

“Isolamento e identificação de fungos em amostras retiradas de múmias egípcias da coleção do Museu Nacional do Rio de Janeiro”

por

Ricardo França Alves dos Reis

Dissertação apresentada com vistas à obtenção do título de Mestre em Ciências na área de Saúde Pública.

Orientadora principal: Prof.^a Dr.^a Sheila Maria Ferraz Mendonça de Souza
Segunda orientadora: Prof.^a Dr.^a Juliana da Matta Furniel Dutra Santiago

Rio de Janeiro, agosto de 2014.

Esta dissertação, intitulada

“Isolamento e identificação de fungos em amostras retiradas de múmias egípcias da coleção do Museu Nacional do Rio de Janeiro”

apresentada por

Ricardo França Alves dos Reis

foi avaliada pela Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Paulo Murillo Neufeld

Prof. Dr. Rodrigo de Almeida Paes

Prof. Dr. Ziadir Francisco Coutinho

Prof.^a Dr.^a Sheila Maria Ferraz Mendonça de Souza – Orientadora principal

AGRADECIMENTOS

Ao Doutor Wanderlei de Souza e ao Laboratório de Ultraestrutura Celular Hertha Meyer, IBCCF, UFRJ, pela disponibilidade do espaço e infraestrutura necessários para a realização deste trabalho.

Ao Doutor Adauto Araujo e ao Laboratório de Paleoparasitologia da Fiocruz, pelo suporte, apoio e pela disponibilidade do espaço e microscópios, primordiais na etapa de finalização do trabalho.

Ao Doutor Antonio Brancaglioni Junior e à Dra Claudia Rodrigues do Museu Nacional do Rio de Janeiro, pelo suporte imprescindível na realização do trabalho. Pelo apoio e disponibilidade do material de estudo.

Aos profissionais da Arqueologia e Museologia do Museu, Dra Angela Camardella, Cleide Maria da Conceição, Marco Aurélio Marques, Marilene de Oliveira, Moana Campos Soto e demais funcionários, pelo apoio e participação de forma direta e indireta nas coletas.

À Jaciara Martins, pelas fotografias e auxílio nas coletas.

Às Dra Sheila Mendonça de Souza pela orientação, apoio, e por acreditar na realização deste trabalho até este momento.

À Dra Juliana Dutra Santiago, pela orientação e suporte no desenvolvimento deste trabalho.

À Dra Susana Frases pelo apoio quando da realização do estudo no Laboratório de Ultraestrutura Celular Hertha Meyer.

Ao Doutor Rodrigo Almeida Paes do Laboratório de Micologia do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - Ipec/Fiocruz, pelo apoio e colaboração imprescindível na identificação das cepas leveduriformes e participação na banca examinadora.

Às Dras Joseli Nogueira e Rosemere Duarte, pelas aulas, apoio, puxões de orelha e incentivo desde o início do curso.

Aos Doutores Paulo Murillo Neufeld e Ziadir Francisco Coutinho, pela participação na banca examinadora, com suas importantes críticas e correções ao trabalho realizado. Pelo apoio e incentivo à continuidade do mesmo.

Ao professor Mario Gatti, pelas informações fornecidas sobre a primeira análise micológica da múmia de Hori.

Aos funcionários da Secretaria Acadêmica da ENSP/Fiocruz, principalmente Fábio Balbino, Bruna Basílio, Lúcia Helena Lopes e Fernanda Rodrigues, pela amizade, apoio, incentivo, e por terem sido, provavelmente, os que mais me aturaram desde o início do curso. Agradeço também à Jordânia Costa e ao Eduardo S. Pinto, que me auxiliaram bastante nos procedimentos burocráticos referentes à conclusão do curso.

Ao Coordenador do Curso de Pós Graduação em Saúde Pública da ENSP, Dr. Nilson do Rosário Costa, por reconsiderar minha situação junto ao curso e permitir que este trabalho pudesse ser defendido.

Aos amigos do Laboratório de Paleoparasitologia e da ENSP, Mônica Vieira, Juliana Magalhães, Bruna Montenegro, Shênia Novo, Andressa Freire, Hugo Costa, Victor Hugo Borba, Priscilla Araujo, Gleisse Nunes, Sergio Neris, Luciana Sianto, Erika Klein, João Daniel, Morgana Camacho, Thaíla Pessanha e Carolina Figueiredo, pela amizade, incentivo e ajuda de sempre.

Às colegas de Mestrado, Maíra Laeta, Denise Alves e Thaís Leal, pela amizade, carinho, incentivo e ajuda durante os dois anos do curso.

Aos amigos do Laboratório de Ultraestrutura Celular Hertha Meyer, especialmente à Juliana Fernandes, Gabriela Veras, Charles Rocha, Luzinete Bonfim, Raquel Corrêa, Mayara Bravim e Glauber Araújo, pelo apoio, incentivo, suporte técnico e boas conversas. Agradeço também ao Fernando Almeida, Lissa Catherine, Emile Barrias e Kildare Miranda pelo suporte no uso do microscópio Axioplan. E aos demais colegas do laboratório, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

À minha família, em especial a minha avó, Abigail Pereira Alves, pelo apoio de sempre e pela fé na realização deste trabalho. Agradeço também à minha namorada, Maria Almeida, pela paciência e incentivo nesta etapa final.

RESUMO

A proliferação de microrganismos em museus, relacionada aos processos de biodeterioração, pode representar riscos para a saúde dos visitantes e dos trabalhadores envolvidos na análise, manutenção e higienização das coleções arqueológicas, por causa da presença de espécies potencialmente patogênicas. Neste sentido, múmias são ambientes apropriados para o desenvolvimento de microrganismos, devido à variedade de materiais orgânicos e inorgânicos que as constituem, os quais se tornam substratos para o crescimento de bactérias e fungos. Em 1995, um caso de proliferação fúngica em múmia egípcia foi documentado no Museu Nacional do Rio de Janeiro, após a penetração de água no local onde o corpo era mantido. Na época, além do risco de perda do espécime, alguns profissionais que trabalhavam para salvar este e outros materiais afetados, informaram a ocorrência de doenças. Após o acidente, algumas múmias foram acondicionadas em cápsulas plásticas com atmosfera anóxica para deter a proliferação de microrganismos. O presente estudo buscou avaliar a contaminação fúngica na múmia afetada (inv. 527), após longo tempo de preservação em condições especiais, e em outra múmia (inv. 170), não acondicionada desta forma, e em seus respectivos ambientes de exposição. Foram coletadas 29 amostras, entre corporais e ambientais, das quais 17 foram positivas para o crescimento fúngico. Foram isoladas 51 cepas de fungos filamentosos e leveduriformes. A partir de métodos taxonômicos convencionais, foram identificados 11 gêneros distintos entre os fungos filamentosos, sendo os principais *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Penicillium*, comumente descritos como causadores de biodeterioração em múmias e como agentes etiológicos de diversas enfermidades humanas. A presença destes fungos no museu pode representar riscos para a saúde pública. Com isso, métodos cada vez mais estritos são sugeridos para a exposição e armazenamento das múmias, assim como maior cuidado no manuseio e análise das mesmas, evitando o contato e a disseminação destes fungos no ambiente.

Palavras chave: contaminação fúngica, coleções arqueológicas, múmias, biodeterioração, saúde pública.

ABSTRACT

Microorganism proliferation in museums could present public health risks for the visitors, and workers involved in the analysis, maintenance and cleaning of archaeological collections, due to the development of pathogenic species related to biodeterioration processes. Mummies are appropriate environments for fungi, due to the variety of organic and inorganic materials employed during mummification that become the perfect substrate for microorganism's growth, such as bacteria and fungi. In 1995, a case of fungal proliferation in an Egyptian mummy was documented at the National Museum of Rio de Janeiro, after a flood. At that time, besides the risk of the specimen loss, the employees that were working to save those archeological materials reported some kind of diseases. Since that accident, some mummies remained isolated inside plastic capsules with a controlled anoxic environment to stop the microorganism proliferation. This study aims to evaluate the fungal contamination at the affected mummy (inv. 527) after years inside the plastic capsule, and another mummy (inv. 170) which was not stored like this way, and the environments they were exposed. Twenty-nine samples, from the environment and body, were collected, of which 17 were positive for fungal growth. Fifty-one strains of filamentous fungi and yeasts were isolated. With the use of conventional taxonomic methods, 11 distinct genera were identified among the filamentous fungi, and the main ones are *Aspergillus*, *Cladosporium* and *Penicillium*, commonly described for causing biodeterioration in mummies and as etiological agents of several human diseases. The presence of those fungi in the museum can pose risks to the public health. With that, improved secure methods are suggested for the display and storage of mummies, as well as greater care in the handling and analysis, which could avoid the contact and the spread of this kind of fungi in the environment.

Keywords: fungal contamination, archaeological collections, mummies, biodeterioration, public health.

ABREVIATURAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

EPI - Equipamentos de Proteção Individual

ENSP - Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca

Fiocruz - Fundação Oswaldo Cruz

GEO-RIO - Fundação Instituto de Geotécnica do Município do RJ

IBCCF - Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho

ICOM - Conselho Internacional de Museus

IPEC - Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas

LUCH- Laboratório de Ultraestrutura Celular Hertha Meyer

µl - Microlitros

µm - Micrômetros

OMS - Organização Mundial da Saúde

QAI - Qualidade do Ar de Interiores

SDA - Agar Sabouraud Dextrosado

SED - Síndrome dos Edifícios Doentes

UFC - Unidades Formadoras de Colônias

UFRJ - Universidade Federal do Rio de Janeiro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	18
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	24
2.1. Conceito de Múmia.....	24
2.2. A Coleção Egípcia do Museu Nacional do Rio de Janeiro.....	27
2.3. Os problemas associados aos fungos.....	28
2.3.1. Riscos para a saúde.....	28
2.3.2. Biodeterioração.....	31
2.4. Classificação dos fungos.....	35
2.4.1. Reino Fungi.....	37
2.5. Características biológicas dos fungos.....	38
2.5.1. Formas de dispersão dos fungos.....	41
2.6. Os fungos e os riscos à saúde.....	41
3. OBJETIVOS.....	44
3.1. Objetivo Geral.....	44
3.2. Objetivos Específicos.....	44
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	45
4.1. Material.....	45
4.1.1. Múmia do Sacerdote Hori.....	45
4.1.2. Múmia de lactente.....	47
4.2. Métodos.....	49
4.2.1. Coleta de amostras.....	49
4.2.1.1. Coleta de amostras do ambiente.....	49
4.2.1.2. Coleta de amostras nos corpos.....	52

4.2.1.2.1. Coleta de amostras da múmia de lactente (13 de maio de 2013).....	53
4.2.1.2.2. Coleta de amostras na múmia do sacerdote Hori (17 de junho de 2013).....	55
4.2.2. Isolamento dos Fungos.....	58
4.2.3. Preservação dos fungos isolados.....	61
4.2.4. Identificação tradicional dos isolados.....	61
4.2.4.1. Caracterização macroscópica.....	61
4.2.4.2. Caracterização microscópica.....	61
4.2.4.2.1. Fungos filamentosos.....	61
4.2.4.2.2. Fungos leveduriformes.....	64
5. RESULTADOS.....	65
5.1. Resultado das coletas na múmia de lactente e ambiente relacionado.....	65
5.1.1. Amostras de aspirados e fragmentos da múmia de lactente.....	66
5.1.2. Amostras de ar dos ambientes relacionados à múmia de lactente.....	68
5.1.3. Potencial de patogenicidade das cepas isoladas a partir da múmia de lactente e ambientes relacionados.....	69
5.2. Resultados das coletas na múmia do sacerdote Hori e ambiente relacionado.....	69
5.2.1. Amostras de aspirados e fragmentos da múmia do sacerdote Hori.....	70
5.2.2. Amostras de ar do ambiente relacionadas à múmia do sacerdote Hori.....	71
5.2.3. Amostra do depósito de poeira existente sobre a cápsula de plástico.....	71
5.2.4. Potencial de patogenicidade das cepas isoladas a partir da múmia do sacerdote Hori e ambientes relacionados.....	72
5.3. Descrição preliminar dos gêneros isolados em ambas as múmias.....	73
5.3.1. Gêneros fúngicos isolados da múmia de lactente e seus ambientes de exposição.....	76
5.3.2. Gêneros fúngicos isolados da múmia Hori e seus ambientes de exposição.....	81
6. DISCUSSÃO.....	88

7. CONCLUSÕES.....	95
8. RECOMENDAÇÕES.....	96
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97
ANEXOS.....	104
Anexo 1. Modelo das fichas de descrição individual das cepas isoladas.....	104
Anexo 2. Resultados da identificação das cepas leveduriformes pelo método automatizado Vitek®2.....	105
Anexo 2.1. Resultado referente à cepa M1b.....	105
Anexo 2.2. Resultado referente à cepa M2b.....	106
Anexo 2.3. Resultado referente à cepa M4b.....	107
Anexo 2.4. Resultado referente à cepa M5b.....	108
Anexo 2.5. Resultado referente à cepa M21b.....	109

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Múmia do sacerdote Hori manipulada por profissionais do Museu Nacional durante o processo de secagem. Foto: Olga Caldas. Acervo do Museu Nacional do Rio de Janeiro.....19
- Figura 2: Múmia do Sacerdote Hori durante a análise das suas condições de conservação realizada em 2001. Foto: Karl Reinhard.....20
- Figura 3: Múmia do Sacerdote Hori. A e B. Partes inferior e superior do corpo, respectivamente. Em ambas as partes são observadas diferentes colorações nas bandagens, como indicado pelas setas vermelhas. Fotos: Karl Reinhard.....21
- Figura 4: Bandagem da múmia do Sacerdote Hori, com material filamentosso azulado semelhante a fungo (destacado no círculo em vermelho). Foto: Karl Reinhard.....21
- Figura 5: Múmia do Sacerdote Hori em isolamento dentro de cápsula plástica em atmosfera anóxica. Procedimento realizado em 2003. Foto: Karl Reinhard.....22
- Figura 6: Corpos preservados principalmente pela desidratação de seus tecidos. A. Múmia natural, conservada provavelmente pelo clima seco e frio da região onde foi encontrada no Peru. Foto: Karl Reinhard. B. Múmia artificial egípcia. Produzida pela aplicação de técnicas antrópicas de mumificação e conservada pelo emprego de variadas substâncias, como resinas vegetais e sal de natrão. Fonte: Balout & Roubet (1985).....24
- Figura 7: Múmia do Faraó *Ramssés* II, repousada dentro de seu caixão de madeira. Fonte: Balout & Roubet (1985).....25
- Figura 8: Materiais que poderiam ser usados nos processos de mumificação. A. Resina vegetal. B. Betume. C. Cera de abelha. Fotos: Antonio Brancaglioni Junior.....27
- Figura 9: Caixão do Faraó *Tutankhamun*, observado por seu descobridor, o arqueólogo Howard Carter (em primeiro plano na imagem), e por um de seus assistentes. Fonte: <http://gypsyalexandraamayamarquez.blogspot.com.br>.....29

Figura 10: Biodeterioração de múmias de freiras do Museu de El Carmem, México, provocada por fungos. As setas vermelhas indicam em A, alterações provocadas na coloração dos mantos; em B, fragmentação de partes do corpo. Foto: Carlos Contreras. Fonte: López-Martínez <i>et al.</i> (2007).....	32
Figura 11: A e B. Microscopia Eletrônica de Varredura de esporos característicos de duas espécies distintas de fungos da ordem uredinales. Fonte: Mio <i>et al.</i> (2006).....	36
Figura 12: Visão microscópica de fungos uni e pluricelulares. A, B. Células de fungos leveduriformes, indicadas por setas vermelhas. C, D. Conidióforos: estruturas reprodutivas de alguns fungos filamentosos. Fonte: http://www.mold.ph	37
Figura 13: Corpo mumificado do sacerdote Hori na cápsula, em atmosfera anóxica, dentro da vitrine, na sala de exposição. Foto: Sheila Mendonça de Souza.....	46
Figura 14: Cápsula de isolamento da múmia Hori e seu esvaziamento progressivo. A, B e C. Áreas onde o plástico ficou amassado (setas vermelhas), devido à redução de volume na cápsula.....	47
Figura 15: Múmia de lactente na condição em que se encontra exposta atualmente em vitrine na sala da coleção Egípcia. Espaço compartilhado com outras peças do acervo egípcio. Foto: Sheila Mendonça de Souza.....	48
Figura 16: Amostragem ambiental da múmia de lactente. Material coletado por meio de placa de Petri (seta vermelha), posicionada próxima da múmia, sobre maca a cerca de 1 metro do chão.....	50
Figura 17: Amostrador de ar automático utilizado nas coletas ativas de ar do ambiente. A. Filtro para captura de propágulos em pontos pré-definidos da placa (seta). B. O mesmo aparelho mostrando a placa de Petri exposta ao ambiente para a captura de propágulos em pontos aleatórios do meio de cultura.....	51
Figura 18: Amostragem da múmia de lactente. Material coletado da superfície das bandagens e semeado diretamente sobre meio de cultura sólido na placa de Petri.....	52

