bioaerosols in the inside environment, which may contain a range of fungal spores; the sample point on the most humid and most exposed wall was the most infected by fungi colonies, including two of the three most dangerous genera to buildings and its occupants (*Aspergillus* and *Cladosporium*). Fungal growth prediction models showed a larger growth on the surface of building materials exposed to outside weather; on the inside environment, as on the inside of masonry materials, the growth was lesser or negligible. This paper contributed to the knowledge about the fungal presence in the built environment, mostly in healthcare facilities.

Keywords: Built environment. Microbiology. Construction defects. Masonry walls. Nosocomial environment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Demarcação de pontos para coleta.....	52
Figura 2 – Termografia para identificação de possíveis infiltrações pontuais.....	52
Figura 3 – Dimensões da alvenaria do estudo de caso para a parede externa.....	63

LISTA DE FOTOGRAFIAS

Fotografia 1 – Hospital Universitário da UFJF.	48
Fotografia 2 – Fotografia externa da sala onde se realizou o estudo.....	48
Fotografia 3 – Laboratório de patologia do HU/UFJF.	49
Fotografia 4 – Aparelho termohigrômetro para argamassas Hygropin.	53
Fotografia 5 – Coleta microbiológica da camada de tinta.	54
Fotografia 6 – Coleta microbiológica da camada de argamassa.	55
Fotografia 7 – Coleta microbiológica da camada de bloco de vedação.	56
Fotografia 8 – Placa com formação de três tipos de colônia.	58
Fotografia 9 – Aparelho termo higrômetro com data logger.....	61
Fotografia 10 – Colônias encontradas no ponto 1.	75
Fotografia 11 – Colônias encontradas no ponto 2.	75
Fotografia 12 – Colônias encontradas no ponto 3 (apenas na câmara de tinta).	76

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Isopleta de Smith e Hill (1982).	65
Gráfico 2 – Isopleta EPS-r.....	66
Gráfico 3 – Isopleta de Sedlbauer.....	67
Gráfico 4 – Série temporal da temperatura do ambiente interno e externo.....	83
Gráfico 5 – Matriz de correlação de Pearson das temperaturas.	85
Gráfico 6 – Comportamento histórico da umidade relativa (UR) dos ambientes.	86
Gráfico 7 – Matriz de dispersão de UR dos diferentes ambientes.....	87
Gráfico 8 – Isopletas de Smith e Hill (1982).....	89
Gráfico 9 – Modelo ESP-r (1999).	90
Gráfico 10 – Isopleta de Sedlbauer (2001).....	91
Gráfico 11 – Índice de crescimento fúngico VTT da parede.	93
Gráfico 12 – Índice VTT de materiais expostos aos ambientes.	94
Gráfico 13 – Modelo biohigrotérmico do elemento de vedação.	95
Gráfico 14 – Modelo biohigrotérmico de materiais expostos aos ambientes.....	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Condições de temperatura e umidade relativa de fungos.	37
Tabela 2 – Faixa de pH para algumas espécies de fungos.....	39
Tabela 3 – As 5 doenças invasivas fúngicas mais comuns.....	44
Tabela 4 – Densidade de Infecções do HU UFJF.	50
Tabela 5 – Classificação qualitativa da matriz de riscos.	61
Tabela 6 – Umidade Relativa limite pelo tempo de exposição.	69
Tabela 7 – Índices do modelo VTT.....	69
Tabela 8 – Coleta com aparelho termohigrômetro no interior da parede.....	74
Tabela 9 – Quantidade de colônias encontradas nos pontos.	74
Tabela 10 – Susceptibilidade de crescimento em materiais de construção.	77
Tabela 11 – Capacidade Infectante em Seres Humanos.....	78
Tabela 12 – Resultados de análises microbiológicas do estudo de caso.	80
Tabela 13 – Matriz de risco dos gêneros fúngicos.	81
Tabela 14 – Estatísticas descritivas da temperatura das aferições.....	84
Tabela 15 – Estatísticas descritivas da umidade relativa.....	86
Tabela 16 – pH dos pontos.	88
Tabela 17 – Tempo de molhagem.	92
Tabela 18 – Análise comparativa entre modelos de previsão de crescimento fúngico.	97
Tabela 19 – Resultado final da previsão de crescimento.....	98

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças
CT	Amostra contaminada durante processamento
INPE	Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais
IPCS	Infecções Primárias de Corrente Sanguínea
N.I.	Amostra não-identificada
NSP	Núcleo de Segurança do Paciente
PSP	Plano de Segurança do Paciente em Serviços de Saúde
SB	Sabourad
TOW	Tempo de molhagem (time of wetness)
UFJF	Universidade Federal de Juiz de Fora
UR	Umidade relativa
UTI	Unidade de Terapia Intensiva

LISTA DE SÍMBOLOS

A_w	Atividade De Água
θ	Temperatura
T	Tempo
E	Espessura Da Camada
Λ	Condutividade Térmica
R	Resistência Térmica
U	Transmitância Térmica
T	Temperatura
F_t	Função De Temperatura
F_ϕ	Função De Umidade Relativa

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	27
1.1	OBJETIVO	29
1.2	CONDIÇÕES DE CONTORNO.....	29
1.3	ESTRUTURA DO TRABALHO	31
2	FUNGOS NAS EDIFICAÇÕES	33
2.1	CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	33
2.2	CONDIÇÕES DE OCORRÊNCIA DE FUNGOS EM EDIFICAÇÕES	34
2.1.1	Temperatura	36
2.1.2	Umidade	38
2.1.3	pH.....	38
2.1.4	Nutrientes	39
2.1.5	Rugosidade da superfície	39
2.1.6	Porosidade do material.....	40
2.1.7	Sais minerais	40
2.1.8	Luz	41
2.2	DETERIORAÇÃO DOS MATERIAIS DE CONSTRUÇÃO	41
2.3	FUNGOS E O AMBIENTE HOSPITALAR.....	43
3	METODOLOGIA.....	47
3.1	ESTUDO DE CASO	47
3.2	SISTEMATIZAÇÃO PARA ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	50
3.2.1	Amostragem.....	51
3.2.2	Amostragem Microbiológica do Substrato	53
<i>3.2.2.1</i>	<i>Camada de tinta</i>	<i>54</i>
<i>3.2.2.2</i>	<i>Camada de argamassa</i>	<i>55</i>
<i>3.2.2.3</i>	<i>Camada de bloco.....</i>	<i>56</i>
3.2.3	Inoculação de Placas e Identificação de Gêneros	58
3.2.4	Susceptibilidade de Crescimento Fúngico em Materiais de Construção.....	59
3.2.5	Capacidade Infectante Fúngica em Temperatura Corporal.....	60
3.2.6	Matriz de Risco: Infeções e Materiais de Construção	60
3.3	CONDICIONANTES FÍSICOS	61

3.3.1	Condicionantes Físicos do Ambiente Interno.....	61
3.3.2	Condicionantes Físicos do Ambiente Externo	62
3.3.3	Condicionantes Físicos do Elemento de Vedação (Transferência de Calor)	62
3.3.4	Análise estatística de condicionantes ambientais.....	63
3.3.5	Análise de pH	64
3.4	MODELOS DE PREVISÃO	65
3.4.1	Isopletas	65
<i>3.4.1.1</i>	<i>Smith e Hill (1982).....</i>	<i>65</i>
<i>3.4.1.2</i>	<i>Modelo ESP-r (1999).....</i>	<i>66</i>
<i>3.4.1.3</i>	<i>Sedlbauer (2001).....</i>	<i>66</i>
3.4.2	Tempo de molhagem.....	67
3.4.3	Hens.....	68
3.4.4	Índice Fúngico VTT.....	69
3.4.5	Modelo Biohigrotérmico.....	70
4	RESULTADOS E ANÁLISES.....	73
4.1	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	73
4.1.1	Análise dos Pontos Escolhidos	73
4.1.2	Contagem, Purificação e Identificação de Colônias.....	74
4.1.3	Susceptibilidade de Crescimento em Materiais de Construção.	76
4.1.4	Capacidade Infectante em Seres Humanos.....	78
4.1.5	Discussão dos resultados	79
4.2	ANÁLISES DE CONDICIONANTES AMBIENTAIS	82
4.2.1	Temperatura	83
4.2.2	Umidade Relativa	85
4.2.3	Considerações	87
4.3	ANÁLISES DE CONDICIONANTES DO SUBSTRATO	88
4.4	ANÁLISES DOS MODELOS DE PREVISÃO DE CRESCIMENTO FÚNGICO	88
4.4.1	Isopletas	88
<i>4.4.1.1</i>	<i>Smith e Hill (1982).....</i>	<i>89</i>
<i>4.4.1.2</i>	<i>Modelo ESP-r (1999).....</i>	<i>90</i>
<i>4.4.1.3</i>	<i>Sedlbauer (2001).....</i>	<i>91</i>
4.4.2	Tempo de Molhagem (TOW).....	92

4.4.3	Hens.....	92
4.4.4	Índice Fúngico VTT.....	93
4.4.5	Modelo Biohigrotérmico.....	95
4.4.6	Considerações Sobre os Modelos adotados.....	96
5	CONCLUSÃO	99
5.1	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	100
	REFERÊNCIAS	102
	APÊNDICE A – CRONOGRAMA DO PROGRAMA EXPERIMENTAL	113
	APÊNDICE B – IDENTIFICAÇÃO DE GÊNEROS FÚNGICOS	115
	APÊNDICE C – COLÔNIAS IDENTIFICADAS	121
	ANEXO A – CÁLCULO DE TRANSFERÊNCIA DE CALOR	125

1 INTRODUÇÃO

As edificações estão sujeitas a ações de deterioração causadas por diversos fatores que influenciam diretamente seu desempenho, bem como a saúde e o conforto dos usuários. Nesse contexto, Hueck (2001) e Young *et al.* (2008) mencionam que a biodeterioração, alteração indesejada nas propriedades de um material causadas por um ser vivo, como um dos agentes que prejudicam o desempenho das edificações, seja pelo comprometimento da vida útil dos materiais ou pela ação danosa à qualidade de vida dos usuários.

Dentre os fatores biológicos presentes nos interiores de edificações, os fungos são responsáveis por mais de 80% da degradação total do material de construção (ZYSKA, 2001), gerando consequências econômicas, estéticas e, em alguns casos, sociais, visto que estes organismos podem prejudicar o patrimônio cultural, material e humano.

No que se refere aos fungos, suas propriedades fisiológicas, bioquímicas e morfológicas são condicionantes para a biodeterioração de materiais de construção e um sério risco à saúde dos usuários da edificação. Segundo Sedlbauer *et al.* (2001), temperaturas relativas do ar acima de 10 °C, taxas de umidade relativa do ar acima de 70%, além de outras condicionantes como pH e disponibilidade de nutrientes, são condições ideais para o surgimento de várias espécies de fungos. No que se refere a edificação, especificadamente ao substrato onde os microrganismos se desenvolvem, a rugosidade e a porosidade (TOMASELLI *et al.*, 2000), assim como a composição do meio (ORTEGA-CALVO *et al.*, 1995) são fatores importantes para o surgimento de biofilmes microbianos, isto é, uma camada viva formada por microrganismos ativos e inativos, além de produtos de seu metabolismo, como ácidos e materiais poliméricos (YOUNG *et al.*, 2008).

Conforme mencionado, a colonização e crescimento dos microrganismos ocasionam:

- a) consequências estéticas na edificação correlacionadas com a pigmentação advinda do biofilme ou a descoloração da superfície (CRISPIM; GAYLARDE; GAYLARDE, 2003);
- b) degradação e corrosão de material por ácidos produzidos pelo metabolismo dos mesmos (GAYLARDE; MORTON, 1999);
- c) incrustação de fungos filamentosos nos poros do material (GAYLARDE; MORTON, 1999);
- d) abertura de fissuras e descascamento (DANIN; CANEVA, 1990);
- e) danos à saúde dos usuários, como por exemplo os fungos causadores de crises alérgicas, problemas respiratórios e infecções (NIKULIN, 1994; PARK; MEHRAD, 2009).

O ambiente hospitalar apresenta características distintas, como o grande fluxo e rotatividade de pessoas, a existência de possíveis transmissores de diferentes patógenos e a presença de pacientes imunocomprometidos. Assim, o controle fúngico destes locais deve ser realizado de forma rigorosa, uma vez que estes organismos podem ser os causadores de infecções hospitalares, que atualmente estão atreladas a altas taxas de mortalidade de pacientes (BROWN *et al.*, 2012).

Os esporos microbianos causadores de doenças podem estar dispersos não só no ar do ambiente, mas também nas superfícies construídas e dos materiais, de forma transitória ou constante. Portanto, além de um controle rígido de higiene e assepsia de superfícies, é necessário atentar para as interferências construtivas nos locais e nos arredores, uma vez que estas agravam a taxa de exposição a microrganismos aumentando as taxas de infecções nosocomiais.

Cabe mencionar que as principais causas de contaminação hospitalar são relacionadas ao próprio paciente e com os métodos diagnósticos e terapêuticos, mesmo assim, não se pode desconsiderar a parte da responsabilidade da carência de higiene e assepsia das superfícies do ambiente (ANDRADE; ANGERAMI, PADOVANI, 2000). Assim, estas superfícies, próxima dos pacientes ou tocadas com frequência, podem conter contaminações microbianas. Segundo Carling (2013), há um risco aproximadamente 120% maior de um paciente ser colonizado ou infectado com uma ampla variedade de patógenos associados aos cuidados de saúde se o indivíduo que ocupava anteriormente aquele mesmo ambiente tiver sido colonizado com esse organismo.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) disponibiliza, além de cuidados para com o ar interior de superfícies hospitalares, um manual de limpeza e desinfecção de superfícies (BRASIL, 2002). Porém, segundo Ferreira *et al.* (2015), o documento não descreve detalhadamente métodos mais modernos de avaliação da limpeza e desinfecção dessas superfícies, que podem superestimar a inspeção visual como um método mais fácil e viável de ser realizado. Além disso, atualmente não há uma metodologia que possibilite uma investigação da contaminação fúngica no interior de superfícies construídas, como nas paredes, por exemplo.

Alguns estudos já mostraram que os materiais de construção podem conter uma série de microrganismos (RIBAS *et al.*, 2004; SHIRAKAWA *et al.*, 2004; GAYLARDE e GAYLARDE, 2005; GORBUSHINA, 2007; GARCIA, 2016), não só em suas superfícies externas, como também no seu interior. Outros estudos mostram a relação do aumento da contaminação microbiana em hospitais com atividades construtivas nos arredores como manutenções, remodelações e reformas (STREIFEL, 1983; OPAL *et al.*, 1986; OREN *et al.*,

2001; CURTIS *et al.*, 2005; ULRICH, 2008). No entanto, a Organização Mundial da Saúde não possui um programa sobre infecção por fungos, e a maioria das agências de saúde pública realiza pouca ou nenhuma vigilância micológica. Particularmente preocupante é a alta taxa de mortalidade associada a infecções fúngicas invasivas, que geralmente ultrapassam 50%, apesar da disponibilidade de vários medicamentos antifúngicos (BROWN, 2012).

1.1 OBJETIVO

Este trabalho tem como objetivo apresentar uma sistematização para investigar a presença de fungos em elementos de vedação vertical de edificações (ou seja, paredes) mais especificamente, em um ambiente hospitalar (devido às consequências que podem ser geradas nesses locais).

Para alcançar o objetivo geral são definidos os secundários, a saber:

- a) apresentar as consequências da presença de fungos no ambiente construído, especificamente o hospitalar, para com as edificações e seus usuários;
- b) desenvolver uma metodologia para coleta e análise microbiológica de gêneros fúngicos associados a superfícies internas e externas construídas, isto é, materiais de revestimento e interior dos elementos de vedação vertical;
- c) avaliar as condicionantes de ocorrência dos microrganismos como substrato, temperatura, umidade relativa e pH;
- d) com as condicionantes ambientais, estimar através de modelos numéricos (matemáticos e estatísticos), a possibilidade e a intensidade de crescimento dos gêneros fúngicos em edificações.

1.2 CONDIÇÕES DE CONTORNO

Salienta-se que o local de estudo, “laboratório de patologia” (localizado no Hospital Universitário da UFJF, rua Catulo Breviglieri, s/n, bairro Santa Catarina, cidade de Juiz de Fora (MG)) onde ocorreu a coleta de amostras dos materiais de construção constituintes do elemento vertical de vedação (denominado por parede), foi condicionado a disponibilidade do hospital, onde foi desenvolvida toda a sistematização para coleta, armazenamento e transporte das amostras para futuras análises.

Cumprido esclarecer que o estudo acerca da contaminação seria mais eficaz, no que se refere a quantidade e variabilidade dos microrganismos, em ambientes com maior índice de

contaminação, como por exemplo, centros cirúrgicos. Entretanto, os procedimentos estabelecidos na sistematização proposta (vide capítulo 3 e 4) são passíveis de projetar partículas e, conseqüentemente, esporos fúngicos no ar (ambiente) e, assim tornar-se mais um dos condicionantes de uma infecção hospitalar. Logo, optou-se por realizar este estudo experimental em uma área de menor acesso de pacientes, principalmente os de saúde mais debilitada. De qualquer forma, espera-se uma assepsia controlada no local de coleta, uma vez que há um grande fluxo de funcionários e material de análises clínicas (possivelmente contaminados), que podem vir a ser vetores de contaminações.

Na definição da sala, os funcionários do hospital e do setor de serviços de manutenção da UFJF, consideraram a reforma prevista, que seria iniciada no mês subsequente. Nesse sentido, cabe mencionar que diversas bibliografias mencionam que as atividades construtivas em arredores de áreas com pacientes de alto risco são, também, responsáveis por aumentar a taxa de mortalidade causada por doenças invasivas fúngicas, o que evidencia a significância do local de estudo (BOUZA *et al.*, 2002; YONEMORI *et al.*, 2002; MARTINS-DINIZ *et al.*, 2005; RAVIV *et al.*, 2007; GAIO; TEIXEIRA; FUENTEFRÍA, 2011; GARNAUD *et al.*, 2012; POKALA *et al.*, 2014)

No procedimento de coleta das amostras foram definidos três pontos distintos de coleta de amostra (exemplares dos materiais de construção) no elemento de vedação vertical que constituiu no recolhimento dos materiais constituintes das diversas camadas e em diferentes profundidades que compõe a “parede”, a saber: revestimento (pintura e argamassas) e constituição (parte do tijolo/ bloco de vedação), Sendo assim, em cada ponto de recolhimento foram adquiridos 13 amostras, totalizando 39 análises. A finalidade desse procedimento é propor uma nova sistemática que possibilite a elaboração de metodologia mais consistente para investigação da contaminação do material de construção. Cabe mencionar que a definição do número de pontos de coleta e área do cômodo de estudo estão, também, baseados na resolução nº 9 da ANVISA (BRASIL, 2003), onde se considera que para cada 1000 m² deve-se efetuar a coleta de 1 amostra.

Como o objeto de estudo é a contaminação do material de construção, desconsiderou-se os esporos fúngicos presentes no ar, inclusive já existe metodologia normatizada para contaminação aérea, como a apresentada pela resolução nº 9 da ANVISA (BRASIL, 2003).

Para análise mais detalhada das condições internas no material de construção, que poderiam favorecer a manutenção e a proliferação de microrganismos, considerou-se um regime de transferência de calor estacionário entre o ambiente interno e externo.

1.3 ESTRUTURA DO TRABALHO

O presente trabalho será estruturado nos seguintes capítulos: Introdução, Revisão bibliográfica, Metodologia, Resultados e análises e Conclusão.

Capítulo 1: Introdução. Neste capítulo há uma breve introdução sobre os fungos sob a perspectiva do ambiente construído, principalmente o hospitalar, incluindo a justificativa acerca do tema e os objetivos a serem atingidos que norteiam esse estudo.

Capítulo 2: Revisão bibliográfica. Neste capítulo tem-se as pesquisas bibliográficas para contextualização do estudo. Primeiramente mostra-se as características básicas dos fungos e condições de ocorrência. Além disso, mostra-se a relação do fungo com o ambiente construído, principalmente o ambiente hospitalar, foco deste estudo.

Capítulo 3: Metodologia. Neste capítulo apresenta-se a metodologia (sistematização) utilizada para o desenvolvimento da pesquisa. Assim, há todo programa experimental para análise microbiológica e física, como também os modelos de previsão de crescimento fúngico em edificações.

Capítulo 4: Resultados e análises. Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos com a sistematização proposta na metodologia. A partir dos resultados, são mostradas as análises e discussões acerca do tema.

Capítulo 5: Conclusão. Neste capítulo é apresentado uma síntese de tudo que foi discutido no Capítulo 4, mostrando as descobertas que foram encontradas através das investigações propostas. Além disso, propõe-se diretrizes para o avanço acerca da temática abordada no estudo.

2 FUNGOS NAS EDIFICAÇÕES

Neste capítulo é apresentado uma contextualização acerca do tema de estudo, apresentando características gerais dos fungos e suas condições de ocorrência em edificações. Além disso, mostra-se as consequências da interação destes microrganismos com o ambiente construído, especificamente o hospitalar.

2.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Cerca de 80.000 a 120.000 espécies de fungos foram descritas até o momento, embora o número total de espécies seja estimado em cerca de 1,5 milhão (Hawksworth, 2001). Isso tornaria os fungos um dos recursos de biodiversidade menos explorados do nosso planeta. Com base em suas características, os fungos podem ser circunscritos pelo seguinte conjunto de características segundo Webster e Weber (2007):

- a) nutrição: heterotrófico, isto é, não são capazes de produzir seu próprio alimento, sem fotossíntese, alimentando-se por absorção e não por ingestão;
- b) estado vegetativo: no substrato, tipicamente como um micélio (agrupamento de hifas) imóvel (em alguns estados reprodutivos podem se tornar móveis);
- c) parede celular: normalmente presente, geralmente baseado em glucanos e quitina, raramente em glucanos e celulose (como as plantas);
- d) status nuclear: eucarióticos, isto é, suas células tem membrana nuclear que envolve o material genético (RNA e DNA) e vários tipos de organelas;
- e) ciclo de vida: simples ou, principalmente, complexo;
- f) reprodução: sexual (isto é, fusão nuclear e meiose) e/ou parassexual (isto é, envolvendo fusão nuclear seguida de diplodização gradual) e/ou assexual (isto é, divisão nuclear puramente mitótica);
- g) propágulo: esporos microscopicamente pequenos, produzidos em grande número (alguns grupos podem apresentar esporos móveis);
- h) esporocarpos: microscópico ou macroscópico e mostrando formas características, mas apenas diferenciação tecidual limitada;
- i) habitat: onipresente em habitats terrestres e de água doce, menos no ambiente marinho;
- j) ecologia: Papéis ecológicos importantes como saprotróficos (isto é, se alimentam absorvendo substâncias orgânicas originária de processos de decomposição), mutualistas (se associam com outras populações), parasitas ou hiperparasitas;

k) distribuição: cosmopolita, isto é, pode ser encontrado em qualquer lugar do mundo.

Além de ter um papel na pesquisa biológica fundamental, os fungos são de grande importância prática. Na maioria dos ecossistemas naturais, existem fungos associados às raízes das plantas que ajudam a absorver nutrientes do solo e que decompõem plantas mortas da camada superficial do solo. Estes seres causam algumas das doenças vegetais mais importantes e, portanto, recebem muita atenção dos patologistas; outros geram doenças no homem e em animais domésticos, por isso há especialistas em micologia médica e veterinária. Muitos degradam alimentos, danificam produtos manufaturados ou causam deterioração de materiais de construção, atraindo a atenção de microbiologistas de alimentos, especialistas em biodeterioração e tecnólogos de materiais, respectivamente. Os fungos também cumprem muitos papéis benéficos para os seres humanos. Estes microrganismos podem ser utilizados para alimentação, na fabricação de cerveja, panificação e na preparação de uma variedade de alimentos. A versatilidade metabólica dos fungos é explorada pela indústria de fermentação, para fabricar antibióticos e outras substâncias de alto valor de interesse para a medicina, na agricultura e na indústria química, para produzir enzimas e para executar etapas específicas de processos químicos (CARLILE; WATKINSON; GOODAY, 2001).

2.2 CONDIÇÕES DE OCORRÊNCIA DE FUNGOS EM EDIFICAÇÕES

Salienta-se que a própria edificação pode ter características que podem influenciar ou não o aparecimento de fungos e bolores. Um edifício destina-se a modificar as condições climáticas de alguma forma, mesmo que seja apenas desviar a chuva ou fornecer sombra do sol. O envelope do edifício determina se as mudanças no ambiente externo são transmitidas para os espaços internos (SCOTT, 1994). Assim, há várias formas de se evitar ou atrasar a biodeterioração por fungos, seja na etapa de projeto e na especificação de materiais a serem empregados, seja na etapa dos serviços de manutenção preditiva ou preventiva, evitando-se, portanto, os serviços de correção de manifestações patológicas que comprometem a segurança, a integridade, a durabilidade e a vida útil das edificações.

É notória que uma condição necessária para o crescimento de bolores é a umidade da superfície onde eles se instalam; tal fato decorre da temperatura da superfície interna se aproximar do ponto de orvalho do ar interno, ou seja, a temperatura da superfície é muito baixa (mau isolamento térmico) ou quando o ar interno é muito úmido (ROULET, 2001), resultando em condensação. Para alguns autores, como Hunter *et al.* (1988), a condensação superficial é a principal fonte de umidade para o crescimento de microrganismos nas superfícies internas de

habitações. Associada a este fato, a condensação intersticial também pode ocorrer dentro de um material de construção poroso, como: o concreto e o tijolo, se a temperatura dentro do material estiver no ponto de orvalho do ar úmido que permeia o material.

A ventilação, outro critério que influencia a proliferação de mofo e bolores em ambientes internos, colabora com a troca do ar contaminado e influencia a temperatura e a umidade relativa do ar. Sendo assim, altas taxas de ventilação são consideradas como a razão pela qual o crescimento de fungos não é tão comum em climas quentes e úmidos (KING, 1993), já que nestes locais, apesar de possuírem as condições ideais de crescimento, usualmente tem-se projetos arquitetônicos adequados para que as edificações amenizem os efeitos climáticos garantindo o conforto aos usuários. Para Scott (1994), a ventilação não é um fator diretamente ligado a ocorrência de mofo e bolores, no entanto, ela influencia em outras condicionantes, como a temperatura e a umidade relativa do ar interna.

A exposição insuficiente à luz solar natural também pode ser um fator para o crescimento de mofo (SING; YU; KIM, 2010). A radiação solar permite temperaturas interiores mais altas, de modo que os níveis de umidade relativa são geralmente mais baixos e os períodos de condensação da superfície são mais curtos. Nesse contexto, a radiação solar incidindo diretamente sobre a superfície dos elementos verticais de vedação (paredes) eleva sua temperatura e possibilita uma secagem eficiente durante o período da tarde, evitando, assim o acúmulo de água na superfície e no interior dos materiais de construção (condensação) (BECKER, 1984). Sobrinho (2008) mostrou que a fachada orientada ao sul é, na maioria das vezes, a primeira a ter a incidência de fungos, uma vez que recebe menor quantidade de raios solares, portanto, que a orientação da edificação, principalmente as áreas úmidas (banheiro, cozinha, por exemplo) necessitam de um estudo prévio acerca de sua localização na edificação.

A forma como a edificação é utilizada também influencia. Alguns estudos concluíram que a densidade de ocupação afeta a colonização de fungos já que os usuários liberam vapor de água na respiração, aumentando a umidade relativa do ar (BECKER, 1984; WOOLLISCROFT, 1997). Além disso, algumas atividades, como culinária, banhos quentes, vaporização, podem liberar mais vapores no ar, contribuindo para um aumento da umidade relativa no interior, e em alguns casos, condensando nas paredes e revestimentos.

Outra forma de controle seria alterando as propriedades do substrato. O uso de alguns materiais pode favorecer ou desfavorecer a ocorrência de mofo e bolores. A indústria de tintas adiciona biocidas a seus produtos na tentativa de controlar esse crescimento. Os tipos e concentrações de biocidas a serem utilizados são normalmente selecionados usando testes

acelerados normatizados conduzidos em condições de laboratório. No entanto, esses testes não consideram parâmetros ambientais, como chuva ou microbiota local, que podem influenciar o crescimento de fungos (SHIRAKAWA, *et al.*, 2010) além de que alguns desses produtos podem ser lixiviados com o passar do tempo. Ademais, o uso de materiais hidrófobos no substrato reduz a proliferação microbiana à medida que diminui a retenção de água.

De forma geral, além de características inerentes à edificação, os fungos necessitam de algumas condições ambientais para sua ocorrência e estabilização, a saber: temperatura, umidade, pH, nutrientes, rugosidade e porosidade do substrato, sais minerais e luz.

2.1.1 Temperatura

Nielsen *et al.* (2004) afirmam que a temperatura e a umidade relativa são as duas principais condicionantes para o crescimento fúngico. A produção de biomassa muda dependendo da temperatura. Conseqüentemente, uma mudança na temperatura afeta o metabolismo. Os fungos necessitam preferencialmente de temperaturas positivas para seu crescimento, no entanto, Sedlbauer (2001) afirmou que algumas espécies podem manter sua germinação mesmo em temperaturas de até 10 graus negativas. Segundo o autor, estes organismos são mais resistentes ao frio do que o calor e estima-se que os fungos podem permanecer ativos em temperatura de até 50° C, o que demonstra que a capacidade de seu crescimento os permite estabelecer em locais de temperatura elevada. A figura Tabela 1 mostra a temperatura e umidade relativa ótima para diversas espécies fúngicas.

Segundo Crispim *et al.* (2003), diversas regiões localizadas na América Latina possuem as condições de temperatura e umidade altas, beneficiando o crescimento microbiano. Além disso, as alterações climáticas, presentes no século atual, que desconfiguram as características das estações, registrando bruscas mudanças de temperatura, tendem a contribuir para a proliferação dos organismos vivos, já que esta favorece a condensação do vapor de água no substrato, contribuindo assim com presença de umidade necessária para seu crescimento (GRANT *et al.*, 1989).

Ademais, cabe ressaltar que a temperatura ideal para fornecer conforto térmico para ocupantes de um edifício, segundo a NBR 9241 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2011), está na faixa de temperatura de crescimento de fungos.

Tabela 1 – Condições de temperatura e umidade relativa para crescimento de fungos.