Figura 19: Mini aspirador de poeira Bright ® adaptado, durante o desenvolvimento deste projeto, para coletas localizadas e em condições estéreis. A. Componentes: corpo do aparelho, bolsa coletora do ar, tubo de conexão, ponteira de pipeta descartável estéril. B. Ponteira estéril mostrando filtros de algodão posicionados para reter o material aspirado, e sonda acoplada. C. Ponteira de pipeta acoplada à sonda para coletas em canais e cavidades pequenas.....	53
Figura 20: Amostragem ativa: A. Amostrador de ar posicionado ao lado da vitrine na sala de exposição. B. Amostrador no interior da vitrine, próximo do corpo. C. Amostragem ambiental passiva: placa de Petri aberta próximo do corpo.....	54
Figura 21: Regiões da múmia de lactente escolhidas para a coleta de amostras: Seta a. Cabeça. Seta b. Tronco. Seta c. Pés.....	55
Figura 22: Coleta por aspiração de material seco e pulverulento. A. Ponteira introduzida em orifício na cabeça. B. Aprofundamento da coleta com auxílio de sonda, na mesma abertura. C. Aspiração de abertura nas bandagens na extremidade de um dos pés.....	55
Figura 23: Sistemas utilizados para controle de umidade dentro da vitrine de Hori. A. Escala de umidade. As cores variando de tons azuis a rosas representam o percentual de umidade no ambiente. A cor mais azulada da pastilha confirma que a umidade dentro da cápsula de Hori chegou a cerca de 80%. B. Sílica gel granulada e parcialmente hidratada que estava na gaveta sob a base de acrílico que suporta a múmia.....	56
Figura 24: Amostragem dos ambientes de exposição quando da coleta na múmia Hori. A. Amostrador posicionado para coleta próximo da vitrine. B. Amostrador posicionado no interior da vitrine, junto à cápsula plástica ainda fechada com o corpo mumificado. C. Amostrador posicionado para coleta dentro da cápsula.....	57
Figura 25: Áreas escolhidas para coletas de amostras sobre as bandagens da múmia Hori. Seta a. Cabeça. Seta b. Tórax. Seta c. Pernas. Seta d. Pés.....	58
Figura 26: Crescimento misto das colônias fúngicas após cultivo de amostra em meio de cultura SDA, à temperatura de 28°C, por 10 dias.....	59

Figura 27: Etapas do processamento das amostras coletadas dos corpos e dos ambientes relacionados às múmias e do isolamento fúngico.....	60
Figura 28: Preparo das cepas para o microcultivo e posterior análise microscópica. A. Retirada de uma porção de cada cepa. B. Semeadura em cubo de meio de cultura Sabouraud Ágar. C. Cobertura do cubo com lamínula. D. Hidratação do disco de papel de filtro com água destilada. E. Microcultivo pronto para ser mantido em temperatura ambiente, ou em 37°C. F. Microcultivo com colônia já desenvolvida. G. Remoção de lamínula de cima do cubo de meio de cultura. H. Colocação de lamínula sobre gota de Azul de Lactofenol na superfície da lâmina. I. Lâmina pronta para microscopia.....	63
Figura 29: Microscopia eletrônica de varredura de amostra de fragmento de bandagem coletada da área dos pés da múmia de lactente. Estruturas biológicas observadas (setas vermelhas). A. Filamentos agregados à fibra de bandagem. (Barra 50µm). B. Estrutura arredondada porosa semelhante a esporo vegetal. (Barra 20µm). C e D. Estruturas semelhantes morfologicamente a propágulos de alguns fungos filamentosos, como <i>Aspergillus</i> sp. (Barra 10µm) e <i>Alternaria</i> sp. (Barra 20µm), respectivamente.....	67
Figura 30: Amostras coletadas a partir dos ambientes de exposição da múmia de lactente. Crescimento de colônias em meio Sabouraud Ágar, após cultivo à temperatura de 28°C. A. Amostra do ar da sala de exposição, coletada por meio de amostrador, próxima da vitrine. B. Amostra do ar do interior da vitrine, coletada com amostrador. C. Amostra do ar da sala de exposição, coletada de forma passiva sobre a mesa, próximo à múmia.....	68
Figura 31: Amostras coletadas a partir dos ambientes de exposição da múmia do sacerdote Hori. Crescimento de colônias em meio Sabouraud Ágar, após cultivo à temperatura de 28°C. A. Amostra do ar da sala de exposição, coletada próxima da vitrine. B. Amostra do ar do interior da vitrine. C. Amostra do ar do interior da cápsula em que a múmia estava acondicionada. Ambas as amostras foram coletadas de forma ativa por meio do amostrador de ar automático.....	71

Figura 32: A. Junção vidro-madeira da vitrine (seta vermelha), por onde o material externo, constituído por poeira do ambiente penetrou na vitrine, ficando depositado sobre a cápsula. B. Depósito de poeira sobre a cápsula, presente abaixo da junção vidro-madeira da vitrine, destacado pelo círculo vermelho.....	72
Figura 33. Cepas leveduriformes isoladas da múmia de lactente e ambientes relacionados. A. Cepa M1b. B. Cepa M2b. C. Cepa M4b. D. Cepa M5b. E. Cepa M21b. (Barra 50µm).....	76
Figura 34: Gêneros fúngicos isolados a partir da múmia de lactente e seus ambientes de exposição. A. <i>Alternaria</i> . B. <i>Aspergillus</i> . (Barra 50µm). C. <i>Chaetomium</i> . (Barra 10µm). D. <i>Cladophialophora</i> . E. <i>Cladosporium</i> . F. <i>Curvularia</i> . G. <i>Fusarium</i> . (Barra 50µm).....	77
Figura 35: A – H. Cepas do gênero <i>Curvularia</i> isoladas a partir das amostras coletadas do corpo e dos ambientes de exposição da múmia de lactente. (Barra 50µm).....	77
Figura 36: Cepas isoladas a partir de amostras corporais da múmia de lactente. A. <i>Curvularia</i> . B. <i>Aspergillus</i> . C e D. <i>Alternaria</i> . E e F. <i>Chaetomium</i> . G. <i>Cladophialophora</i> . (Barra 50µm, exceto em E: 20 µm).....	78
Figura 37: Cepas isoladas a partir da amostra ambiental coletada de dentro da vitrine onde estava acondicionada a múmia de lactente. A, B e C. <i>Curvularia</i> . D. <i>Alternaria</i> . E. <i>Cladosporium</i> . (Barra 20µm em A, B e C; D e E: 50µm).....	79
Figura 38: Cepas isoladas a partir da amostra ambiental da Sala de Exposição coletada de forma ativa. A e B. <i>Curvularia</i> . C. <i>Cladosporium</i> . D. <i>Fusarium</i> . E. Micélio estéril. (Barra 50µm).....	80
Figura 39: Cepas isoladas a partir da amostra ambiental da Sala de Exposição coletada de forma passiva. A e B. <i>Curvularia</i> . C e D. <i>Alternaria</i> . (Barra 50µm).....	81
Figura 40: Gêneros fúngicos isolados a partir da múmia Hori e seus ambientes de exposição. A. <i>Aspergillus</i> . B. <i>Cladosporium</i> . C. <i>Acremonium</i> . D. <i>Paecilomyces</i> . E. <i>Penicillium</i> . F. <i>Trichoderma</i> . (Barra 50µm, exceto em A: 20µm).....	82
Figura 41: A, B e C. Cepas de fungos filamentosos isoladas dos ambientes de exposição da múmia Hori descritas como micélio estéril. (Barra 50µm).....	82

Figura 42: A - I. Cepas distintas do gênero <i>Aspergillus</i> isoladas dos ambientes de exposição da múmia do sacerdote Hori. (Barra 50µm, exceto em B, C, D, F e G: 20µm).....	83
Figura 43: Cepas distintas isoladas a partir das amostras corporais da múmia Hori. A, B e C. <i>Cladosporium</i> . D. <i>Penicillium</i> . (Barra 50µm).....	84
Figura 44: Cepas isoladas a partir da amostra de ar da vitrine onde estava exposta a múmia do sacerdote Hori. A e B. <i>Aspergillus</i> . C e D. <i>Penicillium</i> . E e F. <i>Acremonium</i> . (Barra 50µm).....	85
Figura 45: Cepas isoladas a partir dos ambientes de exposição da múmia do sacerdote Hori. A. <i>Paecilomyces</i> . Cepa isolada do depósito de poeira. B, C e D. <i>Aspergillus</i> . Cepas isoladas da amostra ambiental da sala de exposição. (Barra 50µm, exceto em C e D: 20µm).....	86
Figura 46: Cepas distintas isoladas da amostra de ar da cápsula onde a múmia do sacerdote Hori estava acondicionada. A, B, C e D. <i>Aspergillus</i> . E, F e G. <i>Penicillium</i> . H. <i>Trichoderma</i> . (Barra 50µm, exceto em A, C e D: 20µm).....	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Múmia de lactente. Distribuição dos isolados a partir das amostras ambientais e corporais, instrumentos de coleta das amostras e aspecto apresentado pelas cepas.....	66
Tabela 2. Múmia Hori. Distribuição dos isolados a partir das amostras ambientais e corporais, instrumentos de coleta das amostras e aspecto apresentado pelas colônias isoladas.....	70
Tabela 3. Distribuição dos gêneros fúngicos entre as múmias e seus ambientes de exposição e a quantidade de isolados positivos para crescimento em 37°C em cada área amostrada.....	74
Tabela 4. Distribuição das cepas leveduriformes, identificadas a partir do método Vitek®2, entre os ambientes de coleta.....	75

1. INTRODUÇÃO

Os problemas relacionados ao ambiente são multifatoriais e alguns deles envolvem microrganismos cuja dispersão natural, ou favorecida pelo homem, pode se tornar um risco para a saúde humana. Isso é especialmente verdade no caso dos fungos cujos propágulos podem dispersar-se em grande quantidade e permanecer nos ambientes por longo tempo¹.