Espécies de Fungos	Classe	Condições de crescimento									
		Temperatura (°C)						Umidade Relativa (%)			
		Germ. do esporo			Cresc. do micélio			Germ. do esporo		Cresc. do micélio	
min.	otim.	max.	min.	otim.	max.	min.	otim.	min.	otim.		
<i>Asp. flavus</i>	A	10	30	45	6	40	45	80	100	78	98
<i>Asp. fumigatus</i>	A	10	40	50	10	43	57	80	97	82	97
<i>Asp. nidulans</i>	A	10	37	50	6	40	48	75	95	78	97
<i>Asp. niger</i>	A	10	35	50	6	37	47	77	98	76	98
<i>Asp. penicillioides</i>	A				5	25	37				
<i>Asp. versicolor</i>	A	8	30	42	4	30	40	74	91	75	95
<i>Stachybotrys atra</i>	A	5	25	40	2	23	37	85	97	89	98
Gefährdungsklasse A	A	5	33	50	2	40	57	74	96	75	97
<i>Absidia corymbifera</i>	B					35	45				
<i>Absidia glauca</i>	B				-8	30	43			70	
<i>Alternaria alternata</i>	B	3	35	37	-2	30	32	84		85	98
<i>Asp. amstelodami</i>	B	5	35	43	7	33	42	70	90	71	100
<i>Asp. candidus</i>	B	10	35	45	3	32	57	70	95	74	90
<i>Asp. ochraceus</i>	B					32				n	95
<i>Asp. parasiticus</i>	B				10	37				82	
<i>Asp. restrictus</i>	B	10	28		10	28		73	95	71	90
<i>Asp. ruber</i>	B	5	30	42	4	27	38	70	90	71	93
<i>Asp. terreus</i>	B	14	40	50	11	40	47	75	99	n	97
<i>Aureobasidium pullulans</i>	B				2	25	35			88	
<i>Botrytis cinera</i>	B				-3	21	36			93	
<i>Cla. cladosporioides</i>	B				-5	28	32	85		84	96
<i>Eurotium herbariorum</i>	B					30	40	73		75	96
<i>Fusarium culmorum</i>	B	3	25	37	0	25	31	87		90	
<i>Fusarium oxysporum</i>	B				5	30	37			90	
<i>Fusarium solani</i>	B									90	
<i>Mucor plumbeus</i>	B				4	25	35	93		93	98
<i>Pen. brevicompactum</i>	B	5	25	32	-2	25	30	78		75	96
<i>Pen. chrysogenum</i>	B				-4	28	38	78		79	98
<i>Pen. cyclopium</i>	B	5	25	33	2	25	37	80	97	80	98
<i>Pen. expansum</i>	B	<O			-3	26	35	82		82	95
<i>Scopulariopsis brevicausalis</i>	B				5	30	37			85	94
<i>Trichoderma viride</i>	B				0	28	37				99
Gefährdungsklasse B	B	3	31	50	-8	29	57	70	94	70	96
<i>Chaetomium globosum</i>	C					35					
<i>Chrysosporium fastidium</i>	C							69	93	72	92
<i>Cla. sphaerosperum</i>	C					25				81,5	
<i>Paecilomyces lilachinus</i>	C					35	60	84		84	
<i>Pen. citrinum</i>	C							84		80	
<i>Rhizopus stolonifer</i>	C	15	28	33	10	26	37	84		92	98
<i>Trichothecium roseum</i>	C	5			15	25	35	90		86	96
<i>Ulocladium sp.</i>	C									89	

Fonte: Adaptado de Sedlbauer (2001).

2.1.2 Umidade

A água é outro fator de extrema importância para a existência e estabilização dos microrganismos nas edificações, podendo estar presente nas edificações no estado líquido e gasoso (SEDLBAUER, 2001). Para Ayerst (1969), a água disponível, geralmente expressa como atividade de água (a_w) ou como umidade relativa de equilíbrio, é o fator mais importante para o crescimento fúngico em materiais de construção. Algumas espécies de fungos podem ser encontradas em umidades acima de 78% (AYERST, 1969; NIKULIN, 1994), enquanto outras espécies estão presentes em locais com apenas 50% de umidade relativa do ar (ADAN, 1994; VIITANEN AND BJURMAN, 1995).

No Brasil, a formação de biofilmes microbianos devido à condicionante umidade estará sempre presente, uma vez que se trata de um ambiente predominantemente tropical (ALLSOPP; SEAL, 1986). Ressalta-se que os fatores umidade e temperatura são relacionados entre eles e não é preferível analisá-los separadamente.

2.1.3 pH

A faixa ótima de pH para fungos está compreendida entre 5 e 7, no entanto, muitas espécies são tolerantes a valores de pH de 2 a 11 (SEDLBAUER, 2001; TUDOR; ROBINSON; COOPER, 2013). Nesse contexto, destaca-se a possibilidade de crescimento de microrganismos no concreto, que mesmo apresentando pH de até 13 (HELENE, 1993), não pode ser descartada, uma vez que existem outros fatores que influenciam o crescimento microbiano.

Salienta-se que o pH participa em diversos mecanismos nos fungos como, por exemplo, a produção de pigmentos e de melanina, características prejudiciais à estética das edificações (TUDOR; ROBINSON; COOPER, 2013) e que alteram ainda mais o pH do ambiente, beneficiando a proliferação de fungos pela liberação de ácidos orgânicos (GRIFFIN; INDICTOR; KOESTLER, 1991). A Tabela 2 mostra a faixa de pH ótima para crescimento de algumas espécies de fungos.

Tabela 2 – Faixa de pH para algumas espécies de fungos.

Espécies de Fungos	Classe	pH		
		min.	otim.	max.
<i>Asp. flavus</i>	A	2,5	7,5	>10
<i>Asp. fumigatus</i>	A	3,0	6,5	8,0
<i>Asp. nidulans</i>	A			
<i>Asp. niger</i>	A	1,5		9,8
<i>Gefährdungsklasse A</i>	A	2,0	7,0	10,0
<i>Absidia corymbifera</i>	B	3,0		8,0
<i>Alternaria alternata</i>	B	<2,7	5,4	>8
<i>Asp. candidus</i>	B	2,1		7,7
<i>Asp. ochraceus</i>	B	3,0	6,5	10,0
<i>Asp. parasiticus</i>	B	2,0	6,5	10,5
<i>Cla. cladosporioides</i>	B	3,1		7,7
<i>Fusarium oxysporum</i>	B	2,0		9,0
<i>Mucor plumbeus</i>	B		7,0	
<i>Pen. cyclopium</i>	B	2,0		10,0
<i>Scopulariopsis brevicausalis</i>	B		9,5	
<i>Gefährdungsklasse B</i>	B	2,0	7,0	11,0
<i>Pen. citrinum</i>	C	2,0	5,5	10,0
<i>Rhizopus stolonifer</i>	C			<6,8
<i>Gefährdungsklasse C</i>	C	2,0		10

Fonte: Adaptado de Sedbauer (2001).

2.1.4 Nutrientes

Apesar da edificação e suas partes possuírem menores quantidades e/ou menos constituintes nutricionais para os microrganismos, pequenas quantidades de nutrientes orgânicos já são suficientes para o crescimento microbiano. Segundo Sedlbauer (2001), os fungos se estabelecem no substrato quando existem nutrientes que estão presentes na forma de partículas de sujeira, em biofilmes de algas e bactérias, resíduos, poeira, e metaboliza-os com auxílio de suas enzimas (GÓMEZ-ALARCÓN; MUÑOZ; FLORES, 1994).

2.1.5 Rugosidade da superfície

Algumas das condicionantes para o crescimento e estabilização de microrganismos são as propriedades do material, uma vez que uma superfície rugosa favorece a estabilização dos microrganismos (TOMASELLI *et al.* 2000), à medida que facilita a incrustação de sujidades,

nutrientes necessários à sobrevivência destes organismos. Silva (2007) demonstrou que a infiltração de água nas paredes aumenta quando a rugosidade da superfície é grande, já que a água escorre de forma mais lenta, aumentando o tempo de contato com o material, assim, provendo condições ideais de umidade para proliferação de algumas espécies microbianas. Associado a esse fato, Quagliarini *et al.* (2019) demonstraram que uma maior rugosidade resulta num incremento na área coberta por microrganismos, uma vez que a presença de micro-indentações na superfície do material favorece a ancoragem mecânica das células microbianas, que se proliferam progressivamente, formando biomassa de algas filamentosas entre outros microrganismos.

2.1.6 Porosidade do material

A porosidade ou o raio dos poros dos materiais de construção para Sedlbauer (2001) é frequentemente indicada como fator de influência para estabilização microbiana, embora seu único efeito esteja relacionado a possibilidade de armazenar umidade no material. No entanto, Ponizovskaya *et al.* (2019) menciona que os fungos filamentosos podem desenvolver contato direto com a superfície das edificações, penetrando-a através de seus poros por meio de suas hifas e criando biofilme dentro do substrato, logo, a umidade e a porosidade dos materiais de construção produzem habitats adequados para esses organismos.

Quagliarini *et al.* (2019) evidenciam que a biomassa dos microrganismos se acumula ao longo e através das micro-cavidades (poros) e adere às micro-asperezas do substrato. Assim, os poros facilitam o estabelecimento de microrganismos, através da bioincrustação, e a rugosidade auxilia na propagação dos mesmos.

2.1.7 Sais minerais

Em algumas superfícies estruturais onde há presença de sais precipitados (oriundos de chuvas, águas subterrâneas, eflorescências, dentre outros), a diversidade de fungos tende a reduzir, pois o crescimento destes organismos é prejudicado pelo alto potencial osmótico do substrato. No entanto, a eflorescência salgada favorece a proliferação de microrganismos halofílicos e halotolerantes, pois possuem vantagens sobre outros organismos em ambientes com alta salinidade (PIÑAR *et al.*, 2001; KIEL; GAYLARDE, 2006; PINÑAR *et al.*, 2009).

2.1.8 Luz

Os fungos não necessitam da presença de luz para seu crescimento (SEDLBAUER, 2001). No entanto, a luz é responsável pelo crescimento de seres outros seres, como os microrganismos fototróficos, isto é, aqueles realizam a fotossíntese para crescer, como algas e cianobactérias. Assim, estes últimos podem adaptar-se a ambientes extremos devido às suas características morfológicas e fisiológicas (CRISPIM; GAYLARDE; GAYLARDE, 2003; QUAGLIARINI *et al.*, 2019), sendo os primeiros colonizadores. A colonização primária de outros microrganismos pode se tornar uma fonte de nutrientes necessários para o crescimento fúngico. Além disso, a presença de luz solar está relacionada à diminuição de umidade da superfície, à medida que a incidência de sol pode aumentar sua temperatura fazendo com que a água se evapore.

2.2 DETERIORAÇÃO DOS MATERIAIS DE CONSTRUÇÃO

A relação dos fungos com as edificações está caracterizada por processos de deterioração de materiais de construção. A biodeterioração é um dos resultados da interação do ambiente construído e a natureza. Constitui-se de transformações físicas e químicas causadas por ação das intempéries e pela ação dos microrganismos, destacando-se os fungos, cianobactérias, algas e bactérias, que podem ser transportados pela umidade, pelo vento, pelo homem, estar associado com materiais de construção e serem classificados como transitórios ou estabelecidos nas edificações (CUTLER & VILES, 2010, ISHFAQ *et al.*, 2015, VÁZQUEZ-NION *et al.*, 2016).

Segundo Petrucci (2002) a produção de metabólitos pelos microrganismos facilita o processo de deterioração dos materiais utilizados nas edificações, acelerando a colonização dos mesmos. Essa produção de metabólitos está relacionada à espécie microbiana, assim como as condições nutricionais que as mesmas se encontram.

Cabe mencionar que os microrganismos são classificados em função do seu metabolismo em autotróficos (necessitam de luz para produção de energia como as algas e cianobactérias) e heterotróficos (necessitam de compostos químicos para produção de energia, por exemplo, os fungos e as bactérias). Nesses últimos, existe um grupo de microrganismos que utiliza compostos inorgânicos para geração de energia necessária à sua sobrevivência (são os denominados quimiolitotróficos) e, se destacam como sendo grandes responsáveis pela biocorrosão dos materiais de construção. A biocorrosão é uma forma de biodeterioração quando

se trata principalmente de materiais metálicos. É provocada pela ação dos ácidos produzidos por microrganismos, como, por exemplo, algumas espécies de fungos que atuam como quelantes (isto é, aglutinadores de íons metálicos), danificando uma série de materiais de construção (DE LA TORRE *et al.*, 1993, SALVADORI & MUNICCHIA, 2016).

Os fungos são amplamente conhecidos como degradadores de celulose sendo recomendável, portanto, o tratamento da madeira empregada na construção civil a fim de dificultar a proliferação destes microrganismos. Entretanto, há indícios, segundo Macher *et al.* (2016), do seu desenvolvimento e crescimento no interior de materiais empregados nas construções sem apresentar danos visuais as mesmas.

Segundo Uemoto *et al.*, 1995 os fungos, por serem capazes de se adaptarem a condições de grandes variações de temperatura, baixa umidade e quantidade mínima de nutrientes, são relatados como grandes responsáveis pela biodeterioração, a exemplo, a desfiguração das tintas utilizadas na pintura externa e interna das construções, como a presença dos gêneros *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Penicillium* na edificação do Museu Biblioteca Servando Cabrera Moreno em Cuba (GARCIA, 2016). Shirakawa *et al.*, (2004) relataram a colonização de fungos na região de interface entre a pintura e a argamassa, ressaltando que características construtivas e a presença de água são condições favoráveis a colonização de microrganismos.

Ribas *et al.*, (2004) demonstraram a biodeterioração, dissolução de compostos de cálcio, da marquise do Teatro Nacional de Brasília por ação de ácidos produzidos por bactérias e fungos *Cladosporium sp.* Cappitelli *et al.*, (2012) mostraram, no edifício Indígena Americano do Museu Nacional de Washington (Estados Unidos) que a deterioração microbiana se deu principalmente por cianobactérias, além de algas e fungos.

A biodeterioração das edificações pode ser favorecida pela formação de biofilme, que são microrganismos, metabolicamente ativos ou não, que coexistem associados a substâncias poliméricas extracelulares (EPS) secretadas, que se espalham no substrato e servem tanto para manter os microrganismos nesta associação como para facilitar a maior aderência e incursão no substrato (GORBUSHINA 2007). Os biofilmes de superfície, segundo Gaylarde e Gaylarde (2005) incluem as algas, as bactérias e os fungos, podendo estes coexistir numa mesma associação, num mesmo biofilme.

A formação de biofilme influencia na alteração de cor, escurecimento das fachadas (GAYLARDE *et al.*, 2017), nos níveis de umidade das edificações, além de afetar a eficiência energética das edificações, uma vez que superfícies escuras absorvem mais radiação aumentando as cargas térmicas, afetando o conforto dos usuários (GAYLARDE, GAYLARDE, 2005; CUTLER; VILES, 2010). SHIRAKAWA *et al.*, (2013) demonstraram a influência da

formação do biofilme microbiano na redução da refletância na superfície de fibrocimento utilizada em telhados.

2.3 FUNGOS E O AMBIENTE HOSPITALAR

Os fungos podem ser danosos não somente às edificações e seus materiais, como também aos seus ocupantes. Diferentes espécies e gêneros fúngicos encontrados em edificações podem ser prejudiciais à saúde humana, causando desde alergias, até a doenças invasivas e infecções graves (NIKULIN, 1994; PARK; MEHRAD, 2009).

A relação entre os fungos e o ambiente hospitalar e seus usuários é ainda mais pertinente à medida que a contaminação fúngica nas superfícies em unidades de saúde é uma das causas de infecções hospitalares. Estes microrganismos podem estar não somente no ar, mas também em pessoas, equipamentos, nas superfícies internas e externas da edificação, como no interior e exterior de paredes (HENS, 1999; PESSI *et al.*, 2002, SEDLBAUER, 2002).

Os esporos de alguns gêneros fúngicos são passíveis de serem liberados e transportados a grandes distâncias como partículas transportadas pelo ar por condições atmosféricas normais, como correntes de vento, por exemplo. Assim, em unidades de saúde ou em seus arredores durante um período de construção ou manutenção, a contaminação por fungos no ambiente interno pode aumentar acentuadamente e há uma relação bem reconhecida entre surtos de infecções fúngicas filamentosas invasivas e a proximidade das atividades de construção (STREIFEL *et al.*, 1983).

Bouza *et al.* (2002) fizeram uma análise com 340 amostras de um hospital na Europa e encontraram que as contagens de colônias no ambiente interno e externo aumentaram muito durante a demolição controlada de um prédio vizinho. Yonemori *et al.* (2002) reportaram o aumento de infecções fúngicas em uma unidade de saúde no Japão no mesmo período que havia uma construção em seus arredores. Martins-Diniz *et al.* (2005) analisaram por 6 meses um hospital da cidade de Araraquara, São Paulo, e observaram um aumento considerável na contagem de *Cladophialophora spp.*, *Aspergillus spp.* e *Fusarium spp.* no período que havia uma reforma de uma unidade dentro do hospital. Raviv *et al.* (2007) identificaram, analisando arquivos de 9 anos de um hospital em Israel, que o período de maior taxa de colonização do gênero *Aspergillus* foi durante uma intervenção de construção civil. Gaio, Teixeira e Fuentesfria (2011) observaram em um hospital de Santa Catarina um aumento no nível da contagem do gênero *Fumigatus* e *Aspergillus* no ar durante uma reforma, que logo voltou aos níveis normais após o término. Garnaud *et al.* (2012) analisaram a infecção hospitalar do tipo arpergilose

invasiva por sete anos num hospital universitário na França e, de todos os casos encontrados, 70% ocorreu enquanto havia alguma atividade construtiva no ambiente do paciente ou nos arredores. Pokala *et al.* (2014) analisaram crianças que realizaram quimioterapia para leucemia aguda nos Estados Unidos por cerca de quatro anos, e encontraram uma forte relação entre doenças causadas por fungos e uma obra de escavação num lugar adjacente à unidade de saúde.

A maioria das infecções fúngicas oportunistas relatadas são a candidíase, aspergilose, criptococose, mucormicose (zigomicose) (WANKE; LAZÉRA; NUCCI, 2000) e pneumocistose. Segundo Brown *et al.* (2012), estima-se que mais de 90% de todas as mortes relacionadas a fungos relatadas resultam dessas doenças.

A Tabela 3 mostra uma adaptação do trabalho de Brown *et al.* (2012) apresentando as 5 principais doenças invasivas fúngicas, as quais o controle no ambiente hospitalar deve ser estritamente controlado.

Tabela 3 – As 5 doenças invasivas fúngicas mais comuns.

Doença fúngica invasiva	Quantidade de infecções estimada (por ano)	Taxa de mortalidade (%)
Aspergilose	>200.000	30 - 95
Candidíase	>400.000	46 - 75
Criptococose	>1.000.000	20 - 70
Murcomicose (Zigomicose)	>10.000	30 - 90
Pneumocistose	>400.000	20 - 80

Fonte: Adaptado de Brown *et al.* (2012).

No ambiente nosocomial, é importante que todos os procedimentos sigam as diretrizes publicadas pelos Centros de Controle de Doenças (*Centers for Disease Control, CDC*) ou de autoridades locais, que no caso do Brasil são resoluções da ANVISA. Os grupos de especialistas enfatizam a necessidade de um planejamento coordenado precoce e sustentado entre equipes de controle de infecção, construção, engenharia e outras equipes auxiliares, e a necessidade de definir claramente as responsabilidades de cada serviço de suporte. Em uma era de tecnologias que avançam rapidamente, os centros de assistência médica são obrigados a manter-se a par das melhores práticas atuais e orçar adequadamente os custos previstos relacionados à vedação ambiental, amostragem e filtragem de ar. Uma análise de risco deve ser realizada durante a fase de pré-planejamento, como parte de um programa robusto de gerenciamento de riscos. Assim, deve-se identificar a localização de pacientes de alto risco no local; identificar os tipos de sistema de ventilação e seu potencial impacto; determinar os requisitos, metodologia e

frequência de monitoramento do ar; e coletar amostras de ar para identificar possíveis contaminantes e suas localizações (CHANG *et al.*, 2018).

No Brasil, a ANVISA publicou a resolução RDC nº36 (BRASIL, 2013) que tem por objetivo apresentar diretrizes para a promoção da segurança do paciente e a melhoria da qualidade nos serviços de saúde. O documento propõe que a unidade de serviço de saúde deva criar o Núcleo de Segurança do Paciente (NSP), que é responsável por executar as ações do Plano de Segurança do Paciente em Serviços de Saúde (PSP). Além deste documento, há também a resolução RDC nº 50 de 2002 (BRASIL, 2002) que apresenta diretrizes para elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde, adequando-se às novas tecnologias na área da saúde; e também, preliminares para nortear construções, reparos, ampliações e funcionamento de Estabelecimentos Assistenciais de Saúde.

3 METODOLOGIA

Neste capítulo é apresentado o programa experimental deste estudo, que consiste na caracterização do estudo de caso; na apresentação da sistemática de coleta e análise microbiológica; na avaliação dos condicionantes físicos e ambientais; e por fim, na previsão de crescimento fúngico em edificações através de modelos numéricos. O cronograma do programa de levantamento experimental encontra-se no APÊNDICE A.

3.1 ESTUDO DE CASO

Conforme mencionado, este trabalho objetiva sistematizar um procedimento para coleta, análise e investigação de contaminação dos materiais de construção por fungos e, para isso adotou-se um estudo de caso em ambiente hospitalar por ser um tipo de construção onde os usuários são mais susceptíveis aos efeitos maléficos de sua presença. Para Gil (2012), este tipo de método é uma análise empírica que investiga um fenômeno dentro de sua realidade e explora contextos cujos limites não estão definidos, descrevendo a situação e explicando as variáveis causais.

O estudo de caso do presente trabalho ocorreu no laboratório de patologia, do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (HU/UFJF), mais especificamente a unidade do bairro Santa Catarina, localizado na cidade Juiz de Fora, na região da zona da mata do estado de Minas Gerais. A unidade hospitalar funciona desde 1970 em um espaço onde já funcionava a Faculdade de Medicina desde 1952.

O hospital tem uma grande importância regional, já que fornece serviços variados, como atendimentos médicos em várias especialidades e algumas cirurgias, além de oferecer serviços de assistência social, fisioterapia, enfermagem, endoscopia, transplante, dentre outros. O hospital é vinculado à Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (Ebserh), e é exclusivo para pacientes do Sistema Único de Saúde (SUS).

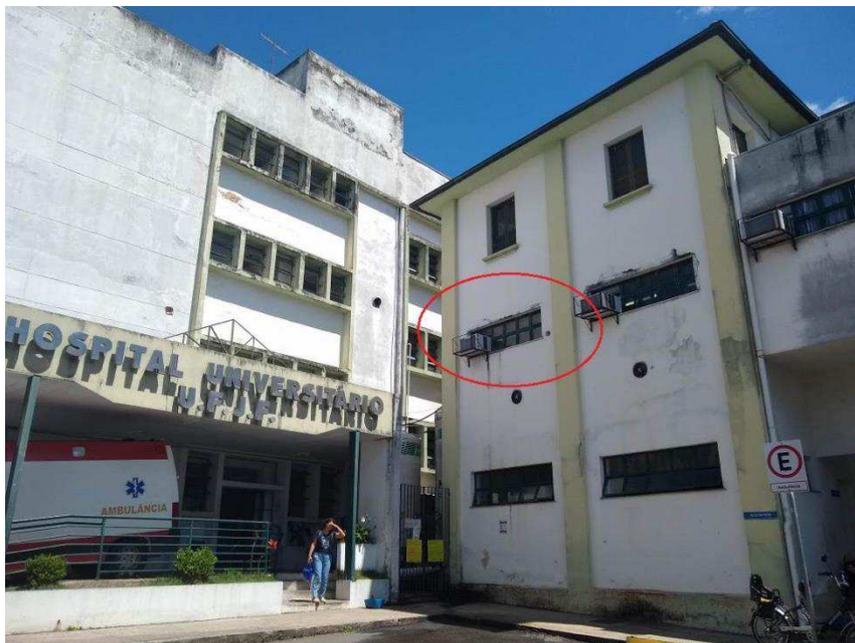
O HU/UFJF Unidade Santa Catarina é formado por uma edificação de três a quatro pavimentos (Fotografia 1 e Fotografia 2). Sua estrutura na parte mais antiga (construída antes de 1952) é de alvenaria estrutural com bloco de alvenaria maciço e vazado, e na parte mais atual, concreto armado com bloco de concreto vazado, ambos com revestimento argamassado e em alguns locais, cerâmico (azulejo).

Fotografia 1 – Hospital Universitário da UFJF.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Fotografia 2 – Fotografia externa da sala onde se realizou o estudo.

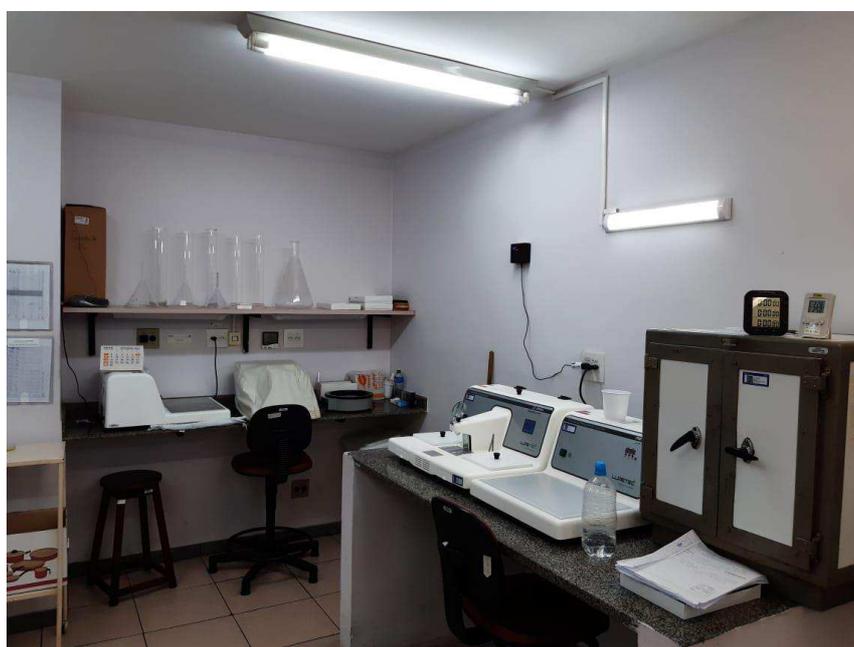


Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

A sala na qual foram realizadas as coletas consiste no laboratório de patologia, o qual possui uma grande circulação de funcionários (Fotografia 3). Salienta-se que o ideal seria realizar as análises em ambientes com controle microbiológico maior, como em centros cirúrgicos, por exemplo, no entanto, devido à alguns ensaios que possivelmente lançariam

partículas sólidas e esporos fúngicos no ar, e tendo visto que isto pode vir a ser um dos condicionantes de uma infecção hospitalar, optou-se por fazer em uma área de menor risco aos pacientes. De qualquer forma, é esperado uma assepsia controlada no local, uma vez que há um grande fluxo de funcionários, que podem vir a ser vetores de contaminações. Além disso, estava programada pela instituição uma reforma do cômodo após a conclusão do estudo, e como foi visto no Capítulo 2, as atividades construtivas em arredores de áreas com pacientes de alto risco são responsáveis por aumentar a taxa de mortalidade causada por doenças invasivas fúngicas.

Fotografia 3 – Laboratório de patologia do HU/UFJF.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

No que se refere ao cômodo de coleta de amostras, destaca-se:

- a) a fachada voltada para o norte e recebendo a incidência adequada de radiação solar;
- b) o ambiente interno é climatizado, reduzindo então a circulação do ar, mas diminuindo a umidade e temperatura interna;
- c) as paredes são argamassadas e pintadas, e a alvenaria externa é constituída por bloco cerâmico maciço com idade superior a 50 anos;
- d) ocorreram alguns serviços de manutenção e adequações (reformas) para atender as demandas atuais, seja pela equipe de profissionais, seja pela aquisição de novos e modernos equipamentos; nos últimos 3 anos, todas as intervenções feitas no setor foram renovações da pintura, ocorrendo em locais diferentes, a saber:
 - 20/12/2019: pintura da sala de microscopia (posterior à coleta microbiológica);

- 25/01/2019: pintura da sala técnica;
- 09/11/2018: pintura das paredes externas da patologia;
- 07/08/2018: pintura da sala técnica;
- 17/07/2018: pintura do banheiro feminino da patologia;
- 08/05/2018: pintura do teto da sala de microscopia;
- 05/04/2017: pintura da área técnica e no quarto dos residentes.

O Setor de Vigilância em Saúde e Segurança do Paciente do HU/UFJF efetua um acompanhamento das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) causadas por bactérias e fungos, no entanto, este último se limitando apenas ao gênero *Candida*. No ano de 2019 foram apenas 4 casos, sendo eles:

- a) maio: 1 na Medicina de Mulheres, destacando-se como o mês mais crítico quanto a infecções hospitalares dos últimos 3 anos (não só as fúngicas); a densidade de infecções superou o máximo permitido, que é de 6%, alcançando 6,2% (Tabela 4);
- b) junho: 1 na Cirúrgica de Mulheres e 1 na Unidade de Terapia Intensiva;
- c) novembro: 1 na Cirúrgica de Mulheres.

Tabela 4 – Densidade de Infecções do HU UFJF.

Mês/Ano	Meta (%)	Densidade de Infecções (%)
mai/18	6	4,6
ago/18	6	3,9
set/18	6	3,8
out/18	6	5,1
nov/18	6	3,0
dez/18	6	3,4
mai/19	6	6,2
nov/19	6	3,3

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

3.2 SISTEMATIZAÇÃO PARA ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Esta seção apresenta a metodologia de coleta e análises microbiológica de amostras.

3.2.1 Amostragem

Segundo a resolução RE nº 9 da ANVISA (BRASIL, 2003), o número mínimo de pontos para análises microbiológicas a serem considerados para salas de até 1000 m² é 1. Já a Nota Técnica Portuguesa NT-SCE-02 (2006) utiliza a equação: $N = 0,15 \times \text{Área}^{1/2}$, que para uma área de aproximadamente 20 m² também resulta em 1 ponto. Assim, optou-se por escolher um número superior às duas normatizações, sendo um total de 3 pontos.

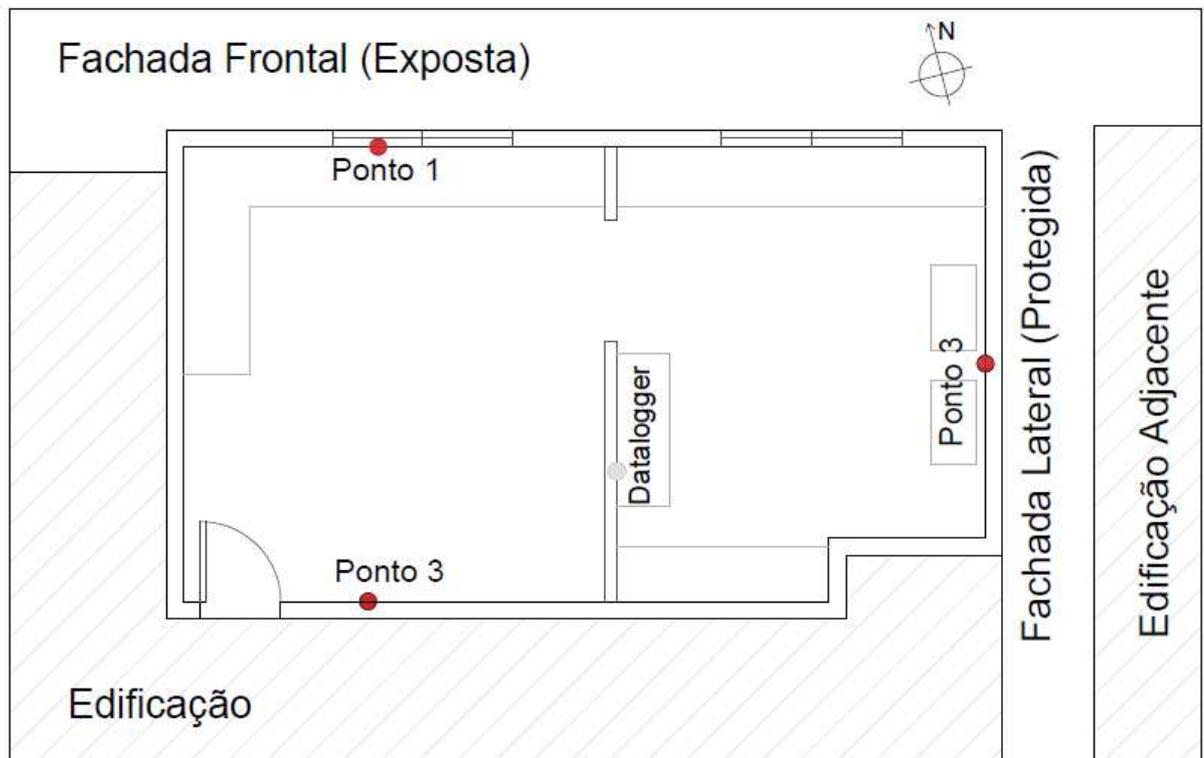
Para diversificar as amostras e coletar o máximo de gêneros fúngicos distintos, optou-se por escolher pontos em paredes com diferentes incidência de radiação solar, bem como em alturas diferentes (localização diferente), uma vez que os pontos mais baixos podem conter mais umidade decorrente da diferença de umidade interna entre teto-piso e a presença do ar condicionado.

Nesse contexto, as amostras foram coletadas nos elementos verticais de vedação (paredes) nos seguintes pontos (Figura 1):

- a) ponto 1 – localizado embaixo da janela, parede divisória do ambiente externo/interno diretamente exposta as alterações climáticas (sol, chuva, etc), altura em relação ao piso de 0,5 metros, vedação da alvenaria era bloco cerâmico maciço;
- b) ponto 2 – parede divisória com um corretor ambiente externo e protegida do sol e da chuva, amostra coletada a uma altura de 1,5 m, vedação de alvenaria de bloco cerâmico vazado;
- c) ponto 3 – localizado na divisória entre ambiente interno e protegida; amostra coletada uma altura igual a 1,0 m, vedação de alvenaria de bloco cerâmico vazado.

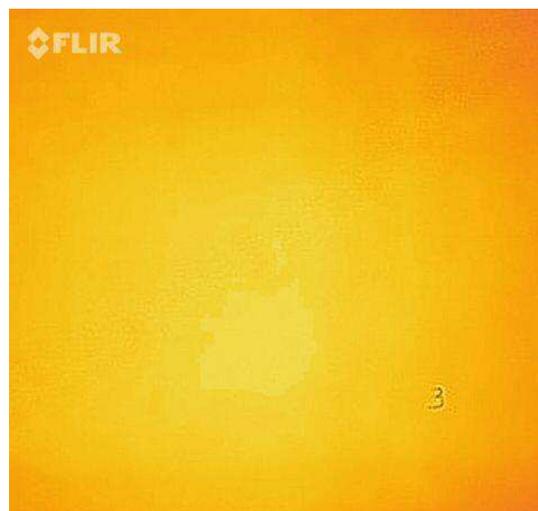
Os locais onde foram realizadas as coletas foram escolhidos após uma análise pelo emprego da câmara termográfica Flir One, que auxiliou a identificação da abrangência de uma possível infiltração. Os termogramas possibilitaram identificar a região onde não há presença significativa de umidade possibilitando, portanto, delimitar a área de cenário favorável ao crescimento fúngico. A Figura 2 apresenta o termograma do ponto 3 onde não há um um gradiente de temperatura, o que indica a inexistência de infiltração de água.

Figura 1 – Demarcação de pontos para coleta.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Figura 2 – Termografia para identificação de possíveis infiltrações pontuais.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Para validar que os pontos escolhidos apresentavam condições diferentes de temperatura e umidade relativa, as condicionantes ambientais do substrato (parede de alvenaria) foram levantadas utilizando um aparelho termohigrômetro. Para isso, foi utilizado um sensor de temperatura e umidade relativa de concretos e argamassas, Hygropin (marca Proceq),

padronizado segundo a ASTM F2170 (Fotografia 4). Assim, os três locais escolhidos foram perfurados em cerca de 3 centímetros e um sensor de temperatura e umidade relativa foi inserido no interior dos orifícios. A análise destas condicionantes se deu por 48 horas e os valores foram levantados 5 vezes.

Fotografia 4 – Aparelho termohigrômetro para argamassas Hygropin.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

3.2.2 Amostragem Microbiológica do Substrato

Conforme mencionado, os substratos investigados são constituídos por bloco cerâmico maciço (ponto 1) e cerâmico vazado (pontos 2 e 3), revestidos com argamassa de cimento e areia e, finalmente, recebem uma película de tinta em sua superfície. Salienta-se que neste trabalho, a identificação gêneros de fungos foram efetuadas nas três camadas da envoltória da edificação: a camada de tinta (exposta ao ambiente), a camada de revestimento argamassado e a camada de bloco de alvenaria; a fim de se avaliar qual a profundidade de possível colonização dos fungos, considerando uma profundidade máxima igual a 6,5 centímetros, sendo 2 do revestimento (película de tinta e argamassa) e 4,5 centímetros referente a metade da largura do tijolo/ lajota.

3.2.2.1 Camada de tinta

Na primeira camada de revestimento, isto é, a tinta, foi utilizado o método de abrasão com *swab* estéril umedecido com água destilada, realizando a coleta em triplicatas (Fotografia 5). Logo após, utilizou-se uma faca esterilizada para escarificar a superfície de tinta e o material particulado foi coletado em duplicatas.

Os três *swabs* foram então inoculados em placas de Petri contendo o meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose (SB) (Kasvi/UE) suplementado com 200 µg/mL de cloranfenicol (Sigma/EUA) através da abrasão por esgotamento, isto é, friccionou o *swab* por toda área da placa. O meio de cultura foi suplementado com cloranfenicol, antibiótico com ação antibacteriana, para que fosse possível o crescimento apenas de fungos e não de bactérias.

Para o material particulado, foi coletado 1 grama da amostra e adicionado em 10 mL de água destilada esterilizada. Desta solução, foi retirado 1 mL e novamente diluído em mais 9 mL de água destilada esterilizada, totalizando uma diluição, isto é, 10^{-1} . Dessa diluição de 10^{-1} , retirou-se 100 µL e aplicou-se na placa de Petri utilizando uma alça de Drigalski. Todo o processo foi feito em duplicatas no Laboratório de Qualidade Ambiental (LAQUA) da Universidade Federal de Juiz de Fora.

Fotografia 5 – Coleta microbiológica da camada de tinta.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

3.2.2.2 Camada de argamassa

Para a coleta de possíveis fungos na camada de argamassa, utilizou-se uma adaptação do método proposto por Jasalavich, Ostrofsky e Jellison (2000) e Guglielmo (2010) que é utilizado em diversos estudos para analisar os microrganismos presentes no interior de madeiras nas edificações e, como a argamassa é um material poroso, apesar de inorgânico, apresenta-se como sendo adequado para verificação da existência de microrganismos em seus poros.

Foi realizado um furo-teste na região próxima da coleta, para que fosse possível encontrar a espessura do revestimento de argamassa, já que no estudo de caso foi constatado uma variação destas dimensões. Posteriormente, fez-se a raspagem da tinta utilizando uma talhadeira e deixou-se exposto o revestimento de argamassa, o qual teve sua superfície borrifada com álcool 70% para evitar contaminação cruzada do revestimento de tinta. Logo após, utilizou-se uma broca de 1/8 polegadas para perfurar a parede perpendicularmente à face do revestimento em cerca de 80% de sua espessura, para evitar o risco de coleta do revestimento subsequente. No orifício foi introduzido um *swab* umidificado com água destilada (Fotografia 6), o qual foi inoculado numa placa contendo meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose (SB) (Kasvi/UE) suplementado com 200 µg/mL de cloranfenicol (Sigma/EUA) por esgotamento. Além disso, o pó produzido pelo furo foi levado ao laboratório, utilizando 1g para uma diluição de 10^{-1} para inocular uma placa de Petri contendo SB suplementado com cloranfenicol. Todo esse processo foi feito em duplicadas, totalizando quatro amostras, dois *swabs* e duas amostras de material particulado.

Fotografia 6 – Coleta microbiológica da camada de argamassa.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

3.2.2.3 Camada de bloco

Para a camada de alvenaria, constituída pelos tijolos ou blocos cerâmicos o procedimento também seguiu a adaptação proposta por Jasalavich, Ostrofsky e Jellison (2000) e Guglielmo (2010). Primeiramente, foi necessário expor a camada de bloco removendo as camadas subsequentes. Assim, foi removida a camada de argamassa a um raio de 5 cm do ponto de origem com ajuda de uma serra copo esterilizada, para que pudesse expor o elemento cerâmico. A superfície foi borrifada com álcool 70% para evitar contaminação cruzada do revestimento anterior. Logo após, utilizou-se uma broca de 1/8 polegadas para perfurar a parede perpendicularmente à face do revestimento em cerca de 3 cm de profundidade (Fotografia 7). Diferentemente da camada de argamassa, esta camada não havia tantas restrições da profundidade de furo, já que possui uma espessura maior. Por fim, foi introduzido um *swab* umidificado com água destilada no orifício para coleta microbiológica. Além disso, foram coletados o material particulado dos furos. A amostra também foi feita em duplicadas para ambos os casos, totalizando duas amostras de *swab* e duas de material particulado.

Fotografia 7 – Coleta microbiológica da camada de bloco de vedação.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Durante a coleta, algumas precauções adicionais foram adotadas para que se evitasse a contaminação das amostras:

- a) todos os operadores utilizaram luvas esterilizadas com álcool 70%;
- b) antes e depois de tocar qualquer objeto e superfície as luvas eram novamente borrifadas com álcool 70%;
- c) para a raspagem, a talhadeira e a faca foram embebidas em álcool 70% e flambada logo após;
- d) as brocas utilizadas foram autoclavadas e armazenadas em envelope estéril;
- e) o material particulado coletado foi inserido em sacos plásticos que foram previamente autoclavados e envelopados;
- f) cada coleta utilizou-se uma nova broca e um novo saco plástico estéril para se evitar contaminação cruzada;
- g) a serra copo foi reutilizada visto que foi utilizada apenas para remover a camada de argamassa, e não para fazer a coleta;
- h) a furadeira, que não entra em contato com as amostras, também foi limpa superficialmente com álcool;
- i) todas as amostras coletadas foram vedadas e levadas imediatamente para laboratório para evitar a secagem de possíveis esporos.

Salienta-se que as amostras coletadas na sala de estudo foram identificadas da seguinte forma:

- a) ponto de coleta (1 ou 2 ou 3);
- b) camada do elemento de vedação vertical adotando-se:
 - “A” para a camada de tinta;
 - “B” para a camada de argamassa;
 - “C” para a camada de alvenaria;
- c) o número que representa as colônias de fungos detectadas adotando numeração romana (I, II, III, etc.).

Nesse contexto, exemplifica-se, uma identificação 2BV como sendo: correspondente a do ponto 2 (da sala de estudo, vide **Erro! Fonte de referência não encontrada.**), do material e extraído na camada de argamassa de revestimento, sendo a 5ª colônia.

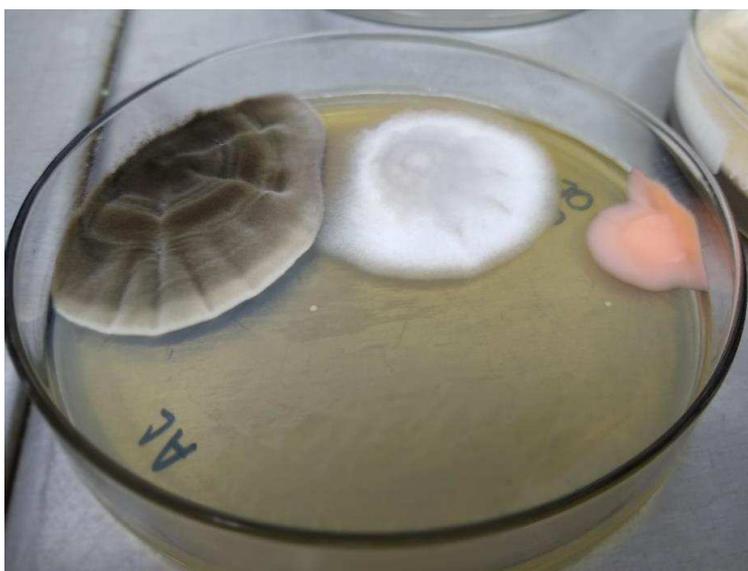
Esta classificação possibilitou identificar a origem do local de coleta das amostras fúngicas.

3.2.3 Inoculação de Placas e Identificação de Gêneros

Conforme mencionado as amostras foram inoculadas em placas de Petri contendo o meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose (SB) (Kasvi/UE) suplementado com 200 µg/mL de cloranfenicol (Sigma/EUA), totalizando 40 placas, sendo em cada um dos três pontos: 5 referentes ao revestimento de tinta, 4 referentes à argamassa e 4 na camada de alvenaria (bloco de vedação); além da placa de controle. O meio de cultura foi suplementado com cloranfenicol, antibiótico com ação antibacteriana, para que fosse possível o crescimento apenas de fungos e não de bactérias. A composição do meio de cultura para cada litro de água destilada consistia em: dextrose 40 g/l; digestão péptica de tecido animal 5 g/l, digestão pancreática de caseína 5 g/l, agar 15,0 g/l, cloranfenicol 0,2 g/l.

As placas inoculadas foram armazenadas em estufa num intervalo de 30 dias à temperatura de 25° graus, favorecendo, assim, o crescimento do número de colônias. Após retirar da estufa, as placas foram fotografadas e as colônias foram então pontuadas de acordo com características morfológicas (vide Fotografia 8). Cada colônia distinta de cada placa foi então repicada e purificada para uma nova placa de Petri contendo meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose (SB) (Kasvi/UE), previamente esterilizada. Para as amostras onde não ocorreu a formação de colônia, efetuou-se o descarte. As placas purificadas foram novamente colocadas em estufa a 25°C até a formação da colônia pura.

Fotografia 8 – Placa com formação de três tipos de colônia.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Os isolados purificados foram fotografados em suas respectivas placas na frente e no verso e agrupados segundo algumas características macromorfológicas como textura da superfície da colônia, cor, aspecto da borda e o tempo e intensidade do crescimento. Posteriormente, os grupos classificados de acordo com as características descritas tiveram seu gênero identificados conforme apresentado no APÊNDICE B.

3.2.4 Susceptibilidade de Crescimento Fúngico em Materiais de Construção.

Salienta-se que para as colônias puras avaliou-se sua capacidade de crescimento em ambientes como os materiais de construção, ou seja, que possuem reduzida umidade relativa e alta concentração de sais; sendo realizado o ensaio de xerofilia.

As colônias puras foram novamente repicadas em uma placa de Petri, desta vez contendo o meio de cultura Agar Dicloran Glicerol (DG), que é um meio utilizado para testar o crescimento de fungos xerófilos, isto é, fungos capazes de crescer em ambientes com baixa umidade relativa e alta concentração de sais. A redução de atividade de água é alcançada neste meio com a introdução do glicerol. A composição do meio de cultura para cada litro de água destilada utilizado foi composta por: peptona 5 g/l; glicose 10 g/l; fosfato monopotássico 1 g/l; sulfato de magnésio 0,5 g/l; sulfato de zinco 0,01 g/l; sulfato de cobre 0,005 g/l; dicloran 0,002 g/l; cloranfenicol 0,05 g/l; clortetraciclina 0,05 g/l; ágar 15 g/l.

Para o teste foram utilizadas 4 concentrações de glicerol, sendo: 18 % (DG18), 36% (DG36), 54% (DG54) e 72% (DG72); a concentração mais comum do ensaio é a de 18% (HOCKING; PITT, 1980; BEUCHAT; HWANG, 1996; DEAK *et al.*, 2001) mas optou-se por avaliar, além disso, múltiplos desta concentração.

As amostras foram então inseridas em estufa a 28 °C, sendo analisado após 30 dias de idade, a existência de fungos. Em resumo, avaliou se o gênero fúngico é capaz de se proliferar neste meio e em quais concentrações. A mensuração da propagação de seu crescimento foi feita encontrando-se a área da formação da colônia (halo fúngico), sendo dividida pelo diâmetro total da placa (igual a 90 mm).

Posteriormente, foi possível calcular o crescimento médio relativo, o qual considerou a porcentagem de crescimento das quatro concentrações com pesos (contribuições) diferentes em cada uma delas: a concentração mais baixa (DG18) com peso de 18 e a mais alta (DG72) com peso de 72, conforme a Equação 1. Este valor foi útil para fazer análises comparativas.

$$\text{Cres. Médio Relativo} = \frac{18 \times (\text{Cresc. à } 18\%) + 36 \times (\text{Cresc. à } 36\%) + 54 \times (\text{Cresc. à } 54\%) + 72 \times (\text{Cresc. à } 72\%)}{18 + 36 + 54 + 72} \quad (1)$$

3.2.5 Capacidade Infectante Fúngica em Temperatura Corporal

Uma das formas de avaliar se determinada espécie ou gênero fúngico é apto a causar infecções em humanos (e, conseqüentemente infecções hospitalares) é através da avaliação do seu crescimento sob a temperatura do corpo humano.

Assim, após cerca de 25 dias de estufa, as colônias previamente purificadas foram novamente repicadas e inoculadas em placas inertes contendo Sabouraud Dextrose (SB) (Kasvi/UE) da seguinte maneira: cada colônia foi repicada em duas placas distintas, uma que permaneceu a 25°C e outra a 37° C. Assim, metade das placas foram inseridas novamente em estufa a 25 °C por 7 dias e a outra metade, a 37° C.

Depois do período de análise de temperatura corporal, as placas foram fotografadas e a área de abrangência da formação de colônia foi contabilizada. A porcentagem de crescimento do gênero fúngico foi calculando utilizando a relação da área de formação da colônia, pela área da placa ($\% \text{Crescimento} = \frac{\text{Área da colônia}}{\text{Área Total da Placa}}$).

Cabe ressaltar que o crescimento na temperatura corporal não é uma propriedade suficiente para concluir que o fungo é patogênico em humanos, uma vez que sua estabilização em seres vivos depende de outros fatores como umidade, nutrientes, etc. No entanto, esta propriedade já pode dar indício de ser um agente causador de infecções.

3.2.6 Matriz de Risco: Infecções e Materiais de Construção

Efetou-se a análise de risco dos gêneros fúngicos crescerem no objeto de estudo (materiais de construção) e concomitantemente, no corpo humano através de um coeficiente por uma matriz de risco. Salienta-se que o valor do coeficiente de risco considera dois fatores, de mesma equivalência:

- a) a média relativa de crescimento fúngico em meio xerófilo como os materiais de construção (apresentado em 3.2.4);
- b) o crescimento na temperatura corporal (apresentado em 3.2.5).

Nas análises efetuadas com os resultados obtidos adotou-se, de forma mais didática, uma classificação qualitativa, conforme apresentado na Tabela 5. Para delimitação das faixas de classificação, utilizou-se a diferença entre o maior e menor coeficiente encontrado no estudo de caso, e depois dividiu-a em 5 partes.

Tabela 5 – Classificação qualitativa da matriz de riscos.

1	2	3	4	5
ELEVADO	ALTO	INTERMEDIÁRIO	BAIXO	INSIGNIFICANTE

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

3.3 CONDICIONANTES FÍSICOS

Para avaliar a possibilidade de crescimento fúngico do estudo de caso abordado, algumas condicionantes físicas e ambientais foram levantadas. É possível estimar, através de modelos de previsão de crescimento fúngico, a susceptibilidade do ambiente em proliferar estes microrganismos. Assim, avaliou-se as condicionantes do ambiente interno e externo bem como, do substrato em estudo, elementos de vedação vertical (paredes).

3.3.1 Condicionantes Físicos do Ambiente Interno

Para análise dos condicionantes do ambiente interior, foi seguida a metodologia proposta pela resolução RE nº 9 da ANVISA (BRASIL, 2003). Para obtenção de dados de temperatura e umidade relativa do ar, foi utilizado um aparelho termo higrômetro com data logger, que analisa as condicionantes do ar através de um sensor capacitivo (vide Fotografia 9). Tal procedimento possibilita correlacionar os modelos de previsão apresentados nesse trabalho no Capítulo 2.

Fotografia 9 – Aparelho termo higrômetro com data logger.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

A RE nº 9 da ANVISA (BRASIL, 2003) recomenda um ponto de análise para ambientes de até 1000 m² e assim foi seguido. As variantes foram coletadas à 1,5 metros de altura do piso da região ocupada com aferições a cada uma hora por um período dos dias 11/09/2019 a 11/02/2020, sendo 5 meses ou 3696 aferições.

3.3.2 Condicionantes Físicos do Ambiente Externo

Para a análise das condicionantes de temperatura e umidade relativa do ar do ambiente externo, foram obtidos dados junto ao Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, através do Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa (INMET, 2007). Foram registrados dados horários de temperatura e umidade relativa do ar instáveis do dia 11/09/2019 a 11/02/2020.

3.3.3 Condicionantes Físicos do Elemento de Vedação (Transferência de Calor)

Para uma melhor análise das condicionantes de temperatura e umidade relativa das camadas internas da parede foi utilizado um método matemático proposto pela norma brasileira NBR 15220-2 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2005) considerando um regime de transferência de calor estacionário entre o ambiente interno e externo. Sendo assim, torna-se necessário identificar o material de construção empregado na confecção da alvenaria: alvenaria de bloco cerâmico ou bloco de concreto, bem como o número de furos dos mesmos. Além disso, com a ajuda de uma furadeira, encontrou-se a espessura da argamassa, e através da análise de relatórios de obras do estudo de caso, as dimensões e características do bloco cerâmico da alvenaria analisada.

Salienta-se que esse procedimento foi realizado para o ponto de coleta 1 considerando sua localização (parede que separa o ambiente interno do externo) que, devido ao gradiente de temperatura possibilita a ocorrência de fenômenos de condensação que contribuem para o aumento da umidade local.

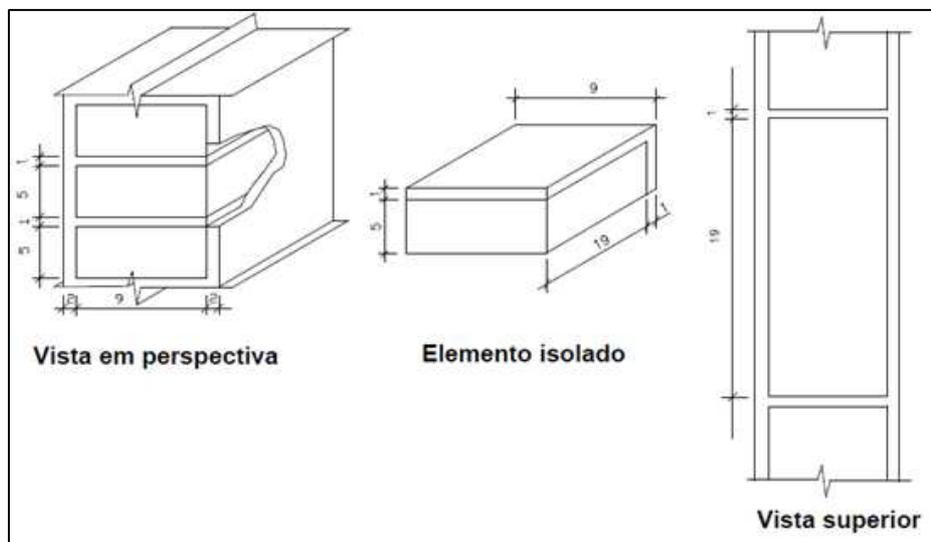
Para o cálculo (vide ANEXO A), alguns valores segundo a normatização NBR 15220-2 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2005) foram adotados:

- a) densidade aparente da camada de argamassa de 2000 kg/m²;
- b) densidade aparente da camada de tijolo de 1600 kg/m²;
- c) direção do fluxo de calor na direção horizontal;

- d) superfície altamente emissiva;
- e) resistência do ar (R_{ar}) de $0,16 \text{ m}^2 \cdot \text{K}/\text{W}$;
- f) resistência térmica da superfície externa de $0,13 \text{ m}^2 \cdot \text{K}/\text{W}$;
- g) resistência térmica da superfície interna de $0,04 \text{ m}^2 \cdot \text{K}/\text{W}$.

Por meio de relatórios de obra, identificou-se que a parede foi confeccionada empregando-se blocos com dimensões de $5,0 \times 9,0 \times 19,0 \text{ cm}$, a argamassa de assentamento industrializada (colante) com uma espessura aproximada de 1 cm , argamassa de revestimento (massa única) com espessura aproximada de 2 cm , conforme ilustrado na Figura 3.

Figura 3 – Dimensões da alvenaria do estudo de caso para a parede externa.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Para a umidade relativa, considerando que os materiais que compõe o elemento de vedação vertical são porosos e conseqüente há a passagem de vapor de água, utilizou-se a média do ambiente interior com o do exterior. Para validar este cálculo e comprovar esta transmissão de umidade no elemento, fez-se uma análise de correlação da umidade relativa do ar interior e do ar exterior segundo metodologia proposta em 3.4.4.

3.3.4 Análise estatística de condicionantes ambientais

Para avaliar as aferições realizadas nos ambientes e do substrato, e entender como as variações de temperatura e umidade relativa acontecem, utilizou-se algumas ferramentas estatísticas através do software Minitab (MINITAB INC, 2010), no qual foi possível encontrar as seguintes informações descritivas: média, mediana, máximo, mínimo, desvio padrão,

primeiro e terceiro quartil, bem como a variância das amostras, ou seja, a medida de dispersão que apresenta o quão distante cada valor desta população está da média. Quanto maior for a variância e desvio padrão, maior será a amplitude da temperatura e umidade relativa diárias; e quanto maior a amplitude térmica, maiores serão os efeitos de condensação nos elementos de vedação vertical, contribuindo para um maior crescimento fúngico nas superfícies construtivas.

Além disso, fez-se uma correlação de momento de produto de Pearson, que avalia a relação linear entre duas variáveis, para saber se elas têm forte ou fraca correlação. Esta análise foi feita para as temperaturas internas, externas e do substrato, e principalmente, para a umidade. Assim, a análise de correlação de variáveis teve o objetivo de verificar se a temperatura e umidade relativa internas sofriam muita influência do ambiente externo, ou se o isolamento e climatização do ambiente interno amorteciam as oscilações destas condicionantes ambientais. Diante disso, se a umidade do ar exterior possuísse influência (relação) nos níveis de UR interiores, isso significaria que a troca de umidade acontecia também nos elementos de vedação vertical, sendo possível considerá-lo com uma umidade relativa intermediária entre os dois ambientes, conforme considerado em 3.3.3.

O resultado desta análise é o coeficiente de Pearson (r) que mostra a relação entre duas variáveis sendo, segundo Hopkins (2000):

- a) 0,00 a 0,19 = correlação muito fraca;
- b) 0,20 a 0,39 = correlação fraca;
- c) 0,40 a 0,69 = correlação moderada;
- d) 0,70 a 0,89 = correlação forte;
- e) 0,90 a 1,00 = correlação muito forte.

3.3.5 Análise de pH

Para análise do pH utilizou-se 1 grama do pó produzido pela perfuração das camadas de argamassa e dos blocos cerâmicos com a broca de 8 mm (5/16 pol.), os quais foram feitos nos mesmos locais de coleta microbiológica. O material foi então diluído em 100 mL de água destilada, homogeneizado, para que pudesse então ser feita a leitura do pH utilizando o equipamento pHmetro do laboratório LAQUA logo após a coleta das amostras.

3.4 MODELOS DE PREVISÃO

Os dados horários dos condicionantes físicos coletados através da metodologia proposta em 3.3 foram tratados e inseridos em 7 (sete) modelos de previsão, apresentados neste capítulo. Sabe-se que estes modelos são passíveis de serem utilizados para a previsão ou início de crescimento de fungos em edificações, podendo ser desde diagramas mais simples de temperatura-umidade, como as isopletas, até modelos mais complexos que utilizam modelações estatísticas em programas computacionais.

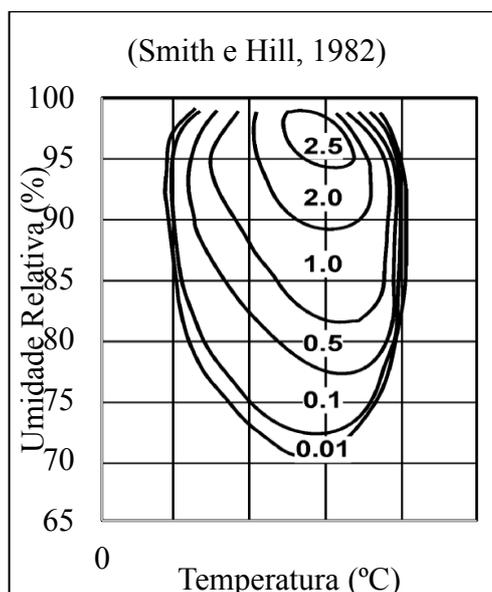
3.4.1 Isopletas

Os modelos de previsão de crescimento fúngico do tipo isopletas constituem-se de diagramas de temperatura e umidade relativa. Neste estudo iremos abordar três: Smith e Hill (1982), Modelo ESP-r (1999) e Sedlbauer (2001).

3.4.1.1 Smith e Hill (1982)

Smith e Hill (1982) criaram diagramas para temperatura e umidade de germinação para as espécies do gênero *Aspergillus*. Com base no estudo de Ayerst (1969), foi possível gerar diagramas de isopletas que mostram o crescimento fúngico em mm/dia (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Isopleta de Smith e Hill (1982).