Coleções e acervos de objetos podem tornar-se focos de proliferação para microrganismos patogênicos, como é o caso dos materiais arqueológicos armazenados em museus. Muitas peças são compostas, em sua maioria, por matéria orgânica, que é substrato para o desenvolvimento de microrganismos como bactérias e fungos². Durante o seu desenvolvimento, e em condições ambientais favoráveis, estes microrganismos podem crescer sobre diferentes tipos de substratos, provocando a biodeterioração dos mesmos. Também podem atuar como agentes causadores de doenças, quando inalados ou transferidos aos indivíduos que tiverem contato com os mesmos, dependendo da susceptibilidade individual³.

Com isto, o estudo das condições de trabalho e de armazenamento dos objetos arqueológicos dentro de museus está focado tanto na conservação destes, como na proposição de estratégias que inibam os riscos à saúde humana, evitando-se a proliferação e promovendo o controle de microrganismos que apresentem capacidade patogênica⁴.

Um dos tipos de acervos mais ameaçados é o de múmias egípcias, as quais, segundo a crença, deveriam ser conservadas para que a alma do morto perdurasse pela eternidade. Para isso, estes corpos eram tratados por diversos métodos e com uma variedade de substâncias, em sua maioria, de origem orgânica, para que se mantivessem conservados, processo conhecido como mumificação. Contudo, devido à susceptibilidade da matéria orgânica à ação de diversos microrganismos, principalmente, os fungos, as múmias egípcias estão permanentemente ameaçadas pela biodeterioração⁵.

Por outro lado, dada a capacidade de vários microrganismos de persistir sob formas inativas em diferentes ambientes e variadas condições, as múmias encontradas em coleções de todo o mundo funcionam como reservatórios de microrganismos. Isto é particularmente verdade nas regiões tropicais, onde as temperaturas e umidades elevadas favorecem a proliferação de diversas espécies de fungos, condição potencializada por formas inadequadas de armazenamento⁵.

Em 1995, no Brasil, ocorreu um caso de proliferação de fungos depois de um acidente sofrido por uma das múmias presentes na Coleção Egípcia do Museu Nacional/UFRJ, no Rio de Janeiro, chamando a atenção para os riscos à saúde dentro deste tipo de ambiente. Após fortes chuvas, uma parte do telhado do Museu foi avariada, fazendo com que a água penetrasse e atingisse alguns setores como os de Geologia, Paleontologia e parte do Departamento de Antropologia, que incluía o setor de arqueologia, onde estavam guardadas algumas peças da Coleção Egípcia não expostas. A situação mais crítica foi a da múmia do sacerdote Hori (Figura 1), que ficou cerca de 10 centímetros submersa por pelo menos 24 horas⁶.



Figura 1: Múmia do sacerdote Hori manipulada por profissionais do Museu Nacional durante o processo de secagem. Foto: Olga Caldas. Acervo do Museu Nacional do Rio de Janeiro.

Devido ao tempo de exposição à água, a múmia tornou-se amolecida e fragilizada, o que foi causado, entre outros fatores, pela dissolução do material de embalsamamento, prejudicando enormemente a peça, cujo valor científico e arqueológico é incontestável. Um dos problemas mais importantes naquele momento foi a proliferação exacerbada de fungos, uma vez que a hidratação da peça num período quente de verão criou condições que favoreceram tal evento. Na ocasião, foi levantada a suspeita de que estivessem presentes espécies de fungos patogênicos, em função do adoecimento de funcionários do museu envolvidos no processo de recuperação do material, após o acidente⁶.

Por esta razão, mesmo depois de seca e, parcialmente recuperada, a múmia permaneceu isolada, sendo mantida lacrada em um engradado de madeira, na reserva técnica do setor de Arqueologia, no térreo do Museu. Em 2001, o recipiente que continha a múmia foi novamente aberto (Figura 2) e realizou-se uma análise de suas condições de conservação sob a supervisão de especialista (Dra. Debra Meier), do Museu da Universidade Estadual de Nebraska, EUA.



Figura 2: Múmia do Sacerdote Hori durante a análise das suas condições de conservação realizada em 2001. Foto: Karl Reinhard.

Na ocasião, recomendou-se que fossem coletadas amostras da bandagem que envolvia o corpo, para que pudesse ser confirmada a existência de fungos, em função da existência de manchas escuras no tecido de linho dos envoltórios (Figura 3) e da presença de estruturas filamentosas esverdeadas na superfície da peça (Figura 4).

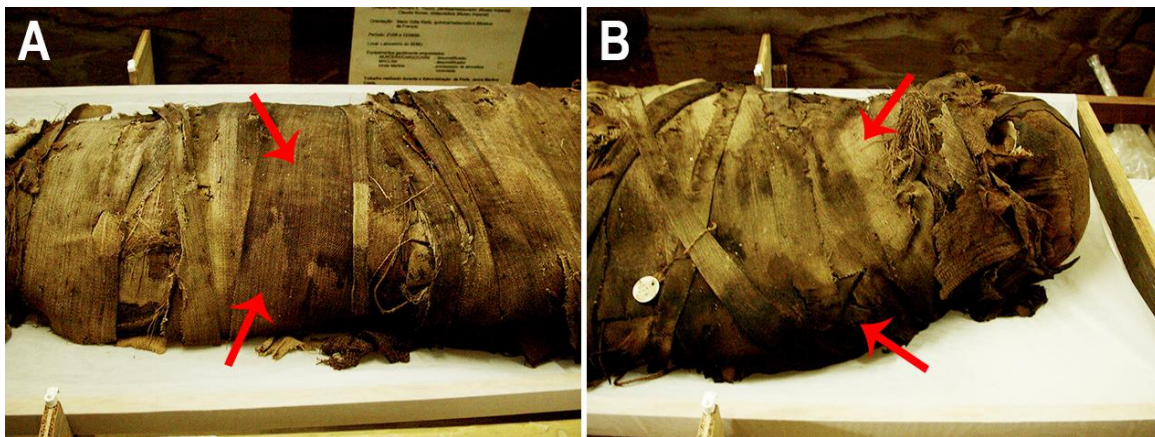


Figura 3: Múmia do Sacerdote Hori. A e B. Partes inferior e superior do corpo, respectivamente. Em ambas as partes são observadas diferentes colorações nas bandagens, como indicado pelas setas vermelhas. Fotos: Karl Reinhard.



Figura 4: Bandagem da múmia do Sacerdote Hori, com material filamentosso azulado semelhante a fungo (destacado no círculo em vermelho). Foto: Karl Reinhard.

Em período posterior, esta e outras múmias foram objeto de um projeto de conservação, sendo isoladas em cápsulas/bolhas plásticas preenchidas com nitrogênio (Figura 5) e mantidas praticamente livres de oxigênio conforme técnica preconizada na literatura⁷.



Figura 5: Múmia do Sacerdote Hori em isolamento dentro de cápsula plástica em atmosfera anóxica. Procedimento realizado em 2003. Foto: Karl Reinhard.

Previamente ao fechamento da cápsula, amostras do tecido que envolvia a múmia de Hori, bem como aspirados do ar de partes superficiais do corpo foram coletadas pela Dr^a Sheila Mendonça de Souza, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca da Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz. Estas amostras foram enviadas para o laboratório do Dr. Bodo Wanke, do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, da Fiocruz. Após semeadas em meios de cultivos específicos, foram isolados e identificados alguns microrganismos, como bactérias e fungos. Os fungos isolados foram *Aspergillus versicolor*, *A. sydowii*, *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Drechslera* sp., e outros fungos demáceos, caracteristicamente sapróbios, e que, eventualmente, podem estar associados com as doenças relatadas após o acidente (comunicação pessoal).

O material arqueológico, pela sua origem, sua natureza e condição de estocagem representa uma fonte potencial de contaminação microbiológica, a qual pode oferecer riscos ao ambiente e à saúde daqueles encarregados de lidar com este tipo de material. Da mesma forma, a presença de microrganismos no material arqueológico oferece riscos à sua conservação⁵.

O estudo das condições relacionadas à presença de fungos em coleções de museus é escasso no Brasil, apesar do consenso sobre sua relevância. Por outro lado, coleções de múmias egípcias são uma raridade de valor inestimável, sendo importante que sua manutenção seja eficiente e que os possíveis riscos à sua integridade sejam bem controlados⁵.

O acidente que levou à inundação da reserva técnica do Museu Nacional, submetendo a múmia egípcia do sacerdote Hori à umidade excessiva, causou grande proliferação de fungos nesse material arqueológico e o possível adoecimento de funcionários, levantando a questão do risco à saúde representado por esta contaminação, e aos problemas de conservação que se sucederam.