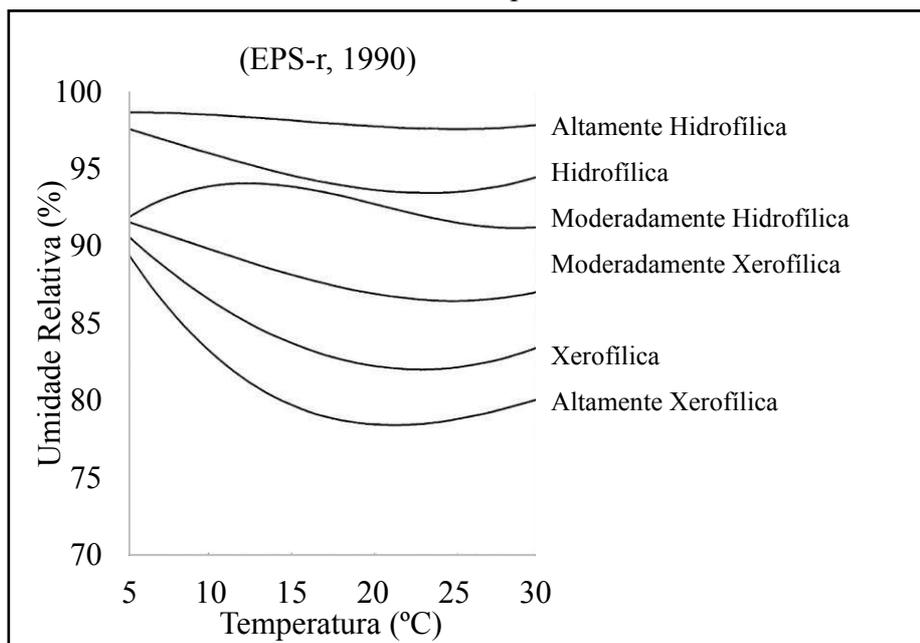
Fonte: adaptado de Smith e Hill (1982).

3.4.1.2 Modelo ESP-r (1999)

Baseando-se numa extensa revisão bibliográfica, Clarke *et al.* (1999) encontraram os limites de crescimentos para seis categorias de fungos em materiais de construção, em termos da combinação mínima de temperatura e umidade relativa do ar (Gráfico 2). As categorias são:

- a) altamente xerofílico: *Aspergillus repens*;
- b) xerófilo: *A. versicolor*;
- c) moderadamente xerofílico: *Penicillium chrysogenum*;
- d) moderadamente hidrofílico: *Cladosporium sphaerospermum*;
- e) hidrofílico: *Cladosporium Ulocladium*;
- f) altamente hidrofílico: *Candida*.

Gráfico 2 – Isopleta EPS-r.



Fonte: adaptado Clarke *et al.* (1999).

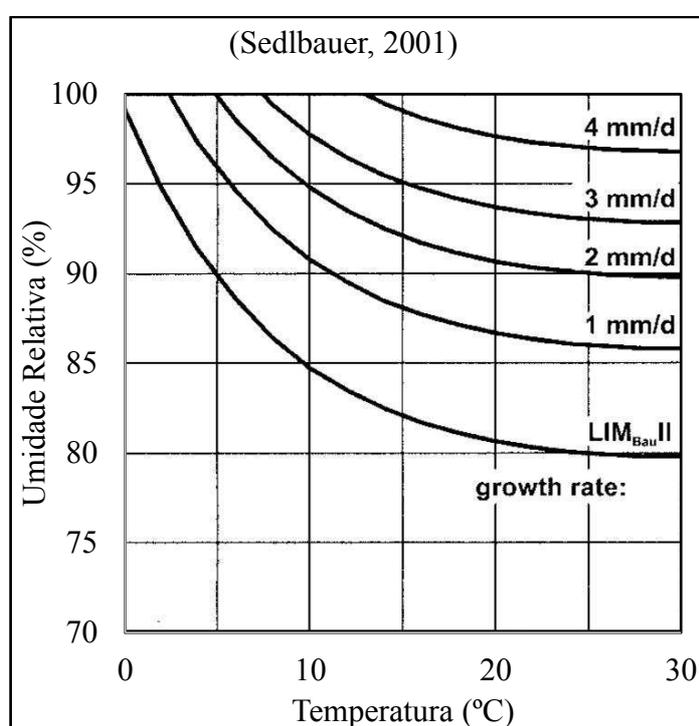
3.4.1.3 Sedlbauer (2001)

Sedlbauer (2001) utilizou as isopletas como meio de medir a intensidade de uma deterioração causada por fungos em materiais de construção. Diferentemente de modelos que não fazem a distinção de substratos, o autor subdividiu as espécies de fungos em duas classificações segundo uma extensa revisão na literatura (Gráfico 3). Na primeira, as espécies

foram classificadas de acordo com suas classes de perigo; já na segunda divisão, foi feita uma classificação dentre diferentes tipos de substratos, sendo eles:

- categoria 0: meio ótimo de cultura;
- categoria 1: materiais biorecicláveis como papel de parede, gesso acartonado, etc.;
- categoria 2: materiais de construção porosos como revestimentos, agregados, certos tipos de madeira etc, foco deste estudo;
- categoria 3: materiais que não são biodegradáveis ou que não contenham nenhum nutriente.

Gráfico 3 – Isopleta de Sedlbauer.



Fonte: adaptado de Sedlbauer (2001).

Para os três modelos de isopletas foram utilizados os dados horários de temperatura e umidade relativa apresentados em 3.3 e inseridos nos diagramas através de gráficos de dispersão de pontos. Além disso, para uma melhor análise visual, as médias destas condicionantes no período de análise foram destacadas.

3.4.2 Tempo de molhagem

A partir de um extenso trabalho experimental, Adan (1994) realizou uma série de experimentos para analisar a resposta do volume fúngico ou teor de água em casos de condições

de umidade relativa transitória. Para indicar a disponibilidade de água sob condições transitórias, ele introduziu o tempo de molhagem (“time of wetness”, TOW), que corresponde a relação entre o tempo do ciclo molhado (Umidade Relativa (UR) \geq 80%) e o tempo total (Equação 2). Concluiu-se que um TOW abaixo de 0,5 retarda substancialmente o aparecimento de fungos e bolores.

$$TOW = \frac{\text{PERÍODO MOLHADO (UR} \geq 80\%)}{\text{PERÍODO MOLHADO E SECO}} \quad (2)$$

Para o modelo de Adan (1994), foram utilizados todos os dados horários da umidade relativa registrados em 3.3.

3.4.3 Hens

Hens (1999) inicialmente fez uso de isopletas para discriminar as zonas de crescimento de fungos em edificações. Dentre as espécies de fungos encontradas em edifícios, a espécie xerófila *Aspergillus versicolor* é aquela que possui a curva de menor umidade relativa para germinação. Diante disso, combinou-se a curva da espécie mais tolerante com uma equação, que foi possível encontrar a umidade relativa limite (UR_{limite}), a qual acima do valor, o crescimento de fungos é esperado (Equação 3).

$$UR_{LIMITE} = 0.033\theta^2 - 1.5\theta + 96 \quad (3)$$

Além disso, Hens (2006) também apresentou uma correlação entre a UR limite e o tempo necessário de exposição à esta umidade, mostrada na Equação 4. Com esta relação foi possível calcular qual é o tempo de exposição máximo sob determinada condição de umidade relativa, na qual ocorrerá crescimento fúngico, mostrada na Tabela 6.

$$UR_{LIMITE} = \min\{1, 0.8 [1.25 - 0.075\ln(t)]\} \quad t \rightarrow \text{dias} \quad (4)$$

Assim, para este método foi criada uma matriz de dados que permitiu analisar quais os dias que ocorreriam a germinação e crescimento de fungos através do limite de UR% para a quantidade de dias consecutivos de exposição ou seja, se por exemplo a umidade do ambiente fosse superior a 86,2% por 10 dias consecutivos, possivelmente teria ocorrido o crescimento fúngico. Os dados utilizados foram os condicionantes ambientais levantados em 3.3.

Tabela 6 – Umidade Relativa limite pelo tempo de exposição.

UR limite %	Dias									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	100%	95,8%	93,4%	91,7%	90,3%	89,2%	88,3%	87,5%	86,8%	86,2%
UR limite %	Dias									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	85,6%	85,1%	84,6%	84,2%	83,8%	83,4%	83,0%	82,7%	82,3%	82,0%
UR limite %	Dias									
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
	81,7%	81,5%	81,2%	80,9%	80,7%	80,5%	80,2%	80,0%	79,8%	79,6%

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

3.4.4 Índice Fúngico VTT

Hukka e Viitanen (1999) e Viitanen *et al.* (2000) apresentaram um modelo de crescimento de fungos que é baseado na duração das condições de exposição adequadas necessárias para o crescimento fúngico em materiais de construção. Na metodologia, as condicionantes de temperatura, umidade relativa, substrato, tempo de exposição e períodos de seca são considerados. O método é constituído de uma análise de regressão e utiliza várias espécies de fungos. Considera que a umidade das amostras atinge o equilíbrio quase que instantaneamente e que o fungo não altera a umidade relativa do material (VERECKEN E ROELS, 2012).

O modelo é baseado no crescimento visual de fungos que é apresentado usando valores de índice de 0 a 6, assim como mostrado na Tabela 7.

Tabela 7 – Índices do modelo VTT.

Índice	Taxa de Crescimento	Visibilidade
0	Sem Crescimento	
1	Pequenas quantidades de mofo na superfície	Microscópio
2	Muitas colônias pontuais de mofo na superfície	
3	Mofos visíveis a olho nu < 10% cobertura / < 50% cobertura de mofo através do microscópio	
4	Mofos visíveis a olho nu 10 – 50% cobertura / > 50% cobertura de mofo através do microscópio	Olho nú
5	Muito mofo na superfície > 50% cobertura	
6	Crescimento denso, cobertura de aproximadamente 100 %	

Fonte: adaptado de Hukka e Viitanen (1999).

O modelo VTT permite, através de seu software WUFI Mould Index VTT 2.1, escolher uma gama de materiais de construção para fazer sua avaliação (WUFI VTT, 2020). Cada material tem algumas propriedades pré-estabelecidas, sendo:

- a) sensibilidade: muito sensível, sensível, médio resistente, resistente;
- b) classe do material em grau de decaimento de seu desempenho: significativa, relevante, relativamente baixo, sem decaimento;
- c) tipo da superfície: limpa ou incrustada.

No software, deve-se escolher o material com suas respectivas propriedades na aba de *Inputs* e inserir as condicionantes ambientais na qual estão expostos na aba *Climate*. Assim, para este estudo, foram escolhidos para a camada de argamassa a opção “material à base de cimento” e para a camada de bloco de alvenaria a opção “tijolo” disponível no software. Já para os materiais que serão expostos diretamente ao ambiente interno e externo, utilizou-se os parâmetros do material “tinta para parede” e as condicionantes aferidas do ambiente interior e exterior. As propriedades dos materiais são as respectivas:

- a) argamassa: médio resistente, decaimento relativamente baixo, limpo;
- b) bloco de alvenaria: médio resistente, decaimento relevante, incrustado;
- c) revestimento de tinta: sensível, decaimento relevante, limpo.

Nas condicionantes ambientais, os dados horários da temperatura e umidade relativa foram convertidos para formato “.txt” e inseridos no software WUFI VTT (2020).

3.4.5 Modelo Biohigrotérmico

Sedlbauer (2002) desenvolveu o Modelo Biohigrotérmico, que permite calcular a umidade dentro de um esporo sob condições transitórias de contorno, permitindo considerar a secagem intermediária destes. Como resultado, a ferramenta mostra o crescimento fúngico ao longo do tempo de análise e utiliza escala de cores para mostrar a aceitabilidade do resultado (assim como o VTT), sendo:

- a) verde: crescimento fúngico abaixo de 50 mm/ano e VTT index abaixo de 0.5 (aceitável);
- b) amarelo: crescimento fúngico entre 50 mm/ano a 200 mm/ano (necessita de verificação);
- c) vermelho: crescimento acima de 200 mm/ano ou VTT index acima de 2 (inaceitável).

O modelo, de forma similar ao VTT, permite classificar classes de materiais de construção através de seu software WUFI Bio 3.5 (WUFI BIO, 2020).

Cada simulação tem algumas propriedades pré-definidas, sendo:

- a) tipo do material: tipo 0 (meio de cultura ótimo), tipo I (substratos bio-utilizáveis como nutriente, como exemplo, materiais biodegradáveis como a madeira) e tipo II (substratos menos bio-utilizáveis, como por exemplo materiais de construção de origem mineral como o concreto e tijolo);
- b) umidade relativa inicial do esporo, que varia de 0 a 100%.

Assim, para este estudo foi utilizado o tipo II para todos os materiais, uma vez que a argamassa e o tijolo vêm de origem mineral. Quanto à umidade relativa inicial do esporo, utilizou-se um valor de 50%, visto que este é o UR padrão do software. Os dados das condicionantes ambientais utilizadas foram levantados e apresentados em 3.3.

4 RESULTADOS E ANÁLISES

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos com a sistematização proposta no capítulo de metodologia. A partir dos resultados, são mostradas as análises e discussões acerca do tema.

4.1 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Nesta seção serão apresentados os resultados e análises relacionados à microbiologia das amostras coletas e ensaios realizados.

4.1.1 Análise dos Pontos Escolhidos

A fim de se avaliar as condições existentes no interior do elemento de vedação vertical, no que se refere à temperatura e umidade, empregou-se o aparelho termohigrômetro Hygropin da marca PROCEQ que, em resumo, possibilitou a coleta de informações internas do substrato, conforme apresentado na Tabela 8. Salienta-se que as leituras dos dados foram efetuadas no instante da coleta e em horários pré-determinados a fim de se avaliar o equilíbrio das condições internas do material quando exposto às condições da sala de estudo.

Analisando a Tabela 8 foi possível caracterizar algumas diferenças entre os pontos. O ponto 1 é localizado na parede que divide o ambiente interno do externo, sem nenhuma proteção às intempéries. Em dias chuvosos, a umidade desta parede pode ser muito alta e abrigar mais espécies de fungos. No entanto, em dias ensolarados, os raios solares podem ajudar na evaporação de água do interior da parede, reduzindo sua umidade relativa, uma vez que sua fachada está voltada para norte com alta exposição a raios solares. Já o ponto 2 é o que apresenta maior umidade, uma vez que também está localizado numa parede que divide o ambiente interno do externo, só que num local onde recebe pouca luz solar, insuficiente para evaporar a água do interior das paredes, criando condições ótimas para o crescimento fúngico. Por fim, o ponto 3, que se localiza numa parede que divide apenas o ambiente interno, é o mais seco, uma vez que está protegido das intempéries.

Tabela 8 – Coleta com aparelho termohigrômetro no interior da parede.

Coleta (Horas)	Ponto 1		Ponto 2		Ponto 3	
	UR (%)	Temp (°C)	UR (%)	Temp (°C)	UR (%)	Temp (°C)
0	63,8	23,3	81,0	23,6	58,7	24,6
3	64,3	24,4	86,1	24,7	56,7	24,7
18	62,7	24,7	82,4	24,6	57,6	24,5
26	63,8	24,2	84,4	24,7	56,1	24,4
48	61,3	24,3	81,2	24,7	58,8	24,8
Média	63,2	24,2	83,0	24,5	57,6	24,6

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

4.1.2 Contagem, Purificação e Identificação de Colônias

A primeira análise realizada foi a discriminação de colônias para que cada uma macromorfologicamente distinta pudesse ser posteriormente purificada em uma nova placa. Assim, realizou-se a contagem de colônias nas placas inoculadas com os *swabs* e diluições, vide Tabela 9.

Tabela 9 – Quantidade de colônias encontradas nos pontos.

Ponto	Camada	Quantidade de Colônias Distintas em Cada Placa					Total	Total ponto
		Diluição 1	Diluição 2	Swab 1	Swab 2	Swab 3		
1	Tinta (A)	0	1	2	2	4 (2)	9	11
	Argamassa (B)	0	0	0	0	-	0	
	Bloco (C)	0	0	1	1 (8)	-	2	
2	Tinta (A)	2 (4)	1 (6)	1	0	1	5	12
	Argamassa (B)	1 (3)	2	1	0	-	4	
	Bloco (C)	1 (2)	0	1	1 (3)	-	3	
3	Tinta (A)	1	0	0	0	0	1	1
	Argamassa (B)	0	0	0	0	-	0	
	Bloco (C)	0	0	0	0	-	0	
Total de colônias:							24	

* Em parênteses são colônias que se repetiram na mesma placa

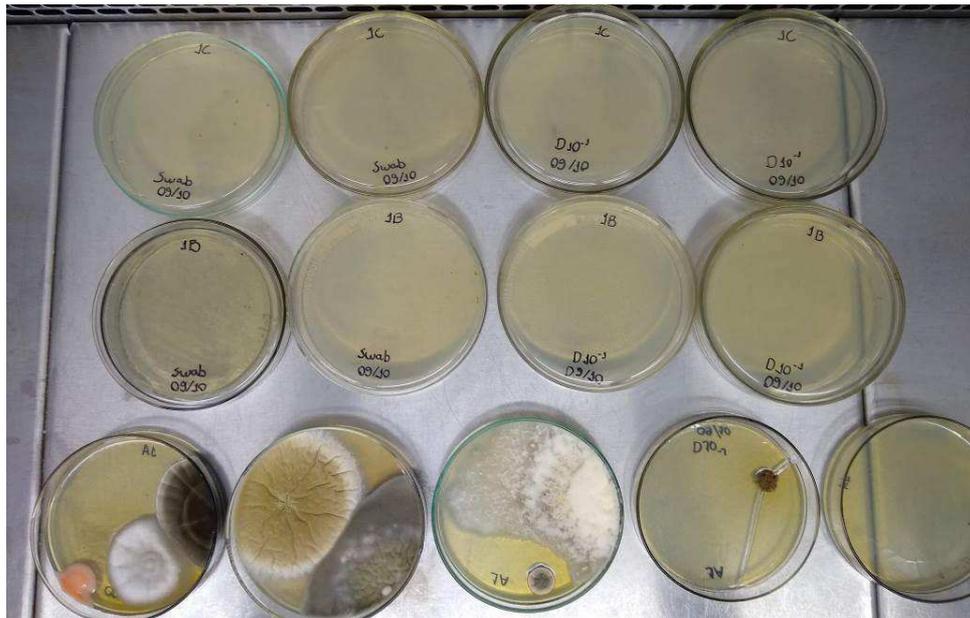
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Analisando a Tabela 9 é possível observar que os pontos com maior presença de colônias fúngicas foram àqueles localizados nas paredes que estão expostas a uma maior umidade e às intempéries externas, isto é, pontos 1 e 2 (vide Tabela 8). Se considerarmos ainda as colônias repetidas, o total de colônias no ponto 1 seria de 21 e no ponto 2, o total de 30. O ponto 3, por outro lado, apresentou apenas 1 unidade formadora de colônia em sua camada de tinta e foi o ponto de menor umidade no dia da coleta, além de ser o único que não está exposto a

intempéries externas. Assim, foi possível ver que o ponto mais úmido foi aquele que apresentava o maior número de fungos, e o menos úmido, a menor quantidade.

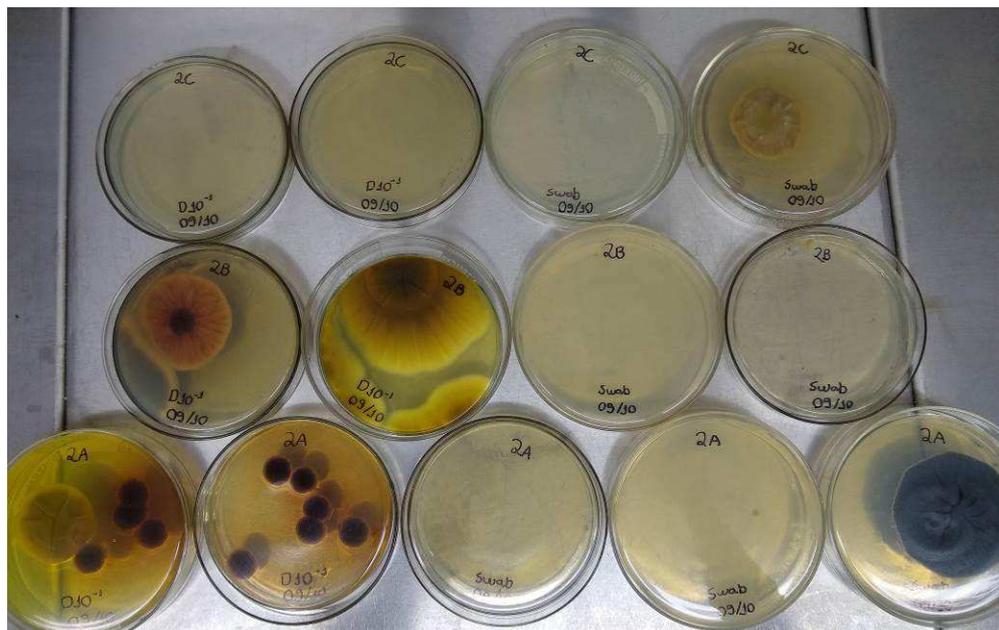
A Fotografia 10, Fotografia 11 e Fotografia 12 apresentam as colônias formadas em cada ponto, sendo que para o ponto 3 houve a presença de fungos somente na primeira camada, na tinta.

Fotografia 10 – Colônias encontradas no ponto 1.



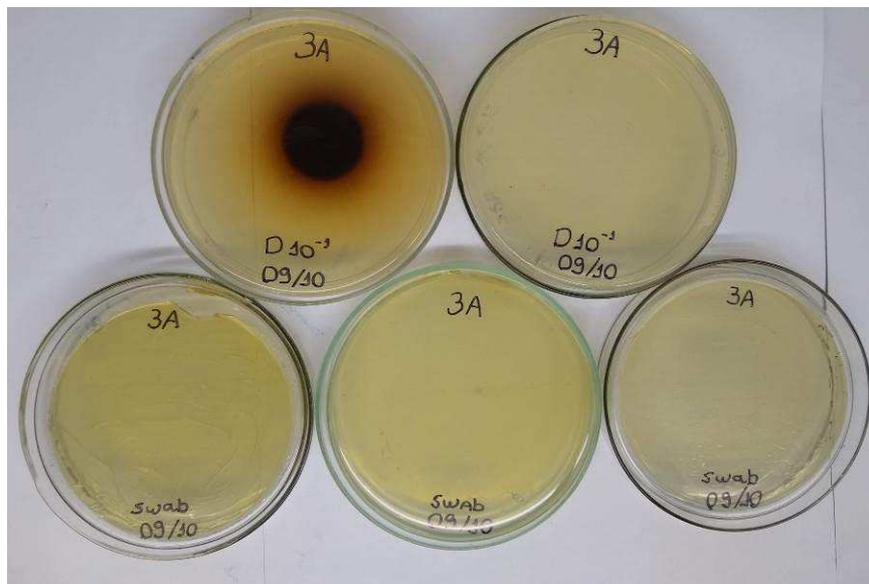
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Fotografia 11 – Colônias encontradas no ponto 2.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Fotografia 12 – Colônias encontradas no ponto 3 (apenas na câmara de tinta).



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Para o desenvolvimento do estudo, conforme mencionado no item 3.2.3, cada colônia presente em cada placa foi então repicada e mantida em estufa por 30 dias a 25°C, até a obtenção da colônia pura. Dentre as 24 colônias encontradas inicialmente, algumas, no momento do sequenciamento, não foram possíveis de ser identificadas, sendo referidas neste estudo como N.I. (não identificada). Assim sendo, no total foram identificadas 17 colônias no estudo de caso, conforme ilustradas no APÊNDICE C.

4.1.3 Susceptibilidade de Crescimento em Materiais de Construção.

Para avaliar se os fungos são passíveis de crescer em ambiente como os materiais de construção foi realizado o ensaio de xerofilia, conforme mencionado no item 3.2.4. Assim, as análises foram efetuadas aos 30 dias de idade para se verificar o crescimento (ou não) da colônia fúngica no meio frente a diferentes concentrações de Glicerol (DG) (composto que deixa o meio “agressivo” aos fungos). A Tabela 10 mostra o resultado da análise de crescimento, as respectivas concentrações e a média relativa de crescimento, onde é possível constatar:

- o fungo que conseguiu crescer em meio com 72% de glicerol, isto é, o meio mais agressivo de todos, foi o encontrado na amostra 2CXI, entretanto não foi possível ser identificado através do sequenciamento genético;

- b) o gênero *Aspergillus* apresenta-se apto a crescer em ambiente contendo glicerol em 54%, sendo, inclusive, o que possui maior média relativa de crescimento dos gêneros identificados;
- c) gêneros como *Bipolaris* e *Cladosporium* conseguiram crescer em 100% da placa na menor concentração (18%DG), no entanto, por terem característica mais hidrofílica, isto é, necessitarem de um meio mais úmido para sua sobrevivência, apresentam crescimento nulo ou reduzido em maiores concentrações;
- d) outros gêneros, como *Septoriella* e *Cystobasidium*, apresentaram desenvolvimento insatisfatório para sua proliferação, apesar de terem sido encontrados no elemento de vedação vertical do estudo de caso; nesse contexto, estima-se que estes fungos não estariam aptos a se estabilizarem por muito tempo, necessitando de estudos mais aprofundados.

Tabela 10 – Susceptibilidade de crescimento em materiais de construção.

Amostra	Fungo	% Crescimento (30 dias)				Média Relativa de Crescimento
		18%DG	36%DG	54%DG	72%DG	
1AI	N.I.	100%	100%	26%	0%	38%
1AII	<i>Bipolaris</i>	100%	0%	0%	0%	10%
1AIII	N.I.	68%	31%	15%	0%	18%
1AIV	<i>Aspergillus</i>	100%	46%	15%	0%	24%
1AV	<i>Cladosporium</i>	0%	0%	0%	0%	0%
1AVI	<i>Septoriella</i>	0%	0%	0%	0%	0%
1AVII	<i>Cystobasidium</i>	0%	0%	0%	0%	0%
IAVIII	N.I.	0%	0%	0%	0%	0%
1A-IX	N.I.	100%	70%	28%	0%	32%
1CX	N.I.	0%	0%	0%	0%	0%
1CXII	<i>Penicillium</i>	0%	0%	0%	0%	0%
2AI	<i>Aspergillus</i>	100%	42%	0%	0%	18%
2AII	<i>Aspergillus</i>	43%	24%	10%	0%	12%
2AIII	<i>Aspergillus</i>	53%	30%	12%	0%	15%
2AIV	N.I.	0%	0%	0%	0%	0%
2AV	<i>Cladosporium</i>	0%	0%	0%	0%	0%
2BVI	<i>Cladosporium</i>	100%	37%	0%	0%	17%
2BVII	<i>Periconia</i>	0%	0%	0%	0%	0%
2BVIII	<i>Aspergillus</i>	53%	16%	7%	0%	11%
2BIX	<i>Penicillium</i>	32%	0%	0%	0%	3%
2CX	<i>Penicillium</i>	26%	8%	0%	0%	4%
2CXI	N.I.	100%	61%	29%	23%	40%
2CXII	<i>Penicillium</i>	12%	0%	0%	0%	1%
3AI	<i>Cladosporium</i>	0%	0%	0%	0%	0%

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

4.1.4 Capacidade Infectante em Seres Humanos

As colônias purificadas passaram novamente por outro repique, conforme mencionado no item 3.2.5, ou seja, cada colônia pura foi novamente encubada na estufa na temperatura do corpo humano (37° C) e na temperatura ambiente (25° C), para avaliar sua possibilidade de ser um patógeno causador de infecções hospitalares. Os resultados são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 – Capacidade Infectante em Seres Humanos.

Amostra	Gênero	Crescimento	
		25 °C	37°C
1AI	N.I.	100%	100%
1AII	<i>Bipolaris</i>	100%	6%
1AIII	N.I.	38%	11%
1AIV	<i>Aspergillus</i>	18%	3%
1AV	<i>Cladosporium</i>	34%	1%
1AVI	<i>Septoriella</i>	12%	0%
1AVII	<i>Cystobasidium</i>	6%	2%
2AI	<i>Aspergillus</i>	90%	51%
2AII	<i>Aspergillus</i>	22%	3%
2AIII	<i>Aspergillus</i>	30%	4%
2AV	<i>Cladosporium</i>	34%	0%
2BVI	<i>Cladosporium</i>	87%	63%
2BVII	<i>Periconia</i>	54%	0%
2BVIII	<i>Aspergillus</i>	20%	2%
2BIX	<i>Penicillium</i>	18%	3%
2CX	<i>Penicillium</i>	4%	1%
2CXI	N.I.	5%	1%
2CXII	<i>Penicillium</i>	19%	2%
3AI	<i>Cladosporium</i>	28%	1%

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Conforme Tabela 11, pode-se observar:

- as amostras 1AI e 1AII (contendo o gênero *Bipolaris*), localizadas na camada de tinta foram aquelas que tiveram crescimento por toda área da placa em 25°C; destas, a amostra 1AI não foi possível ser identificada, entretanto, se mostrou apta a crescer na temperatura corporal em 100%, enquanto que a segunda (*Bipolaris*) teve um crescimento de apenas 6%;

- b) dos gêneros encontrados que mais teriam a possibilidade de se estabelecerem no corpo humano, e serem possíveis causadores de infecções fúngicas hospitalares destacam-se:
 - N.I. no ponto 1 e *Aspergillus* do ponto 2 presentes na camada A (tinta);
 - *Cladosporium* do ponto 2 presentes na camada B (argamassa);
- c) gêneros como *Septoriella*, *Cystobasidium*, *Periconia* e *Penicillium* tiveram crescimento apenas em 25 °C e em temperatura corporal, seu crescimento foi desprezível, sendo de no máximo 3% da área da placa.

4.1.5 Discussão dos resultados

A Tabela 12 apresenta os resultados obtidos nas análises microbiológicas efetuadas.

O ponto 2 teve a presença de *Aspergillus* e *Cladosporium*, que são dois dos três gêneros que mais necessitariam de maior atenção, uma vez que podem se proliferar e se estabilizar nos materiais de construção (tinta, argamassa e os constituintes da alvenaria). Além disso, no caso da presença de intervenções construtivas (serviços de manutenção preventivas ou reformas), podem ter esporos propagados ao ambiente interno da edificação, sendo a possível causa de doenças, incluindo as infecções hospitalares. Ademais, o ponto apresentou elevada umidade (Tabela 8) e é um local de fachada exposto às intempéries, entretanto, sem incidência de radiação solar direta sob sua superfície (diferente do ponto 1); assim, apresentou o maior número observado de colônias, sendo um total de 30.

No que se refere ao material de construção, verificou-se que a tinta, primeira camada da superfície, é onde há maior quantidade de fungos, já que se encontra exposta aos aerossóis do ambiente interno e externo. Diante disso, há a possibilidade que os esporos fúngicos se acomodem nos materiais de construção e germinem, muitas vezes, tornando-se visíveis a olho nu através da formação de mofos e bolores. Cabe ressaltar que, apesar de ser mais exposta do que a camada de bloco de alvenaria, a camada de argamassa é aquela que abrigou a menor quantidade de colônias (no total foram 7 unidades formadoras apenas). Isto é explicado pelo ambiente altamente adverso à manutenção de microrganismos que são os materiais a base de cimento (ISAIA, 2007): muito básicos (pH de aproximadamente 12) e com alta presença de sais.

Através deste estudo, não foi possível encontrar a real influência da altura para a contaminação fúngica. Os pontos de maior contaminação são localizados na parte mais baixa e na parte mais alta da sala de estudo. Já o ponto intermediário, foi aquele onde foi encontrado o menor número de colônias. Assim, seria possível concluir que a altura não tem relação com o

nível de contaminação. No entanto, cabe ressaltar que o ponto intermediário coincidiu de ser localizado na parede de menor umidade e menos exposta a intempéries, explicando sua baixa proliferação fúngica. Assim, mais aferições seriam necessárias para entender como se comporta a umidade e o efeito da condensação ao longo da altura da parede.

Tabela 12 – Resultados de análises microbiológicas do estudo de caso.

Pnt.	Camada	Descrição do Ponto	Colônia	Gênero	Capacidade Infectante em Temperatura Corporal	Susceptibilidade de Cresc. em Materiais de Construção	Risco			
1	Tinta (A)	Úmido e pouco exposto a intempéries Ponto de fachada exposta H = 0,5 m	I	N.I.	100%	38%	Elevado			
			II	<i>Bipolaris</i>	6%	10%	Insignificante			
			III	N.I.	11%	18%	Baixo			
			IV	<i>Aspergillus</i>	3%	24%	Insignificante			
			V	<i>Cladosporium</i>	1%	0%	Insignificante			
			VI	<i>Septoriella</i>	0%	0%	Insignificante			
	Bloco (C)		VII	<i>Cystobasidium</i>	2%	0%	Insignificante			
			VIII	N.I.	CT.	0%	-			
			IX	N.I.	CT.	32%	-			
			X	N.I.	CT.	0%	-			
			2	Tinta (A)	Muito úmido e muito exposto a intempéries Ponto de fachada protegida H = 1,5 m	I	<i>Aspergillus</i>	51%	18%	Intermediário
						II	<i>Aspergillus</i>	3%	12%	Insignificante
III	<i>Aspergillus</i>	4%	15%			Insignificante				
IV	N.I.	CT.	0%			-				
V	<i>Cladosporium</i>	0%	0%			Insignificante				
VI	<i>Cladosporium</i>	63%	17%			Intermediário				
Argamassa (B)	VII	<i>Periconia</i>	0%	0%		Insignificante				
	VIII	<i>Aspergillus</i>	2%	11%		Insignificante				
	IX	<i>Penicillium</i>	3%	3%		Insignificante				
	3	Tinta (A)	Pouco úmido H = 1 m	X		<i>Penicillium</i>	1%	4%	Insignificante	
				XI		N.I.	1%	40%	Baixo	
	Bloco (C)	XII		<i>Penicillium</i>		2%	1%	Insignificante		
I		<i>Cladosporium</i>		1%	0%	Insignificante				

N.I. = Não identificada CT = Contaminada durante processamento

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Contatou-se, além disso, que um fator de grande influência é a incidência de radiação solar nas regiões, que ocorria de forma demasiada no ponto 2 e muito baixa no ponto 1. Para o caso de divisórias entre ambiente interno/interno (Ponto 3 da coleta), verificou-se que não há uma influência significativa. Neste contexto é possível concluir que o meio ambiente onde a edificação se encontra possui um efeito significativo na permanência e proliferação dos fungos,

tornando-se necessário, também, uma análise, em futuros estudos acerca dos poluentes e das condições atmosféricas presentes no entorno da edificação.

Deve-se reforçar que os gêneros mais encontrados neste estudo de caso foram respectivamente *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Penicillium*, da mesma forma que reportado por Garcia *et al.* (2006), Rojas *et al.* (2008) e Guiamet *et al.* (2011), que destacam como sendo os comumente detectados em ambientes internos de edificações e se caracterizam por serem: onipresentes, aéreos e de fácil hospedagem (FLORIAN; MANNING, 2000).

Algumas pesquisas apresentam que a incidência do *Aspergillus* (comum em ambientes úmidos das edificações) e do *Penicillium* (comum em ambientes das edificações em geral) é mais alta em ambientes internos, do qual se conclui que muitos deles provém dos próprios materiais de construção (LUGAUSKAS; LEVINSKAIT; PEČIULYT, 2003; MEKLIN *et al.*, 2004; AIRA *et al.*, 2007; LIGNELL *et al.*, 2008). Ambos ocasionam, como manifestação patológica nos materiais de construção, a desfiguração estética da superfície da edificação em tons de preto e verde. Além disso, estimulam os sintomas alérgicos e respiratórios observados em pessoas alérgicas expostas a altos níveis de esporos desses organismos (SCHWAB; STRAUS, 2004).

Nesse contexto, a Tabela 13 mostra o mapeamento de risco comparativo entre os gêneros fúngicos identificados no estudo. O gênero *Aspergillus* é aquele que oferece maior risco às edificações, à medida que pode se instalar em seus materiais de construção, e causar doenças em seus usuários. Nos estudos efetuados por Denning (1995) e Curtis (2005) foi mostrado a alta taxa de mortalidade por infecções causadas por aspergilose em pacientes hospitalares, que pode atingir taxas de mortalidade de 66% até 99%.

Tabela 13 – Matriz de risco dos gêneros fúngicos.

Gênero	Média da Capacidade Infectante em Temperatura Corporal	Média da Susceptibilidade ao Cresc. em Materiais de Construção	Risco (Comparativo entre gêneros)
<i>Bipolaris</i>	6%	10%	Intermediário
<i>Aspergillus</i>	13%	16%	Elevado
<i>Cladosporium</i>	16%	4%	Alto
<i>Septoriella</i>	0%	0%	Insignificante
<i>Cystobasidium</i>	2%	0%	Insignificante
<i>Periconia</i>	0%	0%	Insignificante
<i>Penicillium</i>	2%	2%	Insignificante

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Algumas pesquisas mostram a forte relação de surtos de infecções hospitalares causadas pelo gênero *Aspergillus* com a presença de atividades construtivas. Pini *et al.* (2008) realizaram um rigoroso programa de vigilância fúngica ambiental em uma unidade de hematologia e observaram que de 97 pacientes, os 3 casos comprovados de aspergilose ocorreram com o período de obras de renovação e atividades construtivas, quando a concentração de *Aspergillus fumigatus* foi máxima. Da mesma forma, Chabrol *et al.* (2010) observaram, ao longo de três anos, que houve um aumento considerável de fungos do gênero *Aspergillus* no ar e na superfície de uma unidade hospitalar quando havia uma intervenção de manutenção nas redondezas. Oren *et al.* (2001) observaram em 4 meses, durante extensa construção hospitalar e reforma interna, que ocorreu um surto hospitalar de aspergilose pulmonar invasiva em pacientes com leucemia aguda, resultando numa taxa de infecção de 50%.

Conforme a Tabela 13, o gênero com aptidão para desenvolvimento, na temperatura do corpo humano e, conseqüentemente, passível de provocar infecções é o *Cladosporium*; outro agravante é sua alta mobilidade na presença de ar e, por isso, este gênero é comumente encontrado em aerossóis internos de edificações (LIM; TAN; TOH, 1989; KIM; KIM, 2007; ROJAS *et al.*, 2012) podendo causar infecções (AIRA; ROJAS; JATO, 2002; NUGARI; ROCCARDI, 2001) e alergias nos usuários (BREITENBACH; SIMON-NOBBE, 2002).

O terceiro gênero mais problemático para as edificações de ambientes hospitalares foi o gênero *Bipolaris*. Algumas de suas espécies podem causar doenças em seres humanos como infecções, alergias e inflamações (TAGUCHI *et al.*, 2004; EGHTEDARI *et al.*, 2006; BASHIR; HUSSAIN; RIZVI, 2009). Mesmo não sendo frequentes, estas doenças fúngicas não podem ser negligenciadas (LJALJEVIĆ-GRBIĆ *et al.*, 2011), principalmente no Brasil, uma vez que foi constatado por El Khizzi *et al.* (2010) que os principais casos das doenças causadas por *Bipolaris* foram encontrados em áreas onde predominam climas quentes.

Alguns gêneros como *Septoriella*, *Cystobasidium* e *Periconia* se mostraram com risco reduzidos aos materiais de construção e aos humanos. Entretanto, há uma carência de estudos que abordam os efeitos destes fungos nas edificações, assim, mais estudos devem ser feitos para confirmar esta hipótese.

4.2 ANÁLISES DE CONDICIONANTES AMBIENTAIS

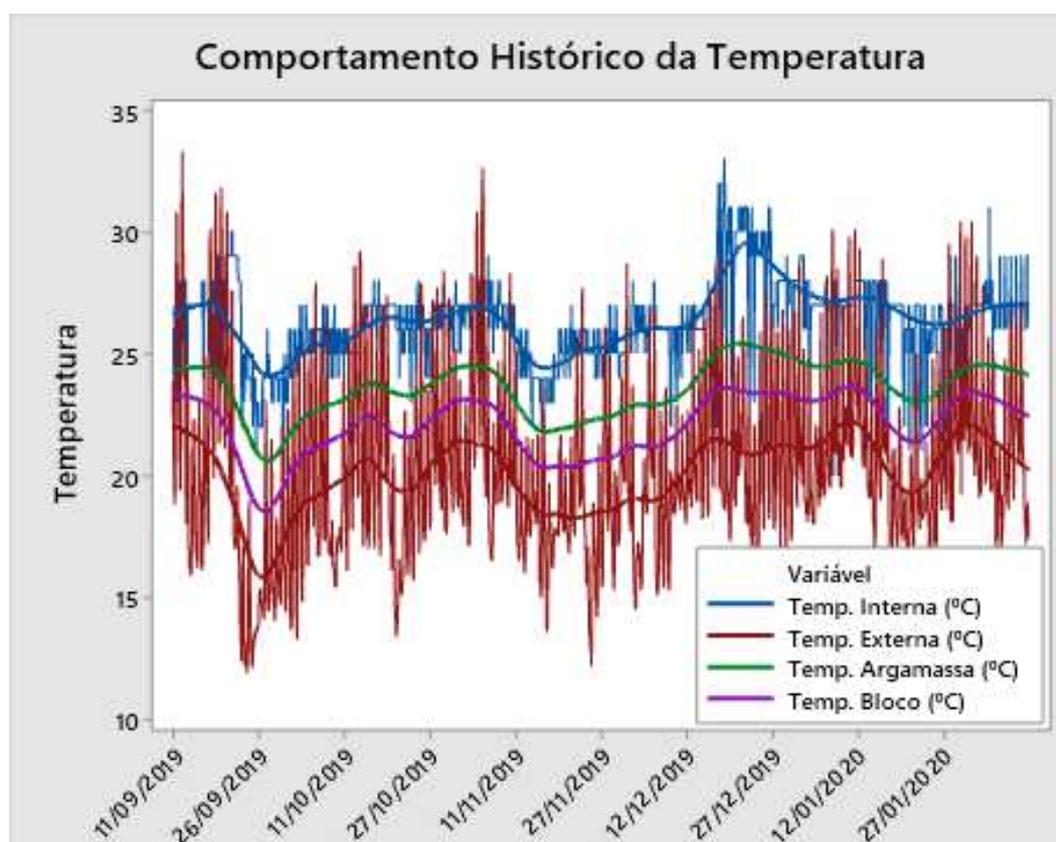
Nesta seção serão apresentados os resultados e análises relacionados às condicionantes ambientes dos ambientais de estudo.

4.2.1 Temperatura

Os dados de temperatura e umidade relativa do ambiente externo e da sala onde ocorreram as coletas foram analisados conforme apresentado em 3.3.1 e 3.3.2, respectivamente, no período 11/09/2019 à 11/02/2020. Adotando-se o procedimento descrito no item 3.3.3, obteve-se as condicionantes ambientais dos materiais do elemento de vedação vertical (argamassa e bloco de vedação).

O Gráfico 4 apresenta os dados referentes a temperatura com sua respectiva análise estatística dos dados apresentados na Tabela 14.

Gráfico 4 – Série temporal da temperatura do ambiente interno e externo.



Fonte: Minitab (2019) elaborado por autor (2020).

Analisando a Tabela 14 e Gráfico 4 foi possível constatar que a temperatura interna apresentou uma baixa variância e desvio padrão (3,14 e 1,77 respectivamente) e, portanto, possui uma menor amplitude térmica diária, o que caracteriza um comportamento esperado para a os elementos de vedação vertical das edificações, ou seja, minimizar as oscilações térmicas

do ambiente externo, favorecendo o conforto aos usuários. Entretanto, as oscilações térmicas criam diferenciais térmicos, que podem favorecer o crescimento fúngico, uma vez que elas contribuem para uma maior condensação de vapor de água nas superfícies construídas.

Tabela 14 – Estatísticas descritivas da temperatura das aferições.

Temperatura dos ambientes	Média	Desvio Padrão	Variância	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.
Interno	26,20	1,77	3,14	20,00	25,00	26,00	27,00	33,00
Argamassa	23,68	1,96	3,82	17,83	22,44	23,66	24,92	29,78
Bloco	22,25	2,57	6,58	15,67	20,52	22,05	23,81	31,28
Externo	20,39	3,58	12,79	11,90	17,90	19,90	22,50	33,30

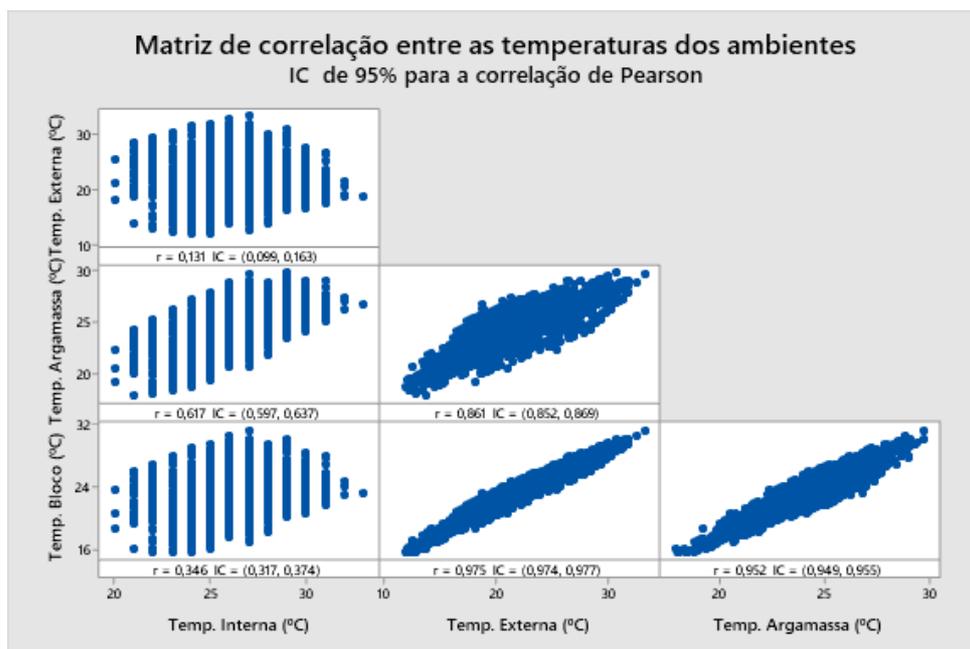
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

O valor médio da temperatura no ambiente interno foi superior ao externo, 26°C e 20 °C, respectivamente. Ressalta-se que, para os seres humanos, a temperatura ideal de conforto em ambientes de trabalho está compreendida entre 20 °C a 23 °C (NR 17, 2020); no entanto, não é possível afirmar que as condições externas são melhores uma vez que as oscilações térmicas deste ambiente causam muito desconforto. Assim, as condicionantes ambientais exteriores registraram temperaturas mínimas de até 11,9 graus, já no interior, este mínimo foi 20°C. Além disso, a grande maioria de espécies fúngicas crescem numa temperatura média de 25 °C, muito recorrente no ambiente interno analisado e muito próxima da média da camada de argamassa (23,7 °C).

Por fim, analisou-se a correlação de Pearson entre a temperatura interna, externa, da argamassa interna e do bloco. O objetivo da análise era saber se o isolamento e a climatização da sala de estudo eram aptos a amortecer as oscilações e extremos de temperatura. Assim, foi realizado a matriz de correlação entre as temperaturas dos ambientes, apresentada no Gráfico 5.

Através da matriz de correlação do Gráfico 5 foi possível ver a alta dispersão dos dados da temperatura interna e externa, apresentando um coeficiente de Pearson de 0,131, isto é, uma relação muito fraca. Isto significa que o ambiente interno tinha pouca influência do externo, que pode ser justificado pela capacidade isolante da edificação e da climatização artificial utilizada. Assim, pode-se ver que esta relação foi muito maior entre o ambiente externo e a camada de bloco (0,795, “relação muito forte”), sendo reduzido ao longo do elemento de vedação vertical. Uma edificação bem isolada resulta numa menor condensação de vapores em seu interior e assim, diminui a umidade superficial das paredes e conseqüentemente a proliferação de fungos e outros microrganismos.

Gráfico 5 – Matriz de correlação de Pearson das temperaturas.



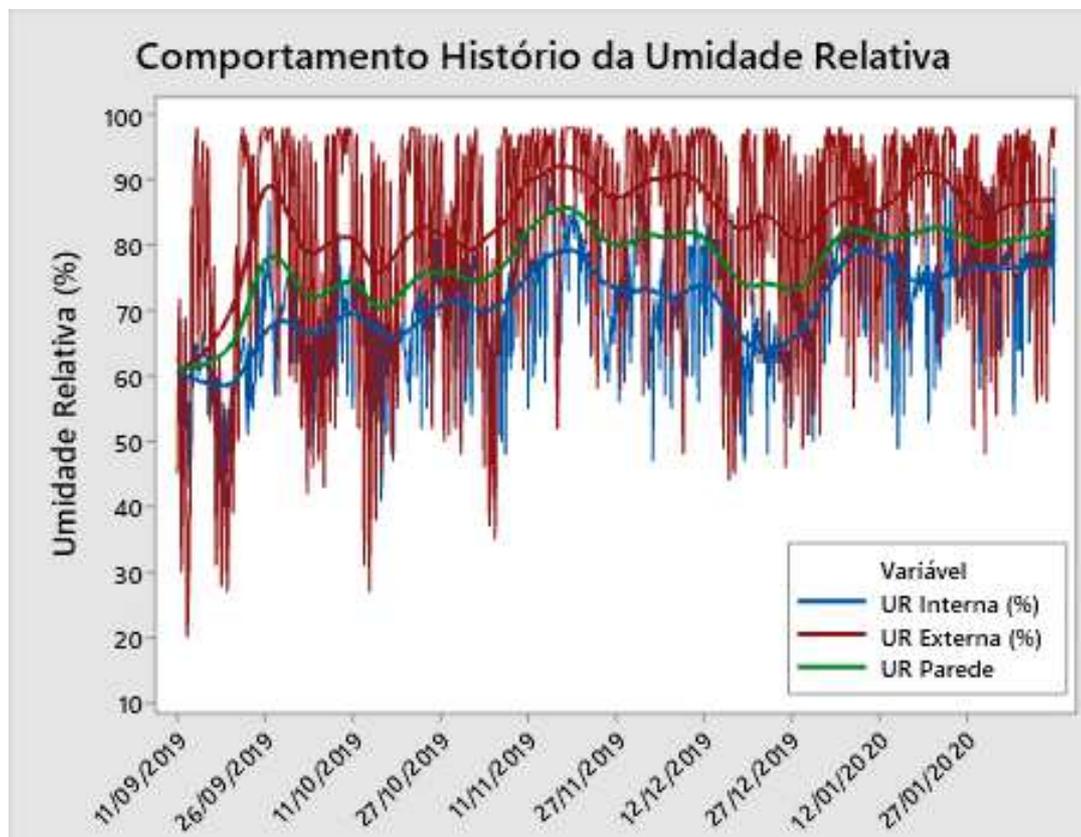
Fonte: Minitab (2019) elaborado por autor (2020).

4.2.2 Umidade Relativa

No que se refere a umidade relativa, o Gráfico 6 mostra o comportamento histórico da variável e a Tabela 15 as informações de estatística descritiva. Através destas é possível observar que a umidade do ambiente externo tendia a ser mais alta que do interno ao longo dos dias, inclusive, em alguns momentos, a externa chegou a valores muito próximos do ponto de saturação, isto é, 100%, muito favorável ao crescimento fúngico. Nos dias mais secos, a umidade externa atingia valores fora dos limites recomendados pela Organização Mundial da Saúde (OMS), que é de 50 a 80%, atingindo até 20%; enquanto a interna teve poucas ocorrências de valores inferiores a 50%.

A umidade relativa do ambiente interno variou muito menos que o externo, inclusive a variância foi três vezes menor (77 e 253 respectivamente). Isto mostra a capacidade da edificação em controlar a umidade interna, mesmo com as oscilações externas. Além disso, a sala de estudo é formada por um ambiente climatizado artificialmente, o que pode contribuir para a diminuição desta variação. A média interna foi aproximadamente 70%, um valor alto e que pode induzir o crescimento fúngico, no entanto, não se compara ao externo, que teve uma média de 82%, acima da UR limite de crescimento fúngico para muitos pesquisadores (>80%). Apesar de possuir as maiores URs, não se pode descartar o efeito benéfico das oscilações de umidade, que quando são de redução, influenciam os processos de secagem de esporos.

Gráfico 6 – Comportamento histórico da umidade relativa (UR) dos ambientes.



Fonte: Minitab (2019) elaborado por autor (2020).

Tabela 15 – Estatísticas descritivas da umidade relativa.

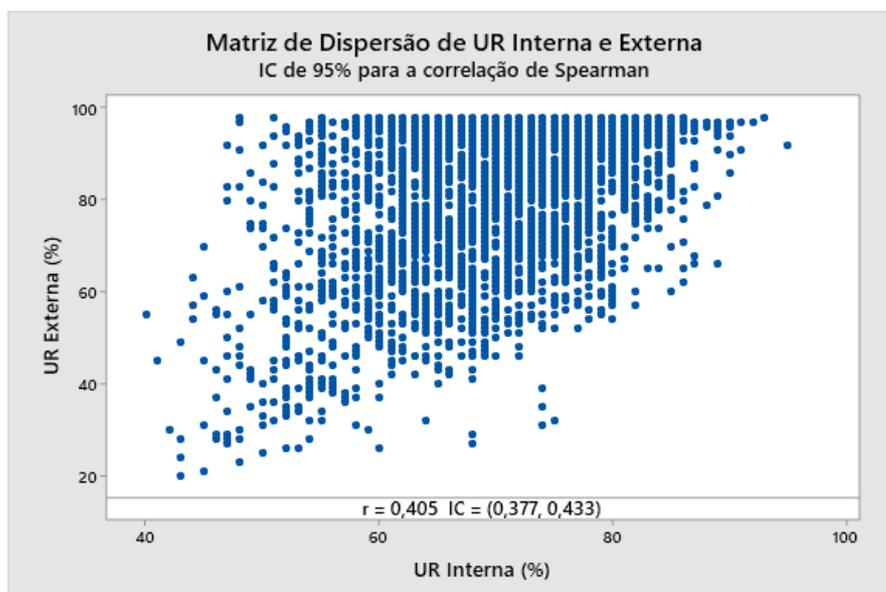
Umidade Relativa dos Ambientes (%)	Média	Desvio Padrão	Variância	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.
Interno	70,45	8,80	77,51	40,00	64,00	71,00	77,00	95,00
Parede	76,46	10,74	115,25	31,50	70,50	79,00	85,00	95,50
Externo	82,47	15,91	253,04	20,00	73,00	88,00	96,00	98,00

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Por fim, mostrou-se a influência da umidade relativa externa em relação a interna através da matriz de correlação de Pearson. Com esta relação foi possível entender como o ambiente externo influenciava o interno e em caso positivo, influenciaria também o ambiente intermediário, isto é, o elemento de vedação vertical. Como pode ser visto no Gráfico 7, o coeficiente de Pearson foi de 0,405, o que indica uma correlação moderada. Assim, mesmo que a edificação seja uma boa isolante de temperatura e climatizada artificialmente, ela não é apta a absorver totalmente as oscilações de UR do ambiente externo. Assim, em dias mais úmidos e

susceptíveis a crescimento e proliferação fúngica, espera-se que, de certa forma, o ambiente interno e as paredes se tornem mais úmidas também.

Gráfico 7 – Matriz de dispersão de UR dos diferentes ambientes.



Fonte: Minitab (2019) elaborado por autor (2020).

4.2.3 Considerações

Com os resultados apresentados em 4.2.1 e 4.2.2, foi possível observar que a temperatura externa, na grande maioria das vezes, foi inferior à temperatura interna, enquanto que a umidade relativa externa foi superior a interna, isto é, a sala de estudo era mais quente e seca. As condicionantes internas apresentaram uma variância menor, ou seja, amplitudes de temperatura e umidade relativa mais baixas ao longo dos dias.

As oscilações térmicas do estudo de caso causam a formação de um gradiente de temperatura entres os ambientes e possivelmente, a condensação de vapor de água no elemento de vedação vertical, que contribui para o aumento da umidade da superfície construída e consequentemente a proliferação de fungos. No entanto, com a ferramenta de correlação, foi possível identificar que a edificação era capaz de absorver as oscilações térmicas, justificada por sua capacidade isolante, o que reduziria esse efeito da condensação.

Com a ferramenta de correlação da umidade relativa dos ambientes foi possível observar que, apesar de isolar bem a temperatura, a sala de estudo tem uma influência da UR externa, sendo esta característica perpetuada pelo elemento de vedação vertical através de seus poros. Assim, em dias mais úmidos, a tendência da sala e do substrato era ficar mais úmido e vice

versa, mas sempre de forma mais constante e variando menos em relação ao clima externo. As bruscas oscilações de umidade relativa externa, causam, em casos de redução, a secagem dos esporos fúngicos, e como a edificação é sujeita a influência externa, também teriam este efeito secativo.

4.3 ANÁLISES DE CONDICIONANTES DO SUBSTRATO

Como pode-se observar na Tabela 16, o pH de todos os pontos variou muito pouco, sendo muito próximo da faixa neutra (7). Como afirmado por Sedlbauer (2001) e Tudor, Robinson e Cooper (2013), estes valores encontram-se dentro da faixa ótima de crescimento fúngico, que é de 5 a 7, podendo, para algumas espécies ser de aproximadamente 2 a 11.

Tabela 16 – pH dos pontos.

Camada	Ponto			Média
	1	2	3	
TINTA	7,0	6,9	7,1	7,0
Argamassa	7,1	6,9	7,3	7,1
Bloco	7,1	7,0	7,3	7,2

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

O pH não foi um parâmetro adequado para distinguir os ambientes e os materiais de construção, uma vez apresentou valores próximos ao pH neutro (7,0), sendo estes adequados à proliferação fúngica. Ressalta-se que o pH, a temperatura e a umidade relativa são parâmetros que nunca podem ser analisadas isoladamente para se avaliar o risco de crescimento fúngico, uma vez que esses, assim como as propriedades do substrato, são complementares.

4.4 ANÁLISES DOS MODELOS DE PREVISÃO DE CRESCIMENTO FÚNGICO

Nesta seção serão apresentados os resultados e análises relacionados aos modelos de previsão de crescimento fúngico em edificações.

4.4.1 Isopletas

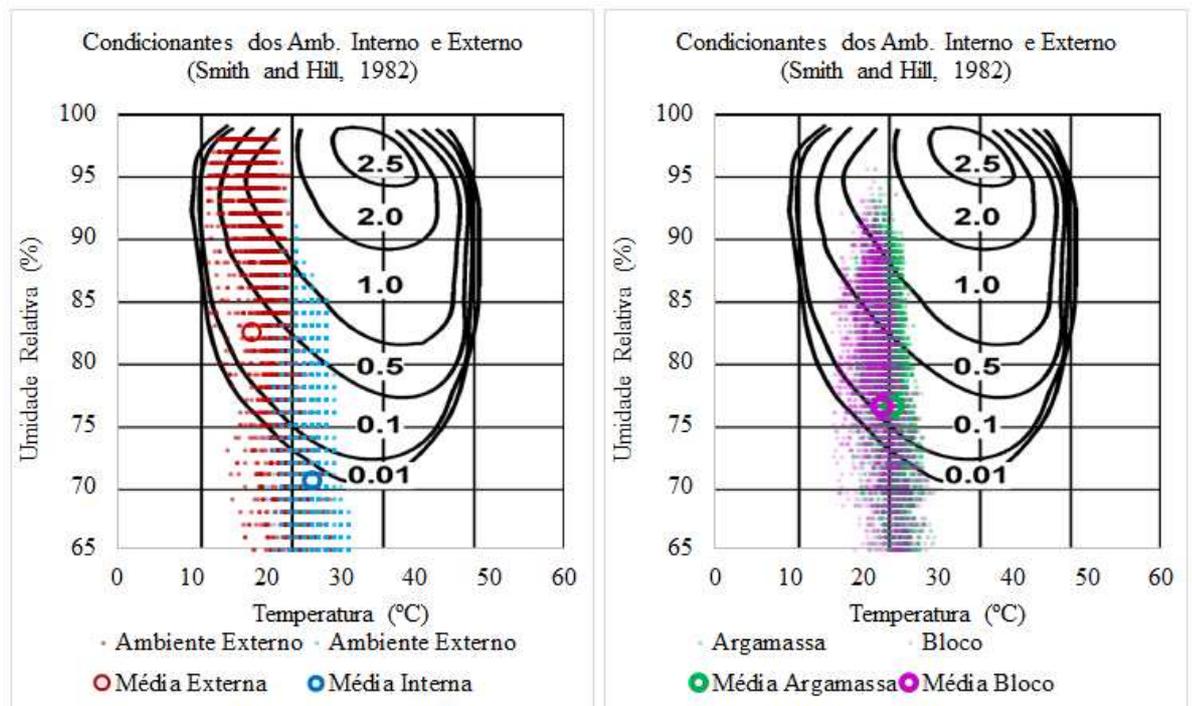
Os resultados referentes ao modelo de previsão do tipo isopletas serão mostrados nesta seção.

4.4.1.1 Smith e Hill (1982)

Pelo modelo de isopleta proposta por Smith e Hill (1982) não há ocorrência de crescimento fúngico em umidades relativas abaixo de 70% em materiais de construção. Assim, como pode ser visto no Gráfico 8, a média da temperatura e umidade relativa do ambiente interno está abaixo da faixa limite de crescimento. Neste ambiente, o crescimento fúngico anual seria abaixo de 3,65 mm/ano, valor muito insignificante.

Por outro lado, a média do ambiente externo se localiza na faixa de crescimento entre 0,1 a 0,5 mm/dia. Estimasse que o crescimento fúngico de materiais expostos a este ambiente seja de 36,5 a 182,5 mm/ano. Além disso, pela dispersão de pontos é possível verificar que há muitas ocorrências de aferições no ambiente externo que resultaria em mais de 1 mm/dia de crescimento fúngico na edificação exposta a estes condicionantes. No ambiente interno, a dispersão não atingiu crescimentos tão altos com muita frequência.