O presente estudo teve por objetivo a análise micológica de amostras coletadas de duas múmias egípcias do Museu Nacional e dos ambientes onde as peças estavam expostas, tendo em vista sua relação com a conservação e os riscos ambientais à saúde.

O conhecimento das espécies fúngicas que podem estar presentes nas múmias da Coleção Egípcia e no ar dos ambientes interno e externo do Museu Nacional possibilitará desenvolver programas ou ações voltadas à inibição e/ou diminuição da contaminação do acervo, contribuindo para sua preservação. Do mesmo modo, os resultados sobre a proliferação de fungos nas peças e nos ambientes analisados, proporcionam elementos para que se conheçam os riscos à saúde dos profissionais que ali trabalham com estes materiais.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Conceito de Múmia

As múmias são definidas como corpos fisicamente preservados ou partes de seus tecidos que mantêm semelhança com as suas estruturas morfológicas originais, quando em vida, e que resistem bem à deterioração durante certo intervalo de tempo, após a morte (Figura 6). Apesar dos corpos poderem preservar-se por diferentes modos, o processo mais prevalente é o da desidratação⁸.



Figura 6: Corpos preservados principalmente pela desidratação de seus tecidos. **A.** Múmia natural, conservada provavelmente pelo clima seco e frio da região onde foi encontrada no Peru. Foto: Karl Reinhard. **B.** Múmia artificial egípcia. Produzida pela aplicação de técnicas antrópicas de mumificação e conservada pelo emprego de variadas substâncias, como resinas vegetais e sal de natrão. Fonte: Balout & Roubet (1985)⁷⁰.

A palavra múmia tem sua origem nas palavras persas “*mumeia*” ou “*mum*” que designavam o betume, uma das substâncias possivelmente empregadas pelos egípcios no embalsamamento de corpos, durante o período Dinástico. Embora haja restrição, por parte de alguns autores, ao uso do termo múmia para os casos em que a preservação não se associa a um processo de desidratação, a palavra se generalizou. A literatura passou a definir não apenas os corpos embalsamados no Egito desta forma, mas também aqueles de origem humana ou animal, preservados tanto naturalmente, como artificialmente, em qualquer parte do mundo⁹.

Corpos humanos mumificados são encontrados em inúmeras sociedades espalhadas pelos diversos continentes. Como exemplo tem-se, na América do Sul, as múmias andinas, as Chinchorro, as cabeças encolhidas, as múmias naturais das regiões altas e secas, entre outras. Na América do Norte, as múmias do Ártico e as mumificações naturais dos Pueblos, no sudoeste dos Estados Unidos. Na Europa, são conhecidas as múmias geladas dos Alpes, as dos pântanos, as naturais e artificiais das catacumbas e igrejas e as Guanche das Canárias. Na Oceania, há múmias na Nova Zelândia e outros locais. Na Ásia, são encontradas naturalmente preservadas na China e na Sibéria. Contudo, as múmias mais famosas são as egípcias, destacando-se aquelas de Tutankhamun, Ramesses II (Figura 7) e Sethi I⁸.



Figura 7: Múmia do Faraó Ramssés II, repousada dentro de seu caixão de madeira. Fonte: Balout & Roubet (1985)⁷⁰.

O processo de mumificação pode ocorrer de várias maneiras, como consequência de condições ambientais, sendo assim de forma espontânea ou pode ser derivado da ação intencional humana ou ação antrópica, podendo, em alguns casos, ambas as formas se associarem⁸.

Muitos grupos humanos foram capazes de reproduzir o processo de mumificação e o tornaram uma prática comum, em suas culturas, geralmente, relacionada aos ritos funerários e à religião. Alguns destes povos, possivelmente, o fizeram observando a preservação natural dos corpos, favorecida pela exposição a ambientes naturais, como geleiras perenes, pântanos e desertos⁹.

No Egito, por exemplo, a prática de enterrar os mortos em locais onde as condições climáticas aceleravam a perda da água dos corpos, como no deserto quente e seco, favorecia a ocorrência de uma mumificação natural. O solo muito árido, associado à temperatura elevada, acelerava o processo de desidratação dos corpos, preservando, assim, suas camadas mais superficiais. Mesmo que os órgãos internos não se preservassem bem, a pele dos indivíduos tornava-se rígida como um couro, permitindo a preservação da sua forma e os ossos em posição¹⁰.

Isto ocorreu durante todo o período Pré-Dinástico, quando os mortos não eram mumificados. Os corpos deste período foram achados em condições naturais de preservação. Estes eram enterrados diretamente na areia, sem qualquer tipo de bandagem, e mantinham-se preservados. Historicamente, começaram a ser descobertos quando foram expostos pela ação do vento, de animais ou pelo homem, quando realizava escavações. Tornaram-se modelos para o desenvolvimento e aprimoramento de técnicas de preservação artificial, desenvolvidas pelos egípcios, a partir da observação dos fatores naturais que favoreciam sua conservação⁸.

A mumificação artificial surgiu no Egito, no final do período Pré-Dinástico, e foi sendo aprimorada com o passar do tempo. Por volta de 4000 anos a.C., os corpos começaram a ser envoltos em pele de animais, geralmente, de cabras ou gazelas. A mumificação com o uso de pele de animais foi característica desse período, havendo apenas uma exceção: uma múmia conhecida como *Unknown Man*, datada da XVIII Dinastia (1550 - 1307 a.C.), ou posterior, encontrada em Deir el-Bahari, Egito⁸.

Os egípcios passaram a mumificar seus mortos, pois acreditavam que a preservação do corpo humano após a morte do indivíduo era uma pré-condição para o prolongamento da existência pessoal, ou seja, a preservação da alma, da essência deste mesmo indivíduo^{11, 12}.

Algumas das técnicas empregadas durante a mumificação artificial exigiam várias etapas de embalsamento do corpo e os primeiros registros históricos deste processo são atribuídos a Heródoto (século V a.C.). Havia três métodos para se embalsamar o indivíduo que envolviam, principalmente, a desidratação pela exposição do cadáver ao sal, conhecido como natrão, o tratamento posterior com substâncias variadas como mel, resinas, betume (Figura 8), especiarias do solo como cássia e canela, além de vinho de palma, mirra e outras substâncias aromáticas que eram usadas na lavagem dos corpos, os quais ainda poderiam ser preenchidos com certos materiais, como areia, palha, serragem e tecidos¹³.

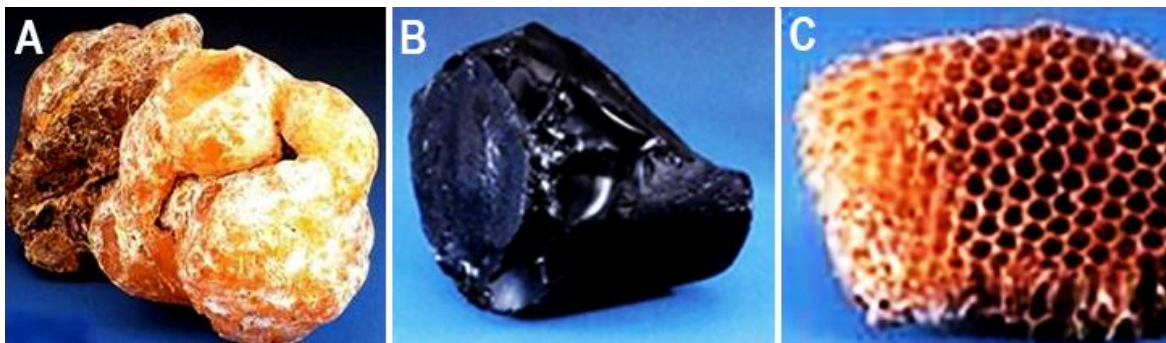


Figura 8: Materiais que poderiam ser usados nos processos de mumificação. **A.** Resina vegetal. **B.** Betume. **C.** Cera de abelha. Fotos: Antonio Brancaglioni Junior.

Os métodos de mumificação, assim como as substâncias utilizadas, variavam de acordo com a região e a época em que eram realizados no Egito, podendo incluir a retirada de um maior ou menor número de órgãos, inclusive o cérebro. Além de corpos humanos, os egípcios também produziram mais de um milhão de múmias de animais, como aves, répteis e mamíferos¹¹.

2.2. A Coleção Egípcia do Museu Nacional do Rio de Janeiro

O Museu Nacional do Rio de Janeiro abriga uma importante coleção de bens históricos e arqueológicos, originários do Egito Antigo, que compõem um acervo de mais de 500 peças, entre as quais estão caixões, estelas funerárias, estatuetas, amuletos, papiros, múmias de animais e humanos, entre outros objetos¹⁴.

Todo o material que compõe a coleção possui grande importância arqueológica, artística e histórica, além de apresentar grande valor científico. Atualmente, faz parte do patrimônio da nação brasileira e é objeto de estudos voltados, principalmente, para os textos hieroglíficos e estelas funerárias¹⁴.

O acervo do Museu Nacional representa a maior coleção de múmias egípcias da América Latina, destacando-se as múmias de Harsiese (inventário 155), Hori, o Sacerdote de Amon (inventário 527), Romana (inventário 158) e Sha-amum-em-su, a cantora de Amon (inventário 532). Sua importância se deve ao fato de serem múmias de personalidades destacadas em seu período. Também estão incluídas na coleção duas crianças mumificadas (uma de cerca de 12 anos, e um lactente) e partes de corpos humanos mumificados, tais como cabeças, pés e dedos, além de múmias de animais como crocodilos, íbis, peixe e gatos¹⁴. No total, existem 29 peças, incluídas as partes mumificadas.

A Coleção Egípcia do Museu Nacional teve seu início com a aquisição de peças leiloadas pelo comerciante Nicolau Fiengo, em 1825, no Rio de Janeiro. Estas peças faziam parte de uma coleção de antiguidades egípcias provenientes de escavações do famoso explorador Giovanni Battista Belzoni. O destino delas era Buenos Aires, Argentina, mas devido a problemas ocorridos no porto, Fiengo não pode continuar a transportá-las. Assim, o acervo acabou sendo exposto no Rio de Janeiro, para ser vendido em leilão, sendo comprado pelo então imperador Dom Pedro I, um grande admirador da cultura egípcia¹⁴.

Dom Pedro I doou as peças ao Museu Real. Com o passar do tempo, novas peças foram sendo adquiridas, passando a integrar a coleção, principalmente, aquelas adquiridas por Dom Pedro II. Entre as peças que passaram a integrar, posteriormente, a coleção, destaca-se a múmia de Sha-amum-em-su, concedida como presente oficial a Pedro II, durante sua visita ao Egito. Em 1892, após a proclamação da República, o antigo Museu Real, transformado em Museu Nacional, foi transferido, com todo o seu acervo, para o antigo Palácio de São Cristóvão, na Quinta da Boa Vista, onde ainda permanece¹⁴.

2.3. Os problemas associados aos fungos

2.3.1. Riscos para a saúde

Anteriormente à teoria microbiana das doenças, acreditava-se que o adoecimento dos indivíduos que entravam em contato com múmias estaria associado com algum tipo de maldição dos faraós. Cada nova múmia descoberta parecia coincidir com relatos de adoecimento de seus descobridores. Histórias de arqueólogos e outros profissionais “amaldiçoados” por múmias permearam no imaginário popular por muito tempo. O caso mais conhecido foi a “Maldição da Múmia” ou a “Maldição de Tutankhamun”, que, para muitos, pareceu justificar algumas fatalidades ocorridas com pessoas que participaram do resgate do corpo daquele faraó, em 1922 (Figura 9), bem como a morte do seu descobridor, o arqueólogo Howard Carter¹³. Mas os fungos presentes em múmias, assim como nos ambientes arqueológicos de túmulos, santuários, criptas, além de poderem causar biodeterioração podem, ao mesmo tempo, acarretar riscos à saúde. Dessa forma, com o progresso do conhecimento, os primeiros registros da presença dos fungos em múmias foram associados aos problemas de saúde observados entre os que trabalharam com este tipo de material³.



Figura 9: Caixaão do Faraó *Tutankhamun*, observado por seu descobridor, o arqueólogo Howard Carter (em primeiro plano na imagem), e por um de seus assistentes. Fonte: <http://gypsyalexandraamayamarquez.blogspot.com.br>.

Em 1962, foi descoberto por Taha, da Universidade do Cairo, que a causa dos problemas de saúde sofridos por alguns destes indivíduos havia sido a inalação de esporos de fungos do gênero *Aspergillus*, presentes na tumba, na múmia e no ambiente onde a múmia se encontrava¹⁵. Outros estudos apontaram como causa principal dos adoecimentos e mortes a inalação de esporos do fungo *Histoplasma capsulatum*, isolado dos pulmões de algumas das vítimas fatais, após necrópsia. Este fungo é capaz de causar uma micose sistêmica, conhecida como histoplasmose, que teria provocado pneumonias e levado os indivíduos afetados à morte¹⁶.

Outros episódios de adoecimento associados com a exposição aos corpos mumificados contaminados por fungos têm sido descritos. Em 1973, após a abertura do túmulo do Rei polonês Casimiro III, o Grande, quatorze arqueólogos morreram de febre e insuficiência respiratória. O quadro foi associado, posteriormente, à ação dos fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus*, sendo uma grande quantidade de esporos destes fungos encontrada no fêmur da múmia e nos objetos presentes em seu túmulo¹⁵.

Múmias naturais também sofrem com a ação de fungos. Em 1979, no norte Umanak, Groenlândia, foi estudada a múmia de uma criança Esquimó de sete meses de idade e 500 anos de antiguidade. A pele de seu corpo estava recoberta por fungos, incluindo *Sporothrix fungorum*, uma espécie ambiental não associada à enfermidades humanas¹⁷.

Em estudo microbiológico realizado com 23 múmias dos cemitérios e cavernas da região norte do México, foram identificados fungos do gênero *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Alternaria* e *Candida* (*C. tropicalis* e *C. albicans*). Importa mencionar que, naquele estudo, a presença do gênero *Candida*, que está relacionado a uma das micoses oportunistas mais frequentes e responsáveis por quase um quarto das doenças fúngicas no mundo não era esperada¹⁸.

Em avaliações microbiológicas realizadas no Museu de El Carmem, no México, foram isoladas de amostras do ambiente, das paredes e de múmias, mais de 700 colônias fúngicas, com 24 gêneros diferentes, sendo *Penicillium*, *Cladophialophora*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Alternaria* e *Bipolaris* os gêneros predominantes. A presença de uma grande variedade de substratos orgânicos favoreceu a proliferação de fungos dentro do museu³.

Em investigações semelhantes realizadas no Museu Regional Adolfo Bermúdez Jenkins, Peru, foram isoladas do ar, das paredes e de múmias, mais de 300 colônias de fungos, com 13 gêneros diferentes, sendo *Cladosporium*, *Penicillium* e *Acremonium* os prevalentes. Além do número considerável de isolados, houve uma variedade de gêneros nos três diferentes grupos de amostras. Isto pode tanto acarretar um risco maior de deterioração dos materiais contaminados, como ser crítico para o risco de doenças, principalmente respiratórias, em pessoas que trabalham ou visitam aquele museu¹⁹.

De acordo com os autores, em relação aos fatores que afetam o crescimento de fungos (temperatura e umidade), verificou-se que havia diferenças consideráveis entre a área de amostragem e o número de isolados.

A presença de fungos parece ser um achado característico em museus de diferentes países no mundo, sejam estes isolados de múmias ou de outros substratos. Um resumo dos principais achados destes organismos em objetos históricos de museus revela quatro principais gêneros, a saber, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Penicillium*²⁰.

Em relação a este aspecto, duas possibilidades devem ser levadas em conta: as múmias são substrato vantajoso para a proliferação de fungos, que por sua vez, podem permanecer inertes, inclusive, por centenas de anos, nos materiais e nos ambientes em que estas se encontram, tais como túmulos, catacumbas, cavernas e museus. Nestes locais, portanto, estão concentrados microrganismos potencialmente contaminantes, que também podem oferecer riscos à saúde daqueles que entram em contato com materiais arqueológicos presentes nos ambientes⁴.

Deve-se lembrar também que os fungos encontrados contaminando múmias podem representar deposições antigas ou recentes neste material e que certas condições ambientais, nos museus, tais como umidade, temperatura e luminosidade adequadas favorecem o desenvolvimento, e aumentam o poder de dispersão destes microrganismos³.

Além disso, no caso dos museus e instituições similares, situações potencialmente perigosas de contaminação por fungos são devidas à manipulação inadequada das peças como, por exemplo, sem a utilização de equipamentos de proteção individual (EPI), que evitam que haja um contato direto das mãos ou partes do corpo com os materiais arqueológicos, ou a inalação de partículas desprendidas destes. Cabe lembrar que o uso de tais equipamentos, muitas vezes, é ainda mais importante para proteger as peças, que, por sua vez, também podem ser contaminadas durante o manuseio²¹.

Dentro dos sítios arqueológicos, por exemplo, alguns períodos mais prolongados, como os que se seguem às escavações de tumbas, favorecem a formação de partículas em suspensão que são continuamente inaladas, além de atingirem as mucosas dos olhos e ficarem depositadas sobre a pele. Estas certamente são determinantes para a contaminação e eventual adoecimento de arqueólogos e suas equipes, pois podem existir microrganismos ainda viáveis no material em suspensão²². Outro risco pode ser representado pela fauna atual presente nestes sítios, que também pode ser carreadora de fungos do gênero *Histoplasma*, associados aos dejetos de morcegos, encontrados em cavernas e construções antigas²³.