Gráfico 8 – Isopletas de Smith e Hill (1982).



Fonte: Adaptado de Smith e Hill (1982)

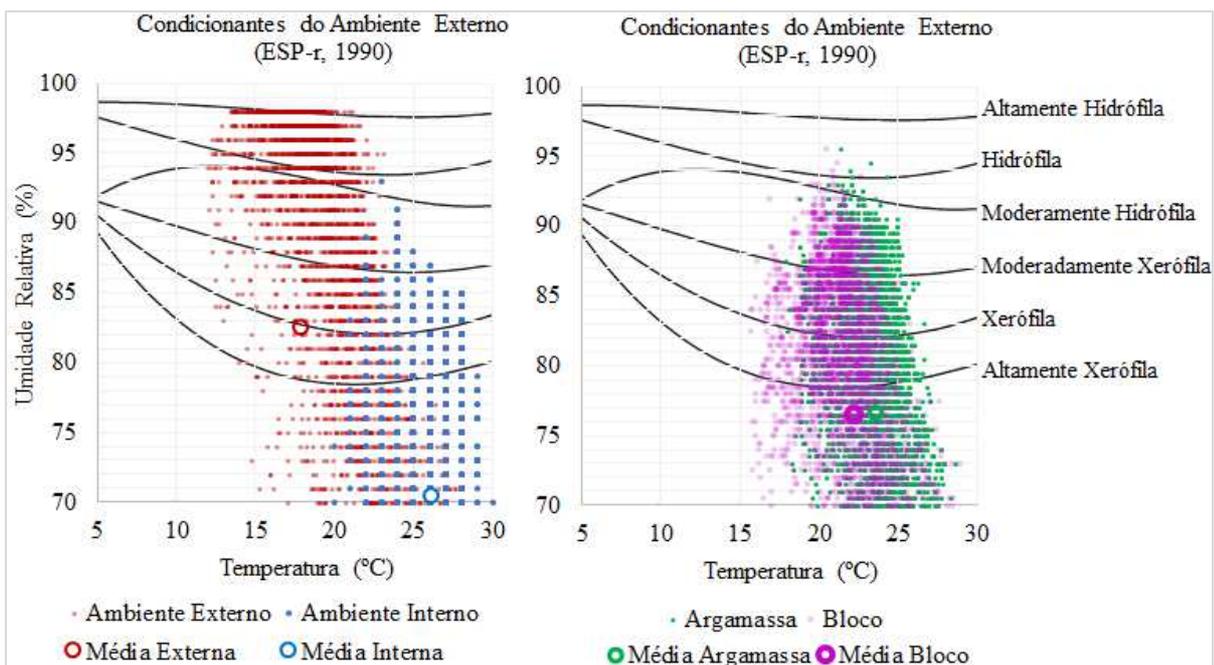
Já no elemento de vedação vertical, é possível observar ocorrências bem distribuídas entre as temperaturas de 20 a 30 graus. A argamassa foi aquela que apresentou mais aferições

em condições suficientes para o crescimento fúngico. A média dos pontos do elemento de vedação vertical, ou seja, da parede, equivale a um crescimento de aproximadamente 0,1 mm/dia. No entanto, cabe ressaltar que há muitas aferições onde foram registrados condicionantes suficientes para um crescimento de 1 mm/dia. Pela dispersão, é possível ver uma densidade maior de aferições entre os crescimentos de 0,01 mm/dia à 0,5 mm/dia. Assim, estima-se que o crescimento fúngico dentro da parede seja de aproximadamente 35,5 mm/ano.

4.4.1.2 Modelo ESP-r (1999)

Já o segundo modelo, ESP-r de Clarke *et al.* (1999), é possível ver os diferentes tipos de fungos (Gráfico 9). Desses, as espécies altamente xerófilas são as mais resistentes à temperatura e umidade: com apenas 15 graus de temperatura e umidade acima de 80% seu crescimento já é esperado. Como pode ser visto através da dispersão de pontos, o tipo xerófilo iria ocorrer tanto no ambiente interno e externo, quanto no elemento de vedação vertical. Este tipo de fungo é capaz de crescer em materiais de construção devido à suas propriedades de alta presença de sais e baixa atividade de água. O gênero *Aspergillus*, por exemplo, é xerófilo e foi encontrado no ponto 1 e 2 do estudo de caso deste trabalho; inclusive, é causador da doença aspergilose, infecção com altíssima taxa de mortalidade em pacientes imunodeprimidos.

Gráfico 9 – Modelo ESP-r (1999).



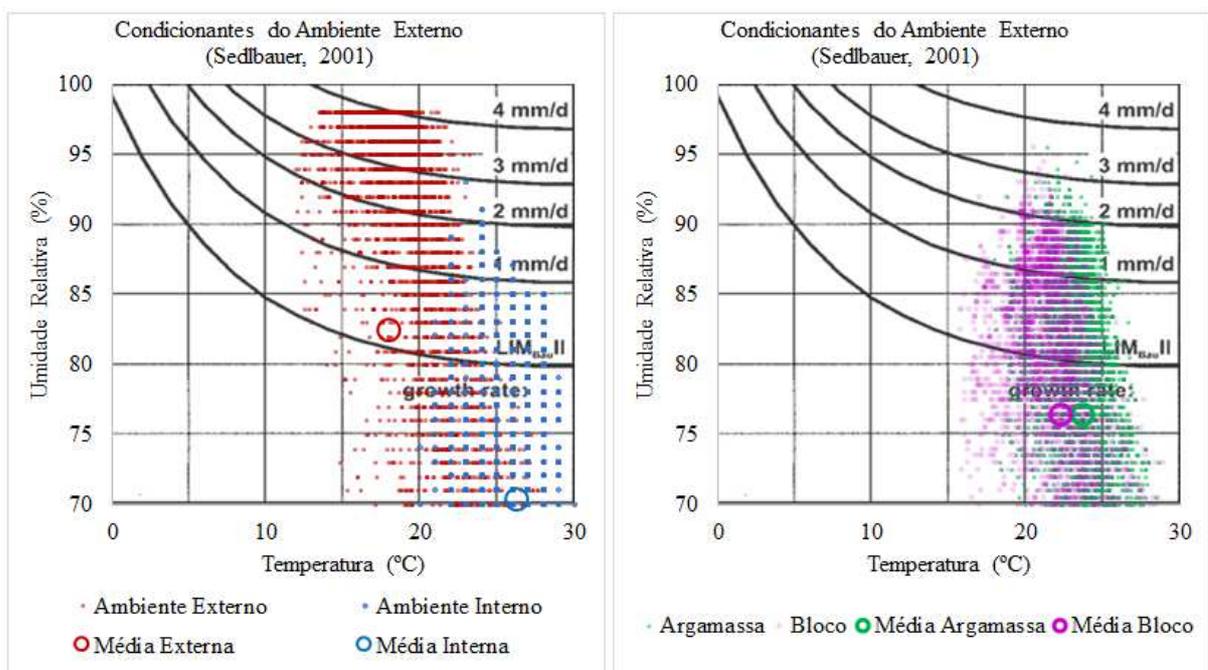
Fonte: Adaptado de Clarke *et al.* (1999).

Por outro lado, as espécies hidrofílicas, isto é, as que necessitam de maior atividade de água, cresceriam de forma mais frequente nos materiais de construção expostos ao ambiente externo, uma vez que neste as umidades relativas passam de 95%, e em alguns casos, atingem o ponto de saturação. No entanto, não se pode descartar o seu crescimento no elemento de vedação vertical, à medida que em alguns pontos há condições para seu crescimento; inclusive, neste estudo de caso, o gênero *Cladosporium* (hidrofílico) foi encontrado nos três pontos analisados.

4.4.1.3 Sedlbauer (2001)

Para a isopleta de Sedlbauer (2001), a média das condicionantes externas resultaria num crescimento menor que 1mm/dia nas edificações, conforme pode ser visto no Gráfico 10. Assim, espera-se que os materiais expostos à essas condições permitam o crescimento fúngico de aproximadamente 365 mm/ano. Pela dispersão dos pontos é possível verificar que no ambiente externo existe a possibilidade de ter um crescimento superior a 3mm/dia das colônias fúngicas.

Gráfico 10 – Isopleta de Sedlbauer (2001).



Fonte: Adaptado de Sedlbauer (2001).

Já para o ambiente interno, assim como para o elemento de vedação vertical, não haveria crescimento nas condições médias, uma vez que o método considera que a umidade limite para existência de crescimento fúngico é acima de 80%. Mesmo assim, o elemento de vedação vertical seria mais afetado (no seu interior) pelo crescimento fúngico do que o material de construção exposto às condições do ambiente interno (camada de tinta interna). Com este modelo não foi possível estimar o crescimento fúngico do ambiente interno e do elemento de vedação vertical por ficarem abaixo da linha limite de crescimento.

4.4.2 Tempo de Molhagem (TOW)

Segundo o modelo Tempo de Molhagem (ADAN, 1994), o ambiente externo é muito susceptível ao crescimento fúngico, à medida que seu TOW foi acima de 0,5 (Tabela 17). Isto é explicado pela alta frequência de aferições com umidades superiores a 80%, contabilizando para o coeficiente. Já o ambiente interno, assim como o elemento de vedação vertical (parede), teve seu TOW muito baixo, uma vez que apenas 12% e 44%, respectivamente, de suas aferições resultaram em umidades tão altas. Nestes ambientes não se espera um crescimento fúngico, resultado parecido com o encontrado no modelo de Sedlbauer (2001).

Tabela 17 – Tempo de molhagem.

TEMPO DE MOLHAGEM (TOW)	
Ambiente Interno	0,12
Parede (Bloco de Alv. e Argamassa)	0,44
Ambiente Externo	0,64

Fonte: Adaptado de Adan (1994).

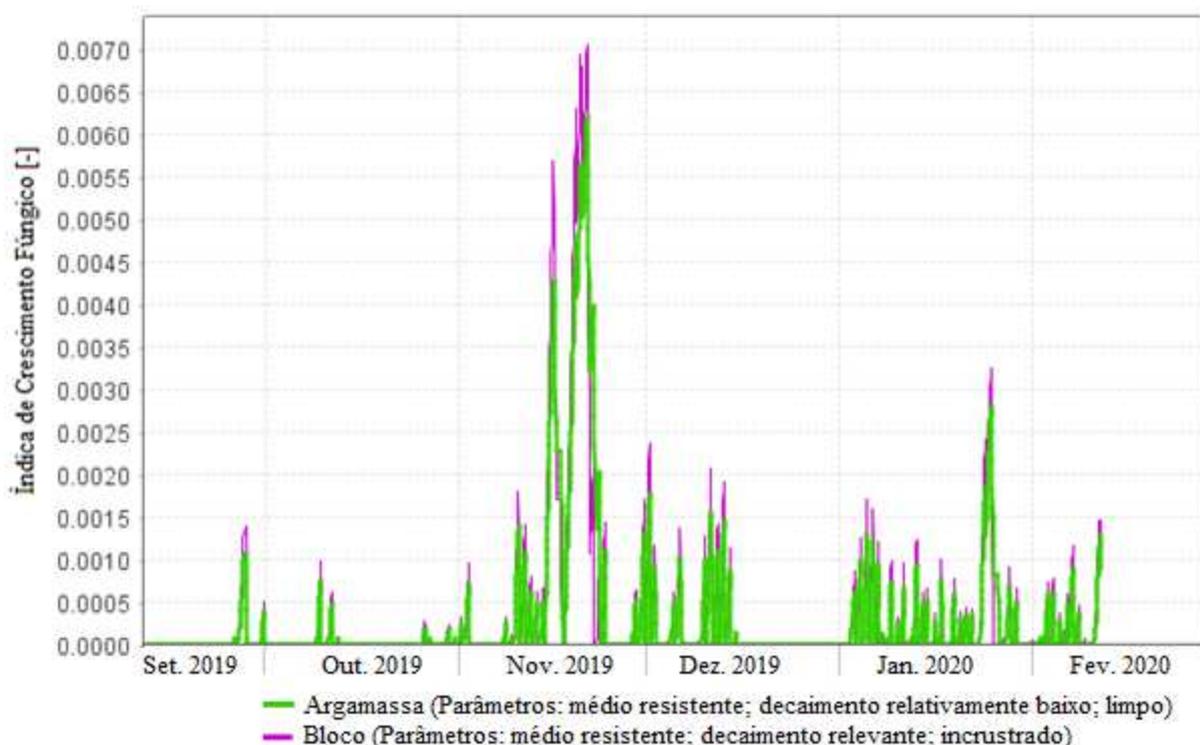
4.4.3 Hens

De acordo com o modelo de Hens (1999) houve crescimento fúngico apenas no ambiente externo, que ocorreu no dia 27/09, quando a umidade relativa foi superior a 95,8% por 48 horas seguidas. No ambiente interno e no elemento de vedação vertical, não houve crescimento em nenhum dos 154 dias, resultados parecidos com os modelos de Sedlbauer (2001) e Adan (1994).

4.4.4 Índice Fúngico VTT

Os resultados do modelo de previsão VTT para os materiais constituintes da parede de alvenaria (argamassa de revestimento e bloco cerâmico) são mostrados no Gráfico 11.

Gráfico 11 – Índice de crescimento fúngico VTT da parede.



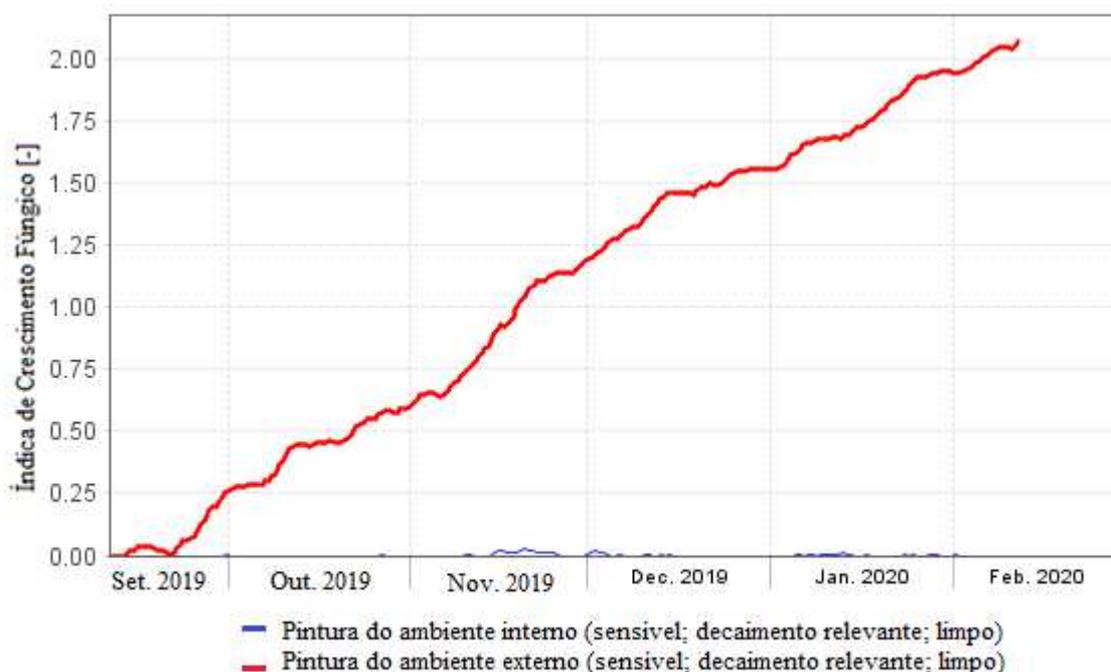
Fonte: Adaptado de WUFI VTT (2020).

Através do software é possível observar os meses que o crescimento fúngico ocorreu de forma mais acelerada, como o mês de novembro de 2019. Este mês registrou umidades relativas no revestimento acima de 80% por longos períodos. Outros meses, como outubro, o crescimento foi muito baixo por ter sido um mês mais seco em relação aos demais.

A câmara de argamassa resultou em um índice VTT de 0,006 e o bloco de alvenaria um índice de 0,007, sendo valores muito baixos, à medida que a faixa de valor aceitável segundo a ASHRAE 160 é menor que 1. De forma geral, foi possível ver que a camada de tijolo favoreceu mais o crescimento fúngico que a camada de argamassa interna, mas em ambas ele foi muito ameno.

Para analisar os materiais que serão expostos diretamente ao ambiente interno e externo utilizou-se os parâmetros do material “tinta para parede” e as condicionantes aferidas do ambiente interior e exterior.

Gráfico 12 – Índice VTT de materiais expostos aos ambientes.



Fonte: Adaptado de WUFI VTT (2020).

Conforme é apresentado no Gráfico 12, o índice do material exposto ao ambiente externo, isto é, o revestimento de tinta externa está sujeito a um índice de 2,08. A ASHRAE 160 define que o inaceitável é acima de 3, mas um valor entre 1 e 2 já carece de muita atenção, ainda mais este, que foi alcançado em menos de 6 meses de análise.

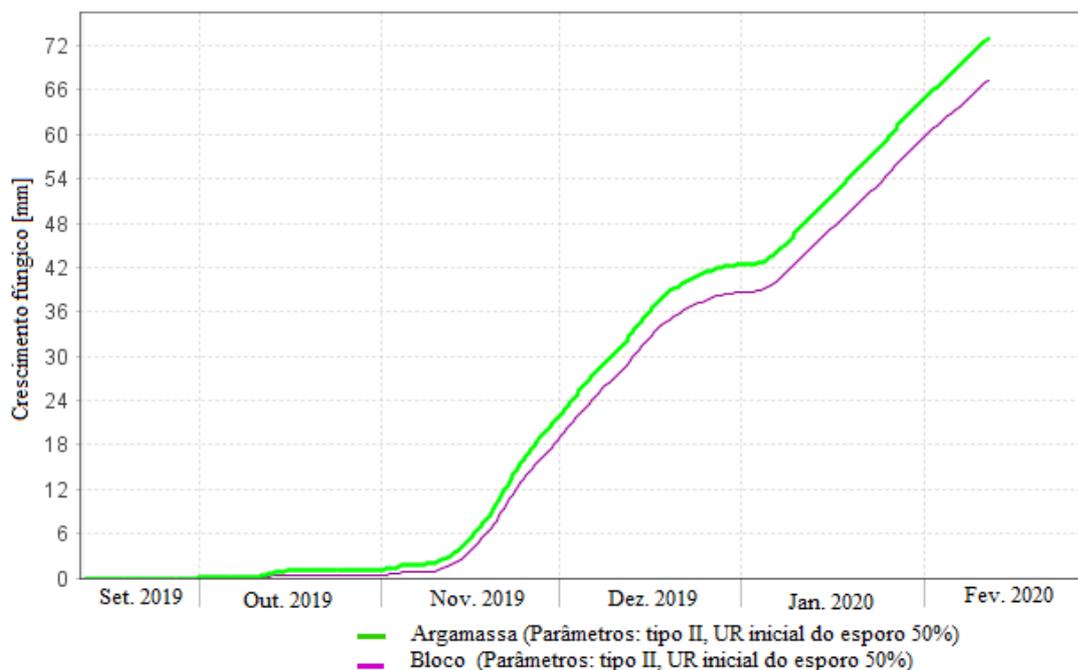
O software só permite mostrar a classificação final de crescimento com dados de, no mínimo, um ano. Assim, fez-se uma previsão baseada no comportamento histórico, no qual as condicionantes do início da análise (dia 11/09/2019) começaram a se repetir novamente depois do último dia de análise (dia 11/02/2019) formando um ciclo de repetição. Com estes dados foi possível estimar a previsão de crescimento fúngico dos materiais, sendo:

- a) camada de bloco e argamassa: “pequenas quantidades microscópicas de mofo na superfície” sendo aceitável;
- b) camada de tinta exposta ao ambiente interno: “pequenas quantidades microscópicas de mofo na superfície” sendo aceitável;
- c) camada de tinta exposta ao ambiente externo: “mofos visíveis a olho nu com cobertura de 10 – 50% do elemento ou acima de 50% de cobertura de mofo através do microscópio”, sendo inaceitável.

4.4.5 Modelo Biohigrotérmico

Pelo Modelo Biohigrotérmico (SEDLBAUER, 2002) e no Gráfico 13 é possível ver que o crescimento fúngico, que começa em novembro por conta de seus períodos com umidade superior a 80%, se estagna em dezembro e volta a crescer novamente em janeiro. Claramente, a argamassa interna seria um ambiente que possivelmente ocorreria um maior crescimento de fungos se comparado ao de tijolo. No período de análise, 5 meses, foi previsto um crescimento de 72 mm na argamassa e aproximadamente 66 mm no elemento de bloco de alvenaria. No ano, o software estima que haja um crescimento de cerca de 160 a 173 mm/ano, sendo este valor classificado como “amarelo”, que necessita de atenção ou de mais investigações.

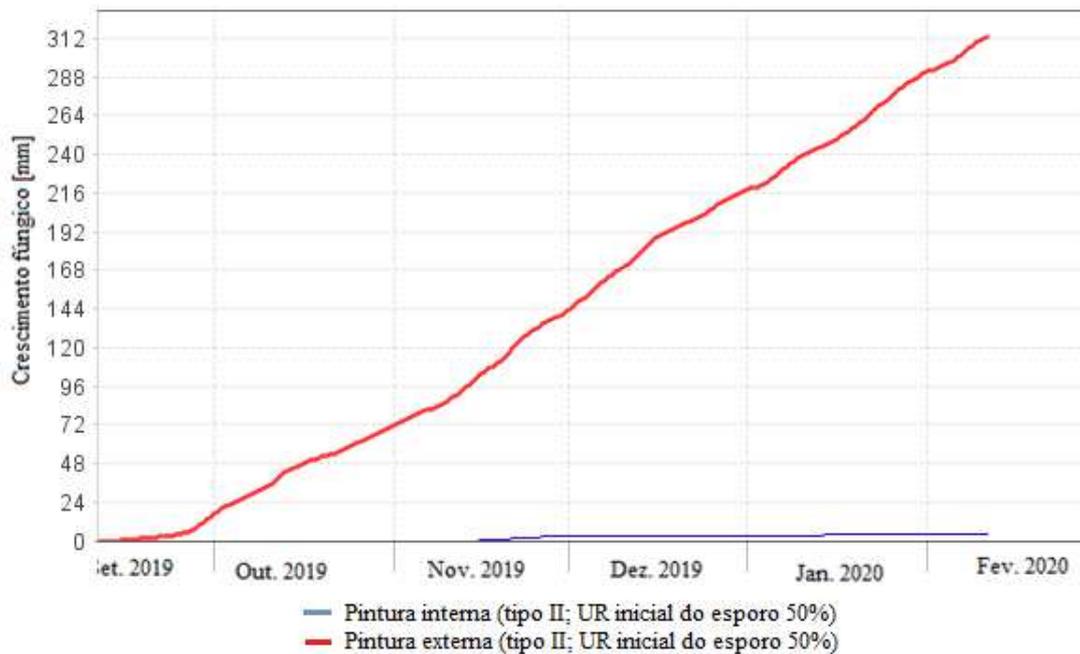
Gráfico 13 – Modelo biohigrotérmico do elemento de vedação.



Fonte: Adaptado de WUFI Bio (2020).

Para a camada de tinta exposta ao ambiente interno e externo utilizou-se as mesmas características da análise do elemento de vedação: tipo II com umidade relativa inicial do esporo de 50% (vide Gráfico 14).

Gráfico 14 – Modelo biohigrotérmico de materiais expostos aos ambientes.



Fonte: Adaptado de WUFI Bio (2020).

Conforme Gráfico 14 é possível ver o crescimento fúngico anual de materiais expostos ao ambiente interno, que chegou a 8,35 mm/ano, valor considerado muito baixo e aceitável. Já o material exposto às intempéries externas, isto é, a camada de tinta exterior, teria uma colonização fúngica com crescimento de 744 mm/ano, considerado um valor inaceitável, à medida que o máximo é 200 mm/ano.

4.4.6 Considerações Sobre os Modelos adotados

A Tabela 18 mostra uma análise comparativa entre os modelos de previsão de crescimento fúngico utilizados neste estudo.

Os métodos de isopleias têm uma característica em comum que é considerar principalmente a temperatura e umidade como condicionantes, desconsiderando outros parâmetros, como tempo de exposição. O método de Smith and Hill (1982) foi um dos primeiros a mostrar a estimativa de crescimento de fungos, no entanto, não faz diferenciação a respeito do tipo de substrato. Já o modelo ESP-r (CLARKE *et al.*, 1999) apresenta algumas desvantagens, como não considerar a presença de fungos com temperaturas superiores a 30° C (valores muito recorrentes em países como o Brasil) e não apresenta uma estimativa de crescimento, sendo apenas qualitativo. O último modelo de isopleia utilizado, proposto por

Sedlbauer (2001), foi o primeiro a considerar diferentes tipos de substrato. No entanto, os valores limites são encontrados em experimentos estacionários de laboratório, que para Vereecken e Roels (2012) é uma limitação, já que o método não considera uma secagem do esporo.

Tabela 18 – Análise comparativa entre modelos de previsão de crescimento fúngico.

	Isopletas			Time of Wetness (TOW)	Hens (1999)	VTT (2000)	Biohigro térmico (2002)
	Smith e Hill (1982)	ESP-r (1999)	Sedlbauer (2001)				
Temperatura	√	√	√		√	√	√
Umidade Relativa	√	√	√	√	√	√	√
Tempo de Exposição				√	√	√	√
Tipo de Substrato			√			√	√
Início do Crescimento		√	√	√	√	√	√
Estimativa do Crescimento	√		√			√	√
Limite de Crescimento	√	√	√	√	√	√	√
Software Computacional						√	√

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

O modelo Tempo de Molhagem (ADAN, 1994) possui um critério quantitativo de ocorrência de fungos, que é o valor 0,5, e analisa as variáveis de tempo de exposição e umidade relativa. No entanto, não podem ser feitas conclusões significativas em relação a este modelo, já que ele analisa apenas alguns substratos, limitando sua abrangência, devendo ser utilizado com outro método complementar.

O modelo de Hens (1999, 2006) trabalha com duas condicionantes em duas possíveis análises. A primeira análise é uma isopleta que apresenta a temperatura e umidade relativa limite para o começo do crescimento fúngico. A segunda análise, muito mais completa, mostra uma relação da umidade limite para cada tempo de exposição, sendo uma versão aperfeiçoada do Tempo de Molhagem de Adan (1994). Com este modelo é possível saber em quais dias específicos houve um crescimento fúngico. O método proposto é exigente pois não considera pequenas flutuações. Por exemplo, se um ambiente mantém uma umidade relativa do ar de 90% por 6 dias e no sétimo a umidade cai para 88% em determinada hora e logo depois volta para 90% por mais um dia, segundo o modelo, não haveria risco de germinação de fungos, simplesmente por causa de uma redução de 2% de UR em uma hora desses oito dias.

O modelo biohigrotérmio de Sedlbauer (2002) apresenta a quantidade de mofo em termos do tamanho de crescimento; já o VTT (Hukka; Viitanen, 1999; Viitanen, Hanhijärvi, Hukka, et al., 2000) usa um índice de seis níveis, cada qual com sua respectiva faixa de

crescimento. Ambos os modelos consideram diferentes substratos, mas o VTT apresenta diversas opções de materiais de construção enquanto o Modelo Biohigrotérmico tem apenas uma opção que representa todos os materiais de construção. Ambos os modelos analisam condicionantes ambientais e propriedades do material de construção, além de fazerem análises estatísticas através de seus programas computacionais; diante disso, estes são os mais eficazes e assertivos para se avaliar e prever o crescimento fúngico.

Conforme Tabela 19 é possível ver, através de todos os modelos de caráter qualitativo e quantitativo, as previsões do crescimento fúngico nos materiais de construção que compõe o elemento de vedação vertical do estudo de caso. Através dela, é possível afirmar:

- a) para todos os modelos, haverá o crescimento fúngico nos materiais expostos ao ambiente externo, este valor pode alcançar dimensões de até 744 mm/ano, número que irá causar prejuízo estético à edificação, assim como a seus ocupantes;
- b) nos materiais constituintes do elemento de vedação vertical (argamassa e bloco de alvenaria) a tendência é que não ocorra ou seja pouco provável o aparecimento de fungos e caso ocorra, não ultrapassará valores de 173 mm/ano, sendo aceitável;
- c) nos materiais expostos ao ambiente interno, a probabilidade é que não ocorra crescimento fúngico, e se ocorrer, será muito insignificante.

Tabela 19 – Resultado final da previsão de crescimento.

	Materiais expostos ao amb. externo	Materiais constituintes do elemento de vedação vertical	Materiais expostos ao amb. interno
Modelos qualitativos	Haverá crescimento nos elementos de vedação?		
ESP-r (1999)	Sim	Pouco provável	Pouquíssimo provável
Time of Wetness (TOW)	Sim	Não	Não
Hens (1999)	Sim	Não	Não
VTT (2000)	Sim	Pouco provável	Pouquíssimo provável
Modelos Quantitativos	Estimativa do Crescimento (mm/ano)		
Smith e Hill (1982)	36,5 - 182,5	35,5	< 3,65
Sedlbauer (2001)	< 365	≅0	≅0
Modelo Biohigrotérmico	744	160 - 173	8,35

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

5 CONCLUSÃO

Este trabalho apresentou uma proposta de sistemática para investigação da presença de fungos em elementos de vedação vertical de edificações, vulgo paredes, através de um estudo de caso em ambiente hospitalar, devido às consequências que estes organismos podem causar neste tipo de edificação e em seus usuários.

Com base no estudo de caso, foi possível observar que o ponto mais úmido (ponto 2) foi aquele onde ocorreram o maior número de unidades formadoras de colônia nas amostras. Este ponto está exposto a intempéries externas, mas diferentemente do local 1, não recebe luz solar direta, o que impede a evaporação de sua umidade e conseqüentemente a secagem de esporos. Além disso, neste ponto abrigou-se duas das três espécies que mais oferecem risco à edificação e a seus ocupantes; no caso deste estudo: o hospital e seus pacientes. Quanto ao tipo de material constituinte do elemento de vedação vertical, a camada de tinta foi aquela que abrigou o maior número de colônias fúngicas, uma vez que está exposta aos aerossóis do ambiente interno, que podem conter uma gama de esporos fúngicos. Já a camada de argamassa, que é a segunda mais exposta, foi a que possuía o menor número de colônias, uma vez que os materiais a base de cimento são muito adversos a estes microrganismos.

Como em outros trabalhos, os gêneros que foram mais encontrados foram o *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Penicillium*; que são responsáveis por causar a desfiguração estética das edificações em tonalidades escuras e esverdeadas, além de serem uma das causas da síndrome do edifício doente. Dos fungos encontrados que necessitam de maior atenção, os gêneros *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Bipolaris* são aqueles que possuem a maior capacidade de se instalar em materiais de construção, e concomitantemente, de serem o possível agente de infecções hospitalares.

Nos procedimentos adotados foi possível observar a capacidade da edificação, especificamente o elemento de vedação vertical, em absorver as oscilações de temperatura, configurando sua capacidade isolante. Esta característica influenciaria na redução do crescimento fúngico, uma vez que limita a condensação de vapores nas superfícies construtivas internas, sendo a possível fonte de umidade local. Portanto, através dos modelos de previsão de crescimento fúngico foi possível concluir que nos materiais de construção expostos ao ambiente externo ocorrerá o crescimento e estabilização de fungos, em valores que podem alcançar mais de 700 mm/ano. Já nos materiais constituintes do interior do elemento de vedação vertical e aqueles expostos ao ambiente interior, também haveria um crescimento, no entanto, de forma mais amena e possivelmente imperceptível. Assim, é possível constatar a capacidade da

edificação de proteger as áreas internas das intempéries, que neste estudo de caso, foi satisfatória.

Os modelos de estimativa de crescimento fúngico auxiliaram a prever a proliferação de fungos para que medidas possam ser adotadas. Muito destes métodos não tem critério de aceitação e alguns deles desconsideram as condicionantes dos substratos, como o pH, a presença de nutrientes, porosidade e rugosidade; fatores que influenciam diretamente o aparecimento de mofos e bolores em uma superfície. Apesar da limitação, as metodologias são passíveis de serem utilizadas, principalmente se usadas em conjunto ou em análises comparativas. Assim, ressalta-se que é necessário a criação de um modelo mais completo, que consiga analisar a presença de fungos e de todas suas condicionantes de crescimento, assim como as do substrato, de forma mais holística possível.

A sistemática apresentada foi satisfatória para se estudar a contaminação por fungos no interior de elementos verticais, uma vez que foi possível encontrar gêneros associados ao ambiente construído; cabe, no entanto, avaliar sua reprodutibilidade. O trabalho contribuiu, através das técnicas propostas, com novas formas de se investigar a presença destes microrganismos nas edificações, principalmente no ambiente hospitalar, visto que as consequências nesses locais são mais prejudiciais.

5.1 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Recomenda-se, para trabalhos futuros:

- a) o estudo de um ambiente com controle fúngico maior, como em centros cirúrgicos e salas de transplantados, para que então seja possível sugerir medidas eficazes no controle e combate ao crescimento fúngico em superfícies construtivas;
- b) a avaliação da reprodutibilidade da metodologia proposta neste estudo;
- c) considerar os esporos fúngicos presentes no ar, fazendo sua coleta e análise, e relacionando-os com as espécies fúngicas presentes nos materiais de construção, para entender sua real influência;
- d) a análise de um maior número de pontos de coleta em diferentes ambientes, com alturas e níveis de exposição a luz solar diferentes, a fim de se avaliar a real relação destas duas condicionantes com a contaminação fúngica em materiais de construção;
- e) a avaliação de outras condicionantes dos materiais de construção como a rugosidade e a porosidade dos materiais, assim como sua capacidade de absorção de água;

- f) a otimização no procedimento de identificação de amostras de modo que nenhuma delas se perca durante o processamento;
- g) a criação de novos produtos e métodos que combatam a proliferação de fungos no ambiente construído.

REFERÊNCIAS

- ADAN, O. **On the Fungal Defacement of Interior Finishes**. 1994. Dissertação (Mestrado) - University of Technology, Eindhoven, 1994.
- AIRA, M. J.; JATO, V.; STCHIGEL, A. M.; RODRÍGUEZ-RAJO, F. J.; PIONTELLI, E. Aeromycological study in the Cathedral of Santiago de Compostela (Spain). **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 60, n. 4, p. 231-237, 2007.
- AIRA, M. J.; ROJAS, T. I.; JATO, V. Fungi associated with three houses in Havana (Cuba). **Grana**, v. 41, n. 2, p. 114-118, 2002.
- ALLSOP, D.; SEAL, K. J. **Introduction to Biodeterioration**. Edward Arnold, London, 1986.
- AMERICAN SOCIETY OF HEATING, REFRIGERATING AND AIR-CONDITIONING (ASHRAE). **BSR/ASHRAE Standard 160: Design Criteria for Moisture Control in Buildings**. Atlanta, GA, 2016.
- ANDRADE, D.; ANGERAMI, E. L. S.; PADOVANI, C. R. Condição microbiológica dos leitos hospitalares antes e depois de sua limpeza. **Revista de Saúde Pública**, v. 34, p. 163-169, 2000.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15220-2: Desempenho Térmico de Edificações-Parte 2: Métodos de cálculo da transmitância térmica, da capacidade térmica, do atraso térmico e do fator de calor solar de elementos e componentes de edificações**. Rio de Janeiro. ABNT, 2003.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 9241-11: Requisitos ergonômicos para trabalho de escritório com computadores: parte 11 - orientação sobre usabilidade**. Rio de Janeiro. ABNT, 2011.
- AYERST, G. The effects of moisture and temperature on growth and spore germination in some fungi. **Journal of stored products research**, v. 5, n. 2, p. 127-141, 1969.
- BASHIR, G.; HUSSAIN, W.; RIZVI, A. Bipolaris hawaiiensis keratomycosis and endophthalmitis. **Mycopathologia**, v. 167, n. 1, p. 51, 2009.
- BECKER, R. Condensation and mould growth in dwellings—parametric and field study. **Building and Environment**, v. 19, n. 4, p. 243-250, 1984.
- BEUCHAT, L. R.; HWANG, C.-A. Evaluation of modified dichloran 18% glycerol (DG18) agar for enumerating fungi in wheat flour: a collaborative study. **International journal of food microbiology**, v. 29, n. 2-3, p. 161-166, 1996.
- BOUZA, E.; PELAEZ, T.; PEREZ-MOLINA, J.; MARIN, M.; ALCALA, L.; PADILLA, B.; MUÑOZ, P. Demolition of a hospital building by controlled explosion: the impact on filamentous fungal load in internal and external air. **Journal of Hospital Infection**, v. 52, n. 4, p. 234-242, 2002.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Brasileira de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Padronização dos testes de sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão**. Janeiro de 2003.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância (ANVISA). **Boletim Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº 17**: avaliação dos indicadores nacionais das infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) e resistência microbiana. Janeiro de 2017.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Institui ações para a segurança do paciente em serviços de saúde e dá outras providências**. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 36. 25 de julho de 2013.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Regulamento Técnico para planejamento, programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de EAS**. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 50. 21 de fevereiro de 2002.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). **Roteiro de inspeção do programa de controle de infecção hospitalar**. RDC nº 30. 4 de julho de 2011.
BRASIL, Ministério do Trabalho e Emprego. **NR 17 – Ergonomia. Segurança e Medicina do Trabalho**. 75ª edição, São Paulo: Editora Atlas, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Orientação Técnica sobre Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior, em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo**. Resolução n. 09. 16 de janeiro de 2003.

BREITENBACH, M.; SIMON-NOBBE, B. The allergens of *Cladosporium herbarum* and *Alternaria alternata*. **Chemical immunology**, v. 81, p. 48-72, 2002.

BROWN, G. D.; DENNING, D. W.; GOW, N. A.; LEVITZ, S. M.; NETEA, M. G.; WHITE, T. C. Hidden killers: human fungal infections. **Science translational medicine**, v. 4, n. 165, p. 165rv13-165rv13, 2012.

CAPPITELLI, F.; SALVADORI, O.; ALBANESE, D.; VILLA, F.; SORLINI, C. Cyanobacteria cause black staining of the National Museum of the American Indian Building, Washington, DC, USA. **The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research**, v. 28, p. 257-266, 2012.

CARLILE, M. J.; WATKINSON, S. C.; GOODAY, G. W. **The fungi**. Gulf Professional Publishing, 2001.

CARLING, P. Methods for assessing the adequacy of practice and improving room disinfection. **American journal of infection control**, v. 41, n. 5, p. S20-S25, 2013.

CASTELLANI, A. Maintenance and cultivation of common pathogenic fungi of man in sterile distilled water. Further researches. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 70, n. 8, p. 181-&, 1967.

CHABROL, A.; CUZIN, L. HUGUET, F.; ALVAREZ, M.; VERDEIL, X.; LINAS, M. D.; CASSAING, S.; GIRON, J.; TETU L.; ATTAL M.; RÉCHER, C. Prophylaxis of invasive aspergillosis with voriconazole or caspofungin during building work in patients with acute leukemia. **haematologica**, v. 95, n. 6, p. 996-1003, 2010.

CHANG, C. C.; ANANDA-RAJAH, M.; BELCASTRO, A.; MCMULLAN, B.; REID, A.; DEMPSEY, K.; ATHAN, E.; CHENG, A. C.; SLAVIN, M. A. Consensus guidelines for implementation of quality processes to prevent invasive fungal disease and enhanced surveillance measures during hospital building works, 2014. **Internal medicine journal**, v. 44, n. 12b, p. 1389-1397, 2014.

CHANG, C. C.; ATHAN, E.; MORRISSEY, C. O.; SLAVIN, M. A. Preventing invasive fungal infection during hospital building works. **Internal medicine journal**, v. 38, n. 6b, p. 538-541, 2008.

CLARKE, J. A.; JOHNSTONE, C. M.; KELLY, N. J.; MCLEAN, R. C.; ROWAN, N. J.; SMITH, J. E. A technique for the prediction of the conditions leading to mould growth in buildings. **Building And Environment**, [s.l.], v. 34, n. 4, p.515-521, jul. 1999.

CRISPIM, Cezar A.; GAYLARDE, Peter M.; GAYLARDE, Christine C.. Algal and Cyanobacterial Biofilms on Calcareous Historic Buildings. **Current Microbiology**, [s.l.], v. 46, n. 2, p.79-82, 1 fev. 2003.

CURTIS, L.; CALI, S.; CONROY, L.; BAKER, K.; OU, C. H.; HERSHOW, R.; NORLOCK-CRUZ, F; SCHEFF, P. Aspergillus surveillance project at a large tertiary-care hospital. **Journal of Hospital Infection**, v. 59, n. 3, p. 188-196, 2005.

CUTLER, N.; VILES, H. Eukaryotic Microorganisms and Stone Biodeterioration. **Geomicrobiology Journal**, v.27, p. 6-7, 630-646, 2010.

DA SILVA, C. C.; PRESGRAVE, O. A. F.; DE MORAES, A. M. L.; DELGADO, I. F. Avaliação microbiológica da qualidade do ar de interiores: aspectos legais e metodológicos. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 10, n. 1, p. 51-60, 2012.

DANIN, A.; CANEVA, G. Deterioration of limestone walls in Jerusalem and marble monuments in Rome caused by cyanobacteria and cyanophilous lichens. **International Biodeterioration**, [s.l.], v. 26, n. 6, p.397-417, jan. 1990.

DE LA TORRE, M. A., GOMEZ-ALARCON, G. VIZCAINO, C., GARCIA, T. Biochemical mechanisms of stone alteration carried out by filamentous fungi living in monuments. **Biogeochemistry**, v.19, p.129-147, 1993.

DEAK, T.; CHEN, J.; GOLDEN, D. A.; TAPIA, M. S.; TORNAI-LEHOCZKI, J.; VILJOEN, B. C.; WYDER, M. T.; BEUCHAT, L. R. Comparison of dichloran 18% glycerol (DG18) agar with general purpose mycological media for enumerating food spoilage yeasts. **International journal of food microbiology**, v. 67, n. 1-2, p. 49-53, 2001.

DENNING, D. W. Therapeutic outcome in invasive aspergillosis. **Clinical infectious diseases**, v. 23, n. 3, p. 608-615, 1996.

EGHTEDARI, M. Asyptomatic fungal cyst of conjunctiva caused by *Bipolaris spicifera*. **Iranian Journal of Medical Sciences**, v. 31, n. 1, p. 56-58, 2006.

EL KHIZZI, N.; BAKHESHWAIN, S.; PARVEZ, S. *Bipolaris*: a plant pathogen causing human infections: an emerging problem in Saudi Arabia. **Res J Microbiol**, v. 5, n. 3, p. 212-7, 2010.

FERREIRA, A. M.; ANDRADE, D. D.; RIGOTTI, M. A.; ALMEIDA, M. T. G. D.; GUERRA, O. G.; SANTOS JUNIOR, A. G. D. Evaluación de la desinfección de superficies hospitalarias por diferentes métodos de monitorización. **Rev. Latino-Am. Enfermagem**, v. 23, n. 3, p. 466-474, 2015.

FILIZZOLA, M. J.; MARTINEZ, F.; RAUF, S. J. Phaeohyphomycosis of the central nervous system in immunocompetent hosts: report of a case and review of the literature. **International journal of infectious diseases**, v. 7, n. 4, p. 282-286, 2003.

FLORIAN, M.; MANNING, L. SEM analysis of irregular fungal fox spots in an 1854 book: population dynamics and species identification. **International biodeterioration & biodegradation**, v. 46, n. 3, p. 205-220, 2000.

GAIO, A.; TEIXEIRA, M. L.; FUENTEFRIA, A. M. Incidência de fungos anemófilos do gênero *Aspergillus* presentes no ar durante o período de reforma em ambiente hospitalar. **Revista brasileira de análises clínicas**. Rio de Janeiro. Vol. 43, n. 1 (2011), p. 42-45, 2011.

GARCIA, J. C. R. Microbiología aplicada: una herramienta para la conservación del Patrimonio Cultural. **Conservar Património**, v.24, p.23-36, 2016.

GARNAUD, Cécile *et al.* Seven-year surveillance of nosocomial invasive aspergillosis in a French University Hospital. **Journal of Infection**, v. 65, n. 6, p. 559-567, 2012.

GAYLARDE, C. C.; GAYLARDE, P.M. A comparative study of the major microbial biomass of biofilms on exteriors of buildings in Europe and Latin America. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.55, p. 131-139, 2005.

GAYLARDE, C. C.; MORTON, L. H. G. Deteriogenic biofilms on buildings and their control: A review. **Biofouling**, [s.l.], v. 14, n. 1, p.59-74, jun. 1999.

GIL, A. C. **Pesquisa Social: métodos e técnicas de pesquisa**. 5ª ed. São Paulo: Atlas, 2012.
GÓMEZ-ALARCÓN, G.; MUNOZ, M. L.; FLORES, M. Excretion of organic acids by fungal strains isolated from decayed sandstone. **International biodeterioration & biodegradation**, v. 34, n. 2, p. 169-180, 1994.

GORBUSHINA A. A. Life on the rocks. **Environmental Microbiology**, v.9, p.1613–1631, 2007.

GRANT, C.; HUNTER, C. A.; FLANNIGAN, B.; BRAVERY, AF. The moisture requirements of moulds isolated from domestic dwellings. **International Biodeterioration**. v. 25, p. 259-284, 1989.

GRIFFIN, P. S.; INDICTOR, N.; KOESTLER, R. J. The biodeterioration of stone: a review of deterioration mechanisms, conservation case histories, and treatment. **International Biodeterioration**, [s.l.], v. 28, n. 1-4, p.187-207, jan. 1991.

GUGLIELMO, F.; GONTHIER, P.; GARBELOTTO, M.; NICOLOTTI, G. Optimization of sampling procedures for DNA-based diagnosis of wood decay fungi in standing trees. **Letters in applied microbiology**, v. 51, n. 1, p. 90-97, 2010.

GUIAMET, P.; BORREGO, S.; LAVIN, P.; PERDOMO, I.; DE SARAVIA, S. G. Biofouling and biodeterioration in materials stored at the Historical Archive of the Museum of La Plata, Argentine and at the National Archive of the Republic of Cuba. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 85, n. 2, p. 229-234, 2011.

HAWKSWORTH, D. L. The magnitude of fungal diversity: the 1· 5 million species estimate revisited. **Mycological research**, v. 105, n. 12, p. 1422-1432, 2001.

HELENE, P. R. L. Contribuição ao estudo da corrosão em armaduras de concreto armado. **São Paulo**, v. 231, p. 14, 1993.

HENS H. **Mold in dwellings**: field studies in a moderate climate. Annex 41, Subtask 4, Kyoto meeting; 2006.

HENS, H. L. S. C. Fungal defacement in buildings: A performance related approach. **HVAC&R Research**, v. 5, n. 3, p. 265-280, 1999.

HERNANDEZ, M.; MARCHAND, E. A.; ROBERTS, D.; PECCIA, J. In situ assessment os active *Thiobacillus* species in corroding concrete sewers using fluorescent RNA probes. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 49, p. 271-276, 2002.

HOCKING, A. D.; PITT, J. I. Dichloran-glycerol medium for enumeration of xerophilic fungi from low-moisture foods. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 39, n. 3, p. 488-492, 1980.

HOPKINS, W. G. Correlation coefficient: a new view of statistics. 2000.

HUECK, H. J. The biodeterioration of materials—an appraisal. **International Biodeterioration & Biodegradation**, [s.l.], v. 48, n. 1-4, p.5-11, jan. 2001.

HUKKA, A.; VIITANEN, H. A. A mathematical model of mould growth on wooden material. **Wood Science and Technology**, v. 33, n. 6, p. 475-485, 1999.

HUNTER, C. A.; GRANT, C.; FLANNIGAN, B.; BRAVERY, A. F. Mould in buildings: the air spora of domestic dwellings. **International biodeterioration**, v. 24, n. 2, p. 81-101, 1988.
ISAIA, G., 2007. **Materiais de Construção Civil e princípio de ciência e engenharia de materiais**. São Paulo: IBRACON, 2v., 1712p.

ISHFAQ, S.; ALI, N.; TAUSEEF, I.; KHATTAK, M. N. K.; SHINWARI, Z. K., ALI, M. I. Analysis of paint degradation by fungal and bacterial species. **Pakistan Journal of Botany**, v. 47, p. 753-760, 2015.

KARBOWSKA-BERENT, J.; GÓRNY, R. L.; STRZELCZYK, A. B.; WLAZŁO, A. Airborne and dust borne microorganisms in selected Polish libraries and archives. **Building And Environment**, [s.l.], v. 46, n. 10, p.1872-1879, out. 2011.

KIEL, G.; GAYLARDE, C. C. Diversity of salt-tolerant culturable aerobic microorganisms on historic buildings in Southern Brazil. **World Journal Of Microbiology And Biotechnology**, [s.l.], v. 23, n. 3, p.363-366, 26 jul. 2006.

KIM, K. Y.; KIM, C. N. Airborne microbiological characteristics in public buildings of Korea. **Building and Environment**, v. 42, n. 5, p. 2188-2196, 2007.

KING, S. Building for conservation: appropriate design for environmental control in the tropics. **Cultural Heritage in Asia and the Pacific: Conservation and Policy** (MGH MacLean, ed.). Getty Conservation Institute, Marina del Rey, California, p. 77-98, 1993.

KOMSHIAN, S. V.; UWAYDAH, A. K.; SOBEL, J. D.; CRANE, L. R. Fungemia caused by *Candida* species and *Torulopsis glabrata* in the hospitalized patient: frequency, characteristics, and evaluation of factors influencing outcome. **Reviews of infectious diseases**, v. 11, n. 3, p. 379-390, 1989.

KOSHY, S.; DANIEL, EBENEZER. Bipolaris keratomycosis in a leprosy patient: a case report. **Leprosy review**, v. 73, n. 1, p. 76-78, 2002.

LATHAM, R. H. Bipolaris spicifera meningitis complicating a neurosurgical procedure. **Scandinavian journal of infectious diseases**, v. 32, n. 1, p. 102-103, 2000.

LIECKFELDT, E., MEYER, W.; BORNER, T., Rapid identification and differentiation of yeast by DNA and PCR fingerprinting. **Journal. Basic Microbiology**, v. 33, p. 413-426, 1993.

LIGNELL, U. Characterization of microorganisms in indoor environments. **Publications of the National Public Health Institute**, ISSN 0359-3584; 1458-6290, 2008.

LIM, G.; TAN, T. K.; TOH, A. The fungal problem in buildings in the humid tropics. **International biodeterioration**, v. 25, n. 1-3, p. 27-37, 1989.

LJALJEVIĆ-GRBIĆ, M.; STUPAR, M.; VUKOJEVIĆ, J.; GRUBIŠIĆ, D. In vitro antifungal and demelanizing activity of *Nepeta rtanjensis* essential oil against the human pathogen *Bipolaris spicifera*. **Archives of Biological Sciences**, v. 63, n. 3, p. 897-905, 2011.

LUGAUSKAS, A.; LEVINSKAIT, L.; PEČIULYT, D. Micromycetes as deterioration agents of polymeric materials. **International biodeterioration & biodegradation**, v. 52, n. 4, p. 233-242, 2003.

MACHER, J. M.; MENDELL, M. J.; CHEN, W.; KUMAGAI, K. Development of a method to relate the moisture content of a building material to its water activity. **Indoor Air**, p. 1-10, 2016.

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; DA SILVA, M. H. L.; ZOGHBI, M. G. B. A new chemotype of *Eugenia uniflora* L. from North Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 11, n. 6, p. 727-729, 1999.

MARTINS-DINIZ, J. N.; SILVA, R. A. M. D.; MIRANDA, E. T.; MENDES-GIANNINI, M. J. S. Monitoramento de fungos anemófilos e de leveduras em unidade hospitalar. **Revista de Saúde Pública**, v. 39, p. 398-405, 2005.

MEKLIN, Teija *et al.* Quantitative PCR analysis of house dust can reveal abnormal mold conditions. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 6, n. 7, p. 615-620, 2004.

MINITAB, INC. Minitab version 16.1.0. Pennsylvania: State College; 2010.

NIELSEN, K. F.; HOLM, G.; UTTRUP, L. P.; NIELSEN, P. A. Mould growth on building materials under low water activities. Influence of humidity and temperature on fungal growth and secondary metabolism. **International Biodeterioration & Biodegradation**, [s.l.], v. 54, n. 4, p.325-336, dez. 2004.

NIKULIN, M.; PASANEN, A. L.; BERG, S.; HINTIKKA, E. X. Stachybotrys atra growth and toxin production in some building materials and fodder under different relative humidities. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 60, n. 9, p. 3421-3424, 1994.

NIKULIN, M.; PASANEN, A. L.; BERG, S.; HINTIKKA, E. X. Stachybotrys atra growth and toxin production in some building materials and fodder under different relative humidities. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 60, n. 9, p. 3421-3424, 1994.

NUGARI, M.; ROCCARDI, A. Aerobiological investigations applied to the conservation of cultural heritage. **Aerobiologia**, v. 17, n. 3, p. 215-223, 2001.

OPAL, S. M.; ASP, A. A.; CANNADY, P. B.; MORSE, P. L.; BURTON, L. J.; HAMMER, P. G. Efficacy of infection control measures during a nosocomial outbreak of disseminated aspergillosis associated with hospital construction. **The Journal of infectious diseases**, v. 153, n. 3, p. 634-637, 1986.

OREN, I.; HADDAD, N.; FINKELSTEIN, R.; ROWE, J. M. Invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients during hospital construction: before and after chemoprophylaxis and institution of HEPA filters. **American journal of hematology**, v. 66, n. 4, p. 257-262, 2001.

ORTEGA-CALVO, J. J.; ARIÑO, X.; HERNANDEZ-MARINE, M.; SAIZ-JIMENEZ, C. Factors affecting the weathering and colonization of monuments by phototrophic microorganisms. **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 167, n. 1-3, p.329-341, maio 1995.

PARK, Stacy J.; MEHRAD, Borna. Innate immunity to Aspergillus species. **Clinical microbiology reviews**, v. 22, n. 4, p. 535-551, 2009.

PESSI, A. M.; SUONKETO, J.; PENTTI, M.; KURKILAHTI, M.; PELTOLA, K.; RANTIO-LEHTIMÄKI, A. Microbial growth inside insulated external walls as an indoor air biocontamination source. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 68, n. 2, p. 963-967, 2002.

PETRUCCI, H. M. C. Manchamento das fachadas dos edificios por partículas de contaminação atmosférica: interação entre as condições ambientais e a forma construída. In: ENCONTRO

NACIONAL DE TECNOLOGIA DO AMBIENTE CONSTRUÍDO, 9, 2002, Foz do Iguaçu. **Anais...** [S.l.]: [s.n.], 2002.

PIÑAR, G.; RAMOS, C.; RÖLLEKE, S.; SCHABEREITER-GURTNER, C., VYBIRAL, D.; LUBITZ, W.; DENNER, E. B. Detection of Indigenous Halobacillus Populations in Damaged Ancient Wall Paintings and Building Materials: Molecular Monitoring and Cultivation. **Applied and Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 67, n. 10, p.4891-4895, 1 out. 2001.

PIÑAR, G.; RIPKA, K., WEBER, J.; STERFLINGER, K. The micro-biota of a sub-surface monument the medieval chapel of St. Virgil (Vienna, Austria). **International Biodeterioration & Biodegradation**, [s.l.], v. 63, n. 7, p.851-859, out. 2009.

PINI, G.; FAGGI, E.; DONATO, R.; SACCO, C.; FANCI, R. Invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients and the influence of hospital renovation. **Mycoses**, v. 51, n. 2, p. 117-122, 2008.

POKALA, H. R.; LEONARD, D.; COX, J.; METCALF, P.; MCCLAY, J.; SIEGEL, J.; WINICK, N. Association of hospital construction with the development of healthcare associated environmental mold infections (HAEMI) in pediatric patients with leukemia. **Pediatric blood & cancer**, v. 61, n. 2, p. 276-280, 2014.

PONIZOVSKAYA, V. B.; REBRIKOVA, N. L.; KACHALKIN, A. V., ANTROPOVA, A. B.; BILANENKO, E. N.; MOKEEVA, V. L. Micromycetes as colonizers of mineral building materials in historic monuments and museums. **Fungal Biology**, [s.l.], p.1-17, jan. 2019.

PORTUGAL. Decreto-Lei nº 80/2006 de 4 de abril. Estabelece a Norma Técnica NTSCE02- Metodologia para Auditorias periódicas de qualidade do ar interior em edificios existentes no âmbito do RSECE. **Diário Republica**. Portugal, 4 abr 2006.

QUAGLIARINI, E.; GIANANGELI, A.; D'ORAZIO, M.; GREGORINI, B.; OSIMANI, A.; AQUILANTI, L.; CLEMENTI, F. Effect of temperature and relative humidity on algae biofouling on different fired brick surfaces. **Construction And Building Materials**, [s.l.], v. 199, p.396-405, fev. 2019.

RANALLI, G.; CHIAVARINI, M.; GUIDETTI, V.; MARSALA, F.; MATTEINI, M.; ZANARDINI, E.; SORLINI, C. The use of microorganisms for the removal of sulphates on artistic stoneworks. **International biodeterioration & biodegradation**, v. 40, n. 2-4, p. 255-261, 1997.

RAVIV, Y.; KRAMER, M. R.; AMITAL, A.; RUBINOVITCH, B.; BISHARA, J.; SHITRIT, D. Outbreak of aspergillosis infections among lung transplant recipients. **Transplant International**, v. 20, n. 2, p. 135-140, 2007.

RIBAS SILVA, M.; SILVA, E.F.; SHIRAKAWA, M. Biodeterioration of reinforced the concrete of the Nacional Theatre of Brasília – A preliminar study. **Cemento Hormigon**. 867. P. 14-24, 2004.

ROJAS, T. I.; AIRA, M. J.; BATISTA, A.; CRUZ, I. L.; GONZÁLEZ, S. Fungal biodeterioration in historic buildings of Havana (Cuba). **Grana**, v. 51, n. 1, p. 44-51, 2012.

ROJAS, T. I.; MARTÍNEZ, E.; AIRA, M. J.; ALMAGUER, M. Aeromicota de ambientes internos: comparación de métodos de muestreo. **Boletín Micológico**, v. 23, 2008.

ROULET, C.. Indoor environment quality in buildings and its impact on outdoor environment. **Energy and buildings**, v. 33, n. 3, p. 183-191, 2001.

SALVADORI, O.; MUNICCHIA, A. C. The Role of Fungi and Lichens in the Biodeterioration of Stone Monuments. **The Open Conference Proceedings Journal**, v. 7, (suppl 1: M4) p. 39-54, 2016.

SCHWAB, C.J.; STRAUS, D.C. The roles of Penicillium and Aspergillus in sick building syndrome. **Advances in Applied Microbiology**, v. 55, p. 215-240, 2004.

SCOTT, G. Moisture, ventilation and mould growth. **Studies in Conservation**, v. 39, n. sup2, p. 149-153, 1994.

SEDLBAUER, K. **Prediction of mould fungus formation on the surface of and inside building components**. 2001. Tese (Doutorado) - Fraunhofer Institute for Building Physics, Stuttgart, Alemanha, 2001.

SEDLBAUER, K. Prediction of Mould Growth by Hygrothermal Calculation. **Journal Of Thermal Envelope And Building Science**, [s.l.], v. 25, n. 4, p.321-336, abr. 2002.

SHIRAKAWA, M. A.; JOHN, V.M.; GAYLARDE, C. C.; GAYLARDE, P.M.; GAMBALÉ, W. Mould and phototroph growth on masonry facades after painting. **Materials and Structure**, v.37, 2004.

SHIRAKAWA, M. A.; TAVARES, R. G.; GAYLARDE, C. C.; TAQUEDA, M. E. S.; LOH, K.; JOHN, V. M. Climate as the most important factor determining anti-fungal biocide performance in paint films. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 23, p. 5878-5886, 2010.

SILVA, A. F. **Manifestações patológicas em fachadas com revestimentos argamassados: estudo de caso em edifícios em Florianópolis**. Dissertação (Mestrado em Arquitetura e Urbanismo) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil, 2007.

SINGH, J.; YU, C. W. F.; KIM, Jeong Tai. Building pathology, investigation of sick buildings and toxic moulds. **Indoor and Built Environment**, v. 19, n. 1, p. 40-47, 2010.

SMITH, S. L.; HILL, S. T. Influence of temperature and water activity on germination and growth of *Aspergillus restrictus* and *A. versicolor*. **Transactions Of The British Mycological Society**, [s.l.], v. 79, n. 3, p.558-560, jan. 1982.

SOBRINHO, M. M. B. **Estudo da ocorrência de fungos e da permeabilidade em revestimentos de argamassa em habitações de interesse social na cidade de Pitangueiras – SP**. 2008. Dissertação (Mestrado em Construção Civil) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Brasil, 2008.

STREIFEL, A. J. In with the good air. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 23, n. 9, p. 488-490, 2002.

STREIFEL, A. J.; LAUER, J. L.; VESLEY, D.; JUNI, B.; RHAME, F. S. *Aspergillus fumigatus* and other thermotolerant fungi generated by hospital building demolition. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 46, n. 2, p. 375-378, 1983.

TAGUCHI, Katsuji *et al.* A case of allergic fungal sinusitis caused by *Bipolaris spicifera*. **Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi**, v. 45, n. 4, p. 239-245, 2004.

TOMASELLI, L.; LAMENTI, G.; BOSCO, M.; TIANO, P. Biodiversity of photosynthetic micro-organisms dwelling on stone monuments. **Int Biodeterior Biodegrad**, v. 46, p. 251-258, 2000.