2.3.2. Biodeterioração

Os objetos presentes em alguns museus, tanto nas exposições como em seus depósitos, podem ser seriamente afetados pela contaminação fúngica. Por isso, a prevenção do crescimento desses organismos nestes locais, assim como o desenvolvimento de medidas de

tratamento para objetos contaminados, torna-se um desafio para os restauradores, curadores e arquitetos. Isto tem implicações sobre as técnicas de higienização e conservação de objetos⁴.

Para que os fungos se desenvolvam sobre tais materiais, devem estar presentes algumas condições favoráveis, como a disponibilidade de nutrientes e a possibilidade de ação enzimática sobre os materiais, a existência de alta umidade relativa do ar (acima de 65%), de pouca luminosidade no ambiente, além de temperaturas adequadas. O desenvolvimento do fungo provoca consequências graves para a preservação dos materiais, que vão desde danos na aparência original (Figura 10) até a sua destruição total²¹.



Figura 10: Biodeterioração de múmias de freiras do Museu de El Carmem, México, provocada por fungos. As setas vermelhas indicam em **A**, alterações provocadas na coloração dos mantos; em **B**, fragmentação de partes do corpo. Foto: Carlos Contreras. Fonte: López-Martínez *et al.* (2007)³.

A ação de microrganismos, afetando a integridade de determinado material, é chamada de biodeterioração²⁴. O termo passou a ser usado há pouco mais de quarenta anos, sendo definido como um processo de alteração indesejável nas propriedades de um material gerado pela ação de um organismo²⁵.

Na natureza, tal processo pode ocorrer nas rochas, atuando na decomposição destas, que, posteriormente, darão origem ao solo. A participação de enzimas microbianas hidrolisantes é considerada a maior força bioquímica destrutiva neste processo. Entre os agentes biológicos (microrganismos) que participam do processo de biodeterioração, estão algas, fungos e bactérias²⁵.

Os processos de biodeterioração são classificados como: mecânico, onde o material é degradado pela atividade do organismo por meio de seu deslocamento ou crescimento, por assimilação química, quando um material é degradado em função de suas propriedades nutritivas (como a degradação da celulose), ou biodeterioração química, por descarte, onde ocorre uma avaria pela produção e excreção de metabólitos e, por fim, deterioração por esfarinhamento, quando ocorre pela simples presença de um microrganismo ou de seus metabólitos de excreção²⁵.

Certos microrganismos, como leveduras do gênero *Rhodotorula*, bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Micrococcus* e *Pseudomonas*, além de fungos filamentosos dos gêneros *Ulocladium*, *Phoma*, *Alternaria*, *Penicillium* e *Cladosporium* foram identificados como os mais frequentemente isolados de paredes de monumentos históricos na Espanha²⁶.

Em amostras de ar interior de templos hindus, na Índia, foi isolada uma microbiota fúngica biodeteriorante das pinturas murais, composta pelos fungos dos gêneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Beltrania*, *Chaetomium*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Emericella*, *Fusariella*, *Rhizopus*, *Trichoderma*, *Phialophora* e *Helminthosporium*²⁷.

Dentro dos museus, os materiais arqueológicos também são alvos de estudos com relação à microbiota biodeteriorante, sendo este um assunto bem abordado na literatura sobre conservação de material de relevância histórica⁵.

No *Baroda Museum and Picture Gallery*, em Vadodara, Índia, foram isolados da poeira de caixas funerárias egípcias, 17 gêneros distintos de fungos, tendo diversas espécies de *Aspergillus* como microbiota dominante. A presença destes fungos pode acarretar riscos para a conservação dos materiais expostos ou armazenados²⁸.

Em trabalho realizado com tecidos pertencentes às diversas múmias dos museus *Egyptian Museum* e *Coptic Museum*, no Egito, foram isoladas várias espécies de fungos dos

gêneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Penicillium* e *Trichoderma*, os quais já foram descritos na literatura por sua capacidade de biodeterioração de corpos mumificados²⁹.

Nos museus egípcios *Ismailia Museum*, *El-Dokki Agriculture Museum* e *Ehnasia Museum* foram isolados, de amostras coletadas da bandagem de múmias humanas, alguns fungos responsáveis pela produção de enzimas extracelulares, tais como avicelase, CMCase e celobiase, as quais possuem papel relevante no processo de biodeterioração. Dentre as espécies fúngicas identificadas, estavam *Alternaria tenuis*, *Aspergillus humicola*, *Aspergillus niger*, *Chaetomella horrida*, *Chaetomium globosum*, *Hormodendrum viride* e *Penicillium corylophilum*³⁰.

O clima tropical do Brasil favorece o desenvolvimento de fungos e bactérias, contribuindo para sua proliferação e maior degradação de materiais em museus, quando comparado ao que ocorre em outros países não tropicais. Nas regiões litorâneas, a umidade relativa do ar pode chegar a 80 - 82%, em média, o que é um risco considerável para a proliferação destes microrganismos³¹. Ainda que sejam necessárias condições ambientais ótimas para o crescimento microbiano sobre materiais arqueológicos armazenados, os fungos são capazes de permanecer sobre estes ou no ambiente, por longos períodos, na forma de estruturas de resistência, como esporos e clamidósporos. Estudos revelam que as condições ideais para a reemergência de esporos dormentes podem estar associadas à temperatura de 0°C a 70°C e a umidade em torno de 70%²⁵.

Alguns dos materiais presentes em museus podem ter centenas ou até milhares de anos, como no caso de corpos mumificados. Ao longo deste período, podem ter sido expostos a distintos ambientes e condições climáticas, o que permite que sejam colonizados e armazenem diferentes microbiotas⁵. Isso provavelmente deve ter ocorrido com as múmias da coleção egípcia do Museu Nacional, que vieram de um clima desértico do Egito, ficando, por dois séculos, em clima tropical quente e úmido, com uma expressiva biodiversidade natural.

Em princípio, corpos como estes, além de estarem contaminados por fungos do período atual, podem manter preservadas formas inativas de microrganismos antigos. Estes últimos permanecem em longos períodos de latência até que ocorram condições favoráveis à sua ativação e, conseqüente desenvolvimento, dando início à destruição das peças sobre as quais se encontram⁵. Assim sendo, muito embora, nos estudos micológicos em material arqueológico, geralmente, se trabalhe com a hipótese de microrganismos contemporâneos e

não antigos, não se pode excluir totalmente a possibilidade de também se encontrar espécies de fungos derivadas de locais e períodos diferentes daqueles em que se encontram armazenados os objetos estudados²⁵.

2.4. Classificação dos fungos

A taxonomia é a ciência da classificação, onde são atribuídas categorias definidas aos objetos em estudo. Apresenta como funções principais: fornecer um quadro de características reconhecíveis pelas quais um organismo, em análise, pode ser identificado, permite agrupar os organismos relacionados uns com os outros e auxiliar na recuperação de informações sobre o organismo identificado na forma de uma lista ou catálogo taxonômico³².

As primeiras classificações dos fungos datam do século XVIII, a partir dos trabalhos pioneiros do botânico *Carolus Linnaeus* e outros taxonomistas, tendo à época os fungos sido classificados, conforme aspectos morfológicos e fisiológicos juntos com os vegetais.

Contudo, desde a criação do reino *Fungi*, em 1969, no qual estes seres vivos passaram a ser classificados em um reino próprio, a classificação taxonômica das diversas espécies passou por grandes mudanças. Isto se deu, principalmente, com o advento de novas tecnologias e os avanços nos estudos de biologia molecular, juntamente com o aprimoramento nos estudos com microscopia eletrônica, iniciados por volta de 1970²³. Com isso, novas ferramentas puderam ser empregadas no estudo destes microrganismos e outros parâmetros, principalmente químicos e moleculares, passaram a ser cada vez mais considerados para classificá-los³³.

O desenvolvimento e progresso da microscopia eletrônica e sua utilização no estudo dos fungos, assim como de outros organismos, possibilitou a observação de aspectos ultraestruturais das células até então desconhecidos. Enquanto o uso dos microscópios eletrônicos de transmissão (MET) passou a ser bastante difundido no estudo dos materiais biológicos, pois estes permitiam definir imagens intracelulares, aspectos gerais das organelas e a interação de parasitas com as células, por exemplo, os microscópios eletrônicos de varredura (MEV), tornaram-se uma ferramenta indispensável para muitos tipos de pesquisas biológicas, tendo contribuído para a classificação taxonômica de fungos e insetos, além de estudos da morfologia de pólenes e de outras estruturas vegetais e animais³⁴.

O uso do MEV para a análise morfológica de fungos contribuiu com a identificação de diferentes espécies (Figura 11), assim como para demonstrar as modificações de estruturas fúngicas apresentadas durante a interação com os vegetais, por exemplo, sendo também uma ferramenta chave na classificação de alguns fungos, como os da ordem uredinales³⁵.