TUDOR, Daniela; ROBINSON, Sara C.; COOPER, Paul A. The influence of pH on pigment formation by lignicolous fungi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 80, p. 22-28, 2013.

UEMOTO, K. L., AGOPYAN, V., BRAZOLIN, S. Degradação de pinturas e elementos de fachada por organismos biológicos. In: ENCONTRO NACIONAL DE TECNOLOGIA DO AMBIENTE CONSTRUÍDO, 6., 1995, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: ANTAC, 1995. v. 2. p. 723-728.

ULRICH, Roger S. *et al.* A review of the research literature on evidence-based healthcare design. **HERD: Health Environments Research & Design Journal**, v. 1, n. 3, p. 61-125, 2008.

VÁZQUEZ-NION, D.; RODRÍGUEZ-CASTRO, J.; LÓPEZ-RODRÍGUEZ, M.C.; FERNÁNDEZ-SILVA, I.; PIETO, B. Subaerial biofilms on granitic historic buildings: microbial diversity and development of phototrophic multi-species cultures. **Biofouling**, v. 32, n. 6, p. 657-669, 2016.

VERECKEN, E.; ROELS, S. Review of mould prediction models and their influence on mould risk evaluation. **Building And Environment**, [s.l.], v. 51, p.296-310, maio 2012.

VIITANEN, H.; BJURMAN, J. Mould growth on wood under fluctuating humidity conditions. **Material und Organismen**, v. 29, n. 1, p. 27-46, 1995.

VIITANEN, H.; HANHIJÄRVI, A.; HUKKA, A.; KOSKELA, K. Modelling mould growth and decay damages. In: **Healthy Buildings 2000**. p. 341-346, 2000.

WANKE, B.; LAZÉRA, M. S.; NUCCI, M. Fungal infections in the immunocompromised host. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, p. 153-158, 2000.

WEBSTER, J.; WEBER, R. **Introduction to fungi**. Cambridge University Press, 2007.

WOOLLISCROFT, M. **Residential ventilation in the United Kingdom: an overview**. American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers, Inc., Atlanta, GA (United States), 1997.

WUFI. WUFI Bio. 2005 Disponível em: <https://wufi.de/en/2017/03/31/wufi-bio/>.

WUFI. WUFI Mould Index VTT. 2005. Disponível em: <https://wufi.de/en/2017/03/31/wufi-mould-index-vtt/>.

YONEMORI, Kan *et al.* Fungal infection in neutropenic patients in a hospital during construction. **Japanese journal of infectious diseases**, v. 55, n. 4, p. 126-127, 2002.

YOUNG, M. E.; ALAKOMI, H. L.; FORTUNE, I.; GORBUSHINA, A. A.; KRUMBEIN, W. E.; MAXWELL, I.; MCCULLAGH, C; ROBERTSON, P.; SAARELA, M.; VALERO, J.; VENDRELL, M. Development of a biocidal treatment regime to inhibit biological growths on cultural heritage: BIODAM. **Environmental Geology**, [s.l.], v. 56, n. 3-4, p.631-641, 12 jul. 2008.

ZHANG, W.; CHEN, Y.; YU, S.; CHEN, S.; YIN, Y. Preparation and antibacterial behavior of Fe³⁺-doped nanostructured TiO₂ thin films. **Thin Solid Films**, v. 516, n. 15, p. 4690-4694, 2008.

ZYSKA, B. Disasters, accidents and microbiological threats in industry and building. **Publishing House of Technical University of Lodz**, 2001.

APÊNDICE A – Cronograma do programa experimental

Figura 1 – Cronograma do Programa Experimental

Análise	Procedimentos	Semanas																												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	
Microbiológicas	1 Levantamento termografico dos pontos	■																												
	2 Levantamento termohigrômetro dos pontos	■																												
	3 Coleta microbiológica	■																												
	4 Inoculação de amostras	■	■	■	■																									
	5 Purificação de amostras					■	■	■	■																					
	6 Amplificação do DNA de colônias									■	■	■	■	■	■	■	■													
	7 Tentativas de sequenciamento de DNA																		■	■	■	■	■							
	8 Susceptibilidade de crescimento fúngico em materiais de construção										■	■	■	■																
	9 Capacidade infectante fúngica em temperatura corporal										■	■	■	■																
	10 Análises																								■	■	■	■	■	
Físicas	1 Levantamento de condicionantes ambientais dos ambientes	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
	2 Levantamento de pH	■																												
	3 Análises																								■	■	■	■	■	

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

APÊNDICE B – Identificação de gêneros fúngicos

Os isolados purificados foram fotografados em suas respectivas placas na frente e no verso e agrupados segundo algumas características macromorfológicas como textura da superfície da colônia, cor, aspecto da borda e o tempo e intensidade do crescimento. As colônias purificadas tiveram seu DNA extraído e o produto final passou pela ferramenta biomolecular utilizada na amplificação de amostras de DNA, a chamada PCR (reação em cadeia de polimerase) utilizando o oligonucleotídeo sintético (GTG)₅. O produto desta etapa passou por uma eletroforese, formando bandas onde pode-se identificar a diferença ou semelhança genética entre as colônias. Cada colônia distinta passou por um sequenciamento da região espaçadora transcrita interna (ITS1-5.8S-ITS2) do gene do RNA ribossomal (rRNA).

1 Extração de DNA Fúngico

As placas contendo as colônias purificadas tiveram seus micélios raspados e colocados num tudo de 1,5 mL (até completar a metade do tubo), adicionando 400 µL de tampão de lise. Sabe-se que a célula fúngica é composta pelo citoplasma (onde ficam as organelas), pela membrana plasmática e pelo núcleo, onde está o DNA. Assim, para extrair-lo é necessário causar a lise celular, isto é, o rompimento das membranas celulares e a liberação das organelas e do núcleo. No caso deste estudo, foi utilizado o tampão de lise Tris-HCl – trishidroximetilaminometano 0,05 M, EDTA – ácido etilenodiamino tetra-acético 0,005 M, NaCl 0,1 M e SDS – sódio dodecil sulfato 1%. Esta mistura foi deixada a 20°C por cerca de 10 minutos. Além disso, a solução de micélios com o tampão foi também inserida no extrator celular Bullet 600 Blender™ 24 (Uniscience) e macerada juntamente com três esferas de aço inox (3,175 mm de diâmetro).

Na solução contendo o lisado celular foram inseridos 162 µL do tampão de extração CTAB (detergente catiônico de brometo de cetil-trimetil amônio) que ajudar a separar o DNA. A solução foi então inserida no vortex para homogeneização e incubada por 10 minutos a 65 °C. Posteriormente, foram acrescidos 570 µL da mistura clorofórmio/álcool isoamílico (24:1) seguido de homogeneização. O tubo foi deixado por 30 minutos em gelo. O objetivo desta etapa é fazer a separação em fases da solução, a parte mais polar do lisado migraria para o álcool isoamílico e a menos polar iria para a fase de clorofórmio. Para facilitar esta separação de fases o conteúdo foi centrifugado a 13.200 rpm por 15 minutos. O DNA fica na fase de menor densidade, assim, o líquido sobrenadante é transferido para um novo tubo de 1,5 mL.

No novo tubo foram inseridos 10% do volume de uma solução de acetato de sódio 3 M. O tubo passou novamente por uma homogeneização em gelo por 30 minutos e, posteriormente, foi centrifugado a 13.200 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi novamente transferido para um novo tubo, onde foram acrescentados 50% do volume de isopropanol (Merck) e mantido por 15 minutos para ajudar na precipitação do DNA. O tubo passou por uma centrifugação a 13.200 rpm por 5 minutos e desta vez, o sobrenadante foi descartado por inversão, uma vez que o DNA se assentou no fundo do tubo. Posteriormente, adicionou-se mais 200 µL de etanol (Merck) 70% frio e a suspensão foi novamente homogeneizada. A amostra foi então centrifugada a 13.200 rpm por 5 minutos e o sobrenadante desprezado mais uma vez. A amostra foi então deixada para secagem por 24 horas.

Após a secagem, foram adicionados 50 µL de Tris-EDTA (Tris-HCl 0,01 M e EDTA 0,001 M), um agente quelante. A amostra foi incubada por 60 minutos a 65 °C para hidratação do DNA. Esta solução hidratada do DNA passou por um espectrofotômetro a 260/280 nm (NanoDrop ND 1000 Thechnologies, EUA) para a quantificação do DNA extraído.

2 PCR

Quando se extrai o DNA de fungos, há chances de que o produto final, isto é, a sequência de DNA extraída, seja insuficiente. Assim, é necessário fazer a PCR (reação em cadeia da polimerase) que é uma ferramenta biomolecular utilizada na amplificação de amostras de DNA. Neste estudo, o DNA total extraído foi submetido à PCR através do iniciador (GTG)₅.

A PCR consiste, primeiramente, no aumento da temperatura de reação para desnaturar o DNA. Essa fase, chamada de desnaturação, ocorre a 95°C e é responsável por alterar sua estrutura de dupla hélice e quebrar as ligações entre as bases nitrogenadas resultando na formação de duas fitas moldes. A etapa conseguinte é a inserção dos primers. A enzima responsável pela síntese de DNA, DNA Polimerase, não é capaz de iniciar a produção de uma nova fita utilizando apenas uma fita molde do DNA. Assim, utiliza-se um iniciador (ou primer), que são pequenos segmentos de RNA que conseguem iniciar a ligação nas fitas moldes na direção 3' para 5', chamada de fase de anelamento, à 50°C. A temperatura então é elevada a 72° para dar início a fase de extensão da fita de DNA, alcançada através da ligação das bases nitrogenadas com o auxílio da DNA polimerase. Por fim, a temperatura é reduzida para que ocorra novamente a formação da estrutura em dupla hélice semelhante a original e o início de um novo ciclo.

Assim, a PCR deste estudo utilizou os seguintes produtos:

- a) 2,5 µL de tampão 10X (MBI Fermentas), que ajuda a manter o sistema em equilíbrio para que a enzima DNA polimerase não se desnature;
- b) 1 µL de dNTP 0,05 mM (Invitrogen, EUA), que são as bases nitrogenadas do DNA (adenina, guanina, citosina e timina);
- c) 1,5 µL de MgCl₂ 1,5 mM (MBI Fermentas), que atua como cofator otimizando a reação química;
- d) 2 µL do iniciador (primer) (GTG)₅ 10 µmol⁻¹ (Invitrogen, EUA);
- e) 0,2 µL de taq DNA polimerase 1,25 U (MBI Fermentas);
- f) 1 a 5 µL do DNA extraído (de maneira que a reação final contenha entre 50 a 500 ng/µL de DNA);
- g) completou-se com água esterilizada a reação final até formar 25 µL.

A PCR foi feita em um termociclador PCR Express (Vapo.protect - Eppendorf) que é um equipamento que simula ciclos de variações de temperatura. A sequência de ciclos seguiu as seguintes etapas:

- a) fase inicial de desnaturação a 94 °C por 2 minutos e 40 ciclos de desnaturação a 95 °C por 45 segundos;
- b) anelamento a 50 °C por 1 minuto, que é quando os primers iniciam a ligação nas fitas moldes de DNA;
- c) extensão a 72 °C por 1 minuto e extensão final a 72 °C por 6 minutos, que é quando as bases nitrogenadas são ligadas nas fitas pela DNA polimerase.

Para validar a multiplicação das fitas de DNA, os produtos amplificados passaram pela etapa de eletroforese. Assim, os produtos foram inseridos em gel de agarose (Pronadisa, 635 Espanha) a 1,5%, que após se solidificar foi mergulhado numa cuba contendo tampão TBE 0,5% (54 g de Tris Base, 27,5 g de ácido bórico, 20 mL de EDTA 0,5 M, pH 8,0) e deixado por 60 minutos com a uma voltagem de 80 volts para obtenção de bandas. O gel foi corado com uma solução do agente eGelredTM (Biotium, EUA) a 0,2%. À medida que a corrente passava pelo líquido, o produto com coloração migrava de um eletrodo para o outro, sendo visualizado e analisado segundo os padrões de deslocamento sob luz ultravioleta.

3 Amplificação do gene RNA ribossômico

Cada agrupamento teve o gene do RNA ribossômico (rRNA) amplificado utilizando os iniciadores ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3').

Para alcançar a amplificação, foi necessário primeiramente fazer a PCR, que continha:

- a) 5,0 μL de tampão 10X (Fermentas) (para ajustar o meio de ação das enzimas);
- b) 2,0 μL de dNTP 10 mM (Invitrogen, EUA) (nucleotídeos);
- c) 3,0 μL de cloreto de magnésio (MgCl_2) 25 mM (Fermentas) (cofator enzimático);
- d) 1,0 μL de ITS1 e ITS4 10 μmol^{-1} (Invitrogen, EUA) (iniciadores);
- e) 0,2 μL de Taq DNA polimerase 1,25U (Fermentas);
- f) 1,0 a 5,0 μL de DNA contendo 50 a 500 $\text{ng}/\mu\text{L}$;
- g) completou-se com água de injeção (água extremamente pura) até alcançar um volume de 50 μL .

Toda a operação foi realizada no termociclador PCR (Vapo.protect - Eppendorf) nas seguintes premissas:

- a) primeira desnaturação à 94 °c por 5 minutos;
- b) desnaturação em 35 ciclos à 94 °c de 1 minuto;
- c) anelamento a 55 °c;
- d) extensão inicial a 72 °c por 1 minuto;
- e) extensão final por a 72 °c por 5 minutos.

Para analisar os amplicons, isto é, os produtos de amplificação, foi necessário submetê-los em uma aplicação em gel de agarose (Pronadisa) em 1% em tampão TBE 0,5% (54 g de Tris Base, 27,5 g de ácido bórico, 20 mL de EDTA 0,5 M, pH 8,0) e mergulhados na cuba de eletroforese a 120 V para obtenção das bandas. Os géis foram colorados com a ajuda de uma solução de GelRed (Biotium) e analisados sob luz ultravioleta (UV) através de um sistema de captação de imagem (Vilber Lourmat).

4 Purificação dos amplicons

Os resultados obtidos nas amplificações das reações de PCR, isto é, os amplicons, foram purificados para serem preparados para o sequenciamento. Isto foi feito utilizando a metodologia de EDTA- Etanol. A purificação seguiu as seguintes etapas, consecutivamente:

- a) juntamente ao produto da ferramenta PCR, adicionou-se 141 μL de Etanol e 11,25 μL de EDTA;
- b) a solução manteve-se por 15 minutos em temperatura ambiente;
- c) centrifugou-se o tubo contendo a solução em 13.500 rpm por 25 minutos;
- d) retirou-se o sobrenadante por inversão e adicionou-se ao tubo contendo 120 μL de etanol 70% resfriado a 4 °C;

- e) centrifugou-se o tubo novamente em 13.200 rpm por 10 minutos e o retirou-se o etanol por inversão;
- f) o tubo com a solução manteve-se à temperatura ambiente para evaporação de todo o excesso de etanol;
- g) adicionou-se 10 μL de água para injeção estéril;
- h) homogeneizou-se o tubo em vórtex por 15 segundos;
- i) incubou-se o tubo em banho-seco por 60 minutos a 37 °C;
- j) o produto final foi dosado em NanoDrop ND 1000 (NanoDrop Technologies) e foram utilizando apenas aqueles que apresentaram dosagens 80 e 150 ng/ μL .

5 Reação de Sequenciamento

Os produtos obtidos nas ampliações passaram por um sequenciamento, isto é, uma metodologia da biologia molecular que tem como objetivo determinar a ordem das bases nitrogenadas da molécula de DNA: adenina (A), guanina (G), citosina (C) e timina (T).

Neste estudo, o sequenciamento de DNA foi do tipo Sanger Automatizado e foi feito utilizando o kit Big Dye versão 3.1 (Applied Biosystems) com o sistema automatizado 810 ABI 3730. Para o sequenciamento foram utilizados:

- a) 5 a 20 ng do DNA (purificado);
- b) reagentes e iniciadores presentes no kit Big Dye.

Para a reação de PCR, foi necessário:

- a) 96 poços de volumes de 1 μL do tampão do kit Big Dye. (presente no kit de sequenciamento);
- b) 1 μL de Big Dye;
- c) 1 μL do iniciador a 5 $\mu\text{mol-l}$;
- d) 1 a 5 μL de DNA;
- e) completou-se o volume final com água para injeção autoclavada.

O programa de termo ciclagem foi feito da seguinte forma:

- a) primeira desnaturação por 1 minuto a 36 °c;
- b) desnaturação em 36 ciclos de 15 minutos a 96 °c;
- c) anelamento por 15 segundos a 50 °c;
- d) extensão por 4 minutos a 60 °c.

6 Análise computacional das sequências

As sequências de bases nitrogenadas nos DNAs encontrados nas amostras foram analisadas através do banco de referência de fungos no GenBank através do software BLASTn (versão 2.215 do BLAST 2.0). As sequências das amostras de fungos analisadas foram comparadas àquelas presentes no banco de dados do GenBank, e os resultados que apresentaram o menor valor de E e identidade maior que 99%, além da proximidade filogenética, analisada pelo software MEGA 6 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) (TAMURA *et al.*, 2013) foram considerados como pertencentes ao mesmo gênero fúngico.

APÊNDICE C – Colônias identificadas

Das 24 colônias encontradas neste estudo, 17 foram identificadas através dos procedimentos propostos no APÊNDICE B. As demais não foram possíveis de serem sequenciadas, sendo referidas neste estudo como N.I. (não identificada). Segue as colônias identificadas a nível de gênero são mostradas na Tabela 1 e nas figuras deste Apêndice.

Tabela 1 – Colônias Identificadas.

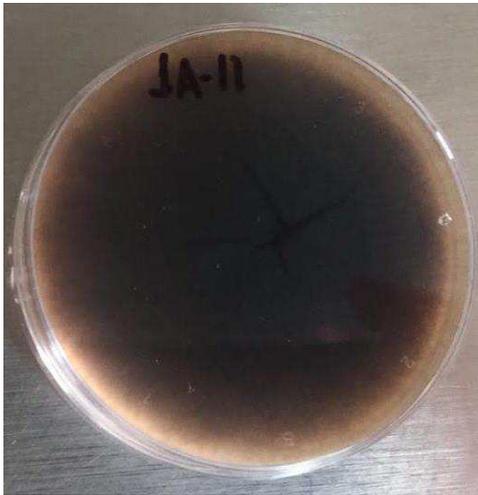
Amostra	Gênero
1AI	N.I.
1AII	<i>Bipolaris</i>
1AIII	N.I.
1AIV	<i>Aspergillus</i>
1AV	<i>Cladosporium</i>
1AVI	<i>Septoriella</i>
1AVII	<i>Cystobasidium</i>
IAVIII	N.I.
1AIX	N.I.
1CX	N.I.
1CXI	N.I.
1CXII	<i>Penicillium</i>
2AI	<i>Aspergillus</i>
2AII	<i>Aspergillus</i>
2AIII	<i>Aspergillus</i>
2AIV	N.I.
2AV	<i>Cladosporium</i>
2BVI	<i>Cladosporium</i>
2BVII	<i>Periconia</i>
2BVIII	<i>Aspergillus</i>
2BIX	<i>Penicillium</i>
2CX	<i>Penicillium</i>
2CXI	N.I.
2CXII	<i>Penicillium</i>
3AI	<i>Cladosporium</i>

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

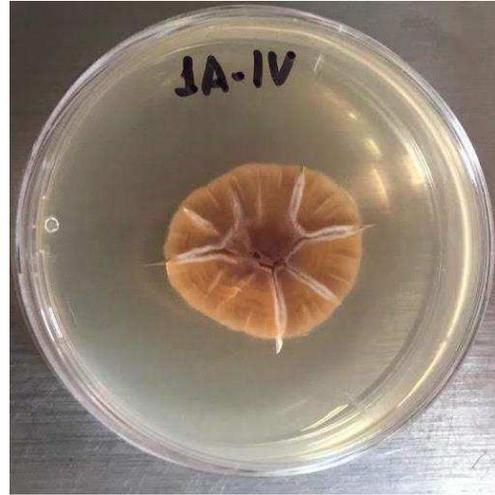
As fotografias das colônias encontradas, sequenciadas e identificadas a nível de gênero deste trabalho são apresentadas neste apêndice, na Tabela 2.

Tabela 2 - Colônias encontradas nos estudos.

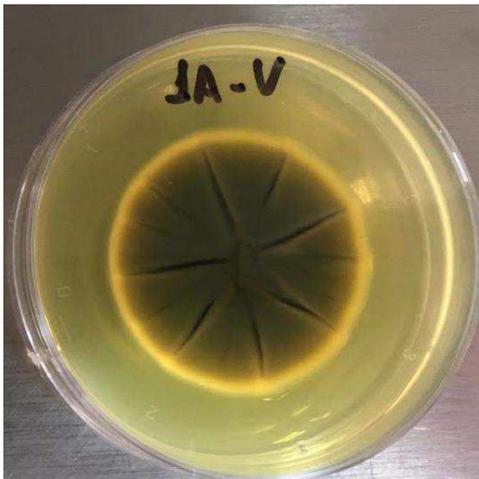
(Continua)



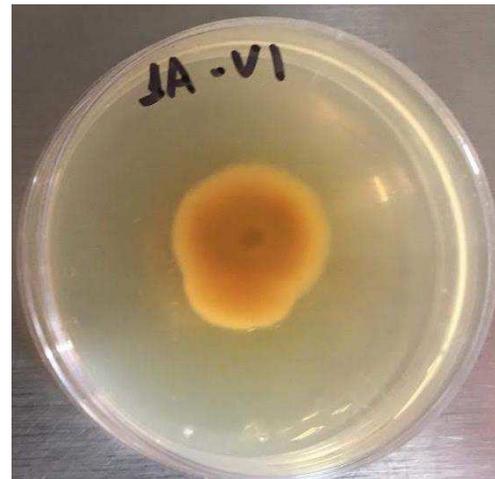
1AII - Bipolaris



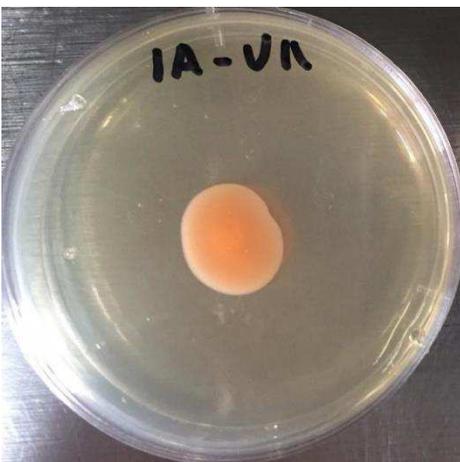
1AIV - Aspergillus



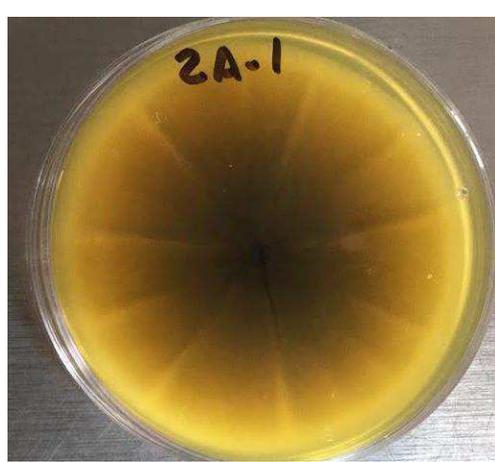
1AV - Cladosporium



1AVI - Septoriella

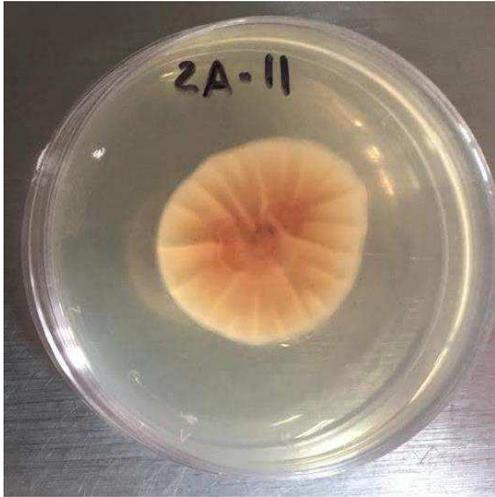


1AVII - Cystobasidium

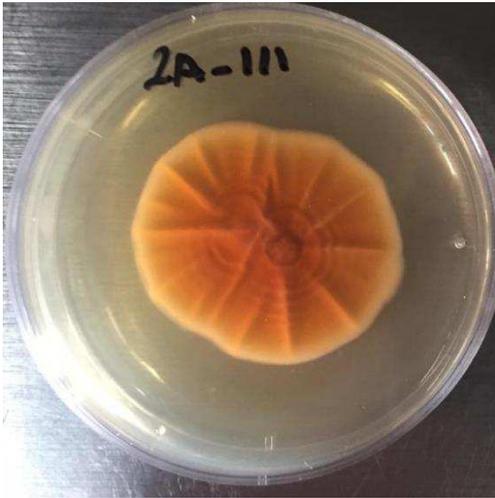


2AI - Aspergillus

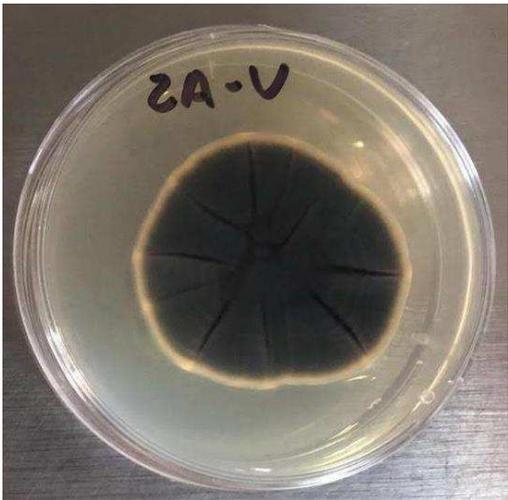
(Continuação)



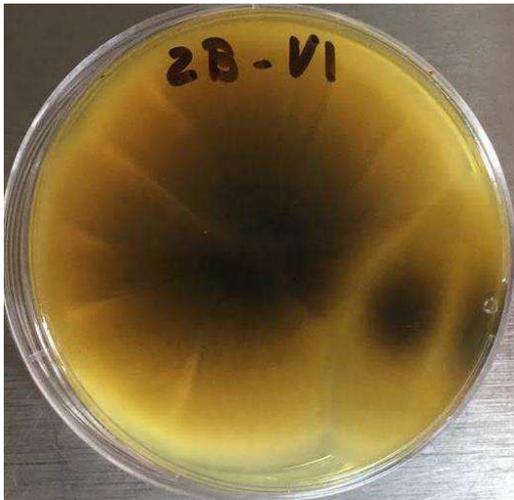
2AII - Aspergillus



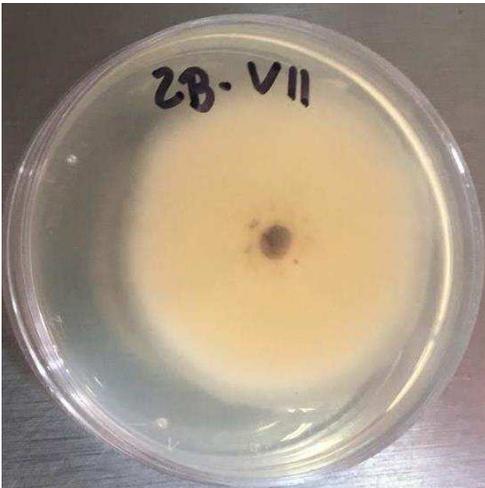
2AIII - Aspergillus



2AV - Cladosporium



2BVI - Cladosporium



2BVII - Periconia



2BVIII - Aspergillus

(Conclusão)



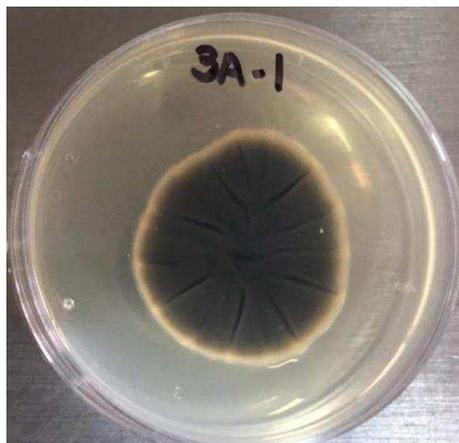
2BIX - Penicillium



2CX - Penicillium



2CXII - Penicillium



3AI - Cladosporium

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

ANEXO A – Cálculo de transferência de calor

Foi utilizado um método matemático proposto pela NBR 15220-2 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2005) considerando um regime de transferência de calor estacionário entre o ambiente interno e externo. Para o cálculo, primeiramente será necessário calcular a resistência térmica (R) de cada camada. A resistência nada mais é do que a espessura da camada (e) dividida por sua condutividade térmica (λ) (Equação 5).

$$R = e/\lambda \quad (1)$$

Depois de calculada a resistência das camadas, será calculado a resistência térmica total (RT), que é um somatório da resistência da parede (Rt), calculada através do somatório das resistências de todas as camadas, com a resistência da superfície interna (Rsi) e da superfície externo (Rse), ambos valores normalizados, sendo descrita na Equação 6.

$$RT = Rse + Rt + Rsi \quad (2)$$

Com a resistência total é possível calcular a transmitância (U), isto é, a quantidade de calor que atravessa um metro quadrado de um material em cada um segundo à uma estrutura com um metro de espessura com uma diferença de temperatura de um Kelvin entre camadas, que é o inverso da resistência térmica total, conforme Equação 7.

$$U = 1/ RT \quad (3)$$

Com a área de análise e a transmitância térmica, é possível calcular a temperatura aproximada das camadas que compõe uma parede. Para isso são necessárias as temperaturas externas e internas que envolvem a parede. Assim, os dados obtidos pelo data logger da temperatura do ambiente interior serão inseridos nos cálculos numéricos, assim como os dados de temperatura do ambiente externo que serão obtidos junto ao Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, através do Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa (INMET, 2007).

Com a temperatura interna e externa de cada intervalo de tempo será possível encontrar a temperatura das camadas utilizando o cálculo do fluxo de calor por área (Φ/A), sendo a multiplicação entre a transmitância total e a diferença de temperatura entre o ambiente interior para o exterior, descrita na Equação 8.

$$\Phi/A = U \times \Delta T \quad (4)$$

Com o fluxo de calor por área é possível encontrar as temperaturas da camada, uma vez que já temos a resistência de todas elas. Assim, na camada de argamassa, tem-se a Equação 9.

$$\Phi/A \times Rsi = T \text{ interna} - T_{\text{argamassa}} \quad (5)$$

Para a cama de bloco cerâmico, há a Equação 10.

$$\Phi/A \times R_{\text{bloco}} = T_{\text{argamassa}} - T_{\text{bloco}} \quad (6)$$