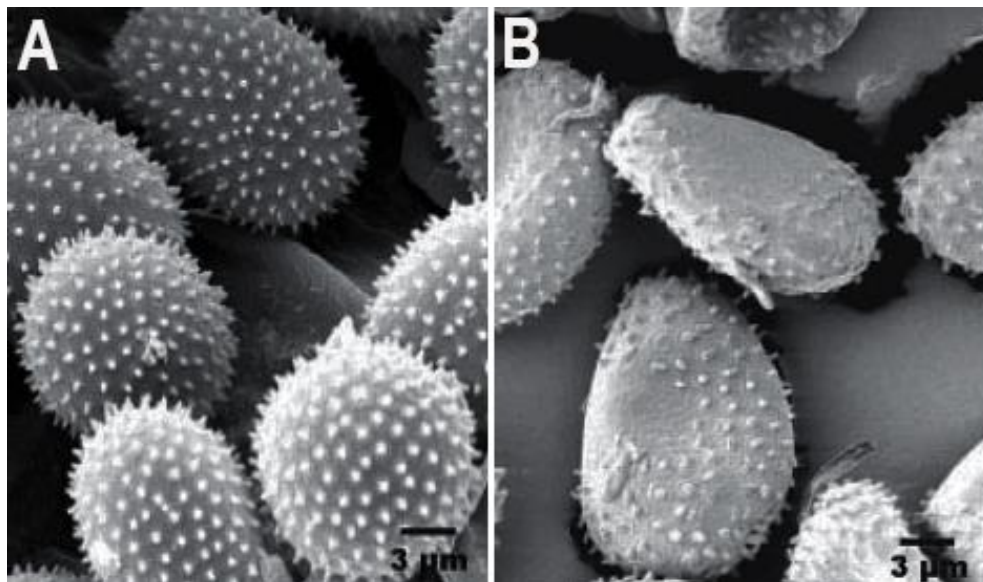


Figura 11: A e B. Microscopia Eletrônica de Varredura de esporos característicos de duas espécies distintas de fungos da ordem uredinales. Fonte: Mio *et al.* (2006)³⁵.

Da mesma forma, os estudos moleculares também receberam grande impulso. A partir do conhecimento cada vez maior das sequências de DNA de diversos grupos fúngicos e o crescente número de estudos filogenéticos, ocorreram consideráveis mudanças na classificação dos mesmos, principalmente, a partir da publicação de inúmeros estudos de filogenia no início do século XXI. Centenas de artigos têm sido publicados em revistas especializadas de micologia abordando temas filogenéticos e cerca de 80% das mais de 100.000 sequências de genes rRNA fúngicos já identificadas foram depositadas no GenBank. A classificação mais recente, proposta com base em análises moleculares, inclui 195 taxa descritos até o nível de ordem, sendo separados em: 1 reino, 1 subreino, 7 filos, 10 subfilos, 35 classes, 12 subclasses e 129 ordens^{33, 36}.

Contudo, embora a taxonomia molecular seja atualmente uma ferramenta de suma importância no estudo e classificação de fungos, principalmente, quando voltada ao conhecimento da diversidade genética dos vários grupos taxonômicos, a taxonomia convencional, baseada na análise microscópica, descrição e comparação de estruturas

morfológicas típicas e nos aspectos biológicos e ecológicos apresentados pelos fungos, durante o seu desenvolvimento, ainda é bastante importante na identificação e classificação das diversas espécies. A partir do reconhecimento e identificação inicial dos fungos por métodos convencionais, os métodos moleculares podem ser empregados para apoiar os resultados, quando necessário^{37, 36}.

2.4.1. Reino Fungi

O Reino Fungi inclui uma grande variedade de organismos microscópicos e macroscópicos, com dimensões que vão desde micrômetros a até centímetros. São seres eucariontes, heterotróficos, amplamente distribuídos por variados tipos de ambientes. Possuem um ciclo de vida simples, desenvolvendo-se a partir de células únicas, como as leveduras (Figura 12, A e B), que se reproduzem por fissão ou brotamento ou por um ciclo geralmente complexo, com o desenvolvimento de estruturas de reprodução sexuada (Figura 12, C e D)²³.

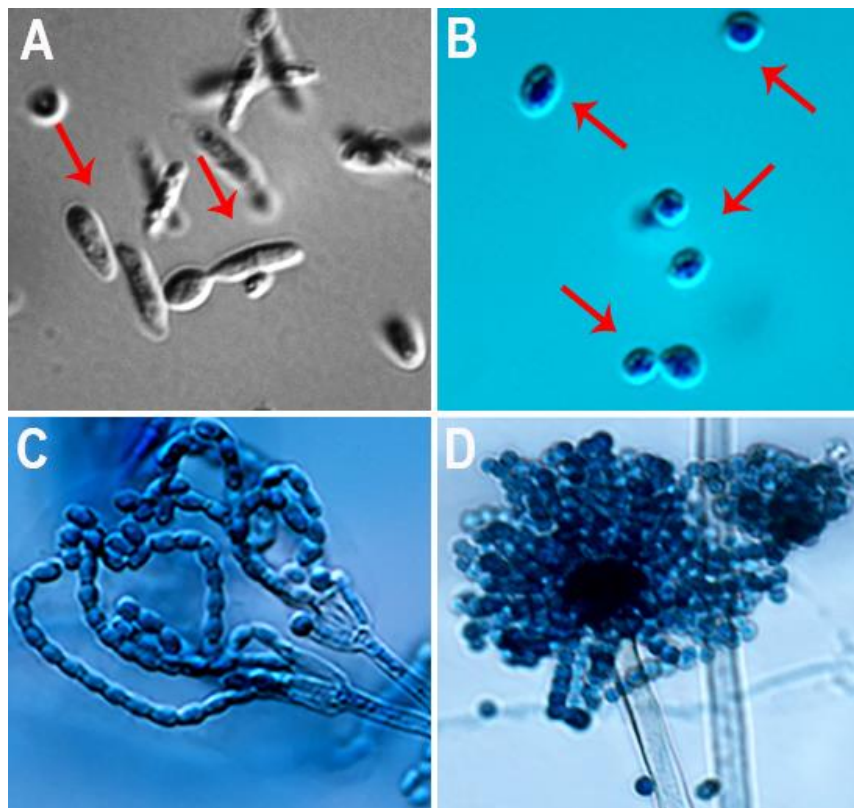


Figura 12: Visão microscópica de fungos uni e pluricelulares. **A, B.** Células de fungos leveduriformes, indicadas por setas vermelhas. **C, D.** Conidióforos: estruturas reprodutivas de alguns fungos filamentosos. Fonte: <http://www.mold.ph>.

De modo geral, a maioria das espécies é aeróbica, entretanto, algumas sobrevivem em microaerofilia, principalmente, espécies de leveduras, durante os processos de fermentação dos alimentos. São descritas, atualmente, na literatura cerca de 120.000 espécies de fungos, porém é estimada a existência de aproximadamente 1.500.000 na natureza, o que torna os fungos um dos recursos menos explorados da biodiversidade de nosso planeta^{38, 23}.

2.5. Características biológicas dos fungos

A estrutura celular fúngica pode variar de acordo com o tipo de fungo estudado. As espécies filamentosas apresentam estruturas somáticas tubulares conhecidas como hifas, as quais são ligeiramente uniformes em alguns grupos taxonômicos. Tais estruturas são frequentemente diferenciadas em cada um dos grupos, de acordo com a presença ou ausência de paredes transversais ou septos, sendo classificadas como apocíticas, quando são septadas, e como cenocíticas, quando não septadas³⁹.

As hifas são classificadas como verdadeiras e falsas. As hifas verdadeiras são aquelas que crescem sem interrupção, a partir de germinação de um esporo. As hifas falsas ou pseudo-hifas são as que crescem por gemulação ou por brotamento sucessivo, como ocorre nas leveduras. O conjunto de hifas é denominado micélio, que pode ser classificado em dois tipos, de acordo com o arranjo das hifas: prosênquima, quando apresenta uma configuração notadamente filamentosa e pseudoparênquima, quando não é possível identificar tal configuração, apresentando um aspecto de parênquima. É dito que as leveduras possuem um pseudomicélio, ou micélio gemulante, por possuírem pseudo-hifas^{40, 37}.

Os fungos filamentosos apresentam um micélio que pode ser dividido em duas funções biológicas: micélio vegetativo, responsável pelo crescimento e expansão do fungo dentro ou sobre o substrato; e micélio reprodutivo, o qual se diferencia do estado vegetativo, originando estruturas responsáveis pela reprodução³⁷.

Existem fungos capazes de alternar entre as formas micelial e leveduriforme, e o processo pelo qual o fazem é chamado dimorfismo, sendo tais fungos conhecidos como dimórficos. A alternância em ambas as formas se dá conforme o ambiente em que estejam se desenvolvendo. Geralmente, os fungos filamentosos, quando em desenvolvimento no organismo humano, diferenciam-se em leveduras, podendo migrar por várias partes do corpo²³.

Durante o processo de nutrição, os fungos liberam enzimas, como ligninases, celulases, e pectinases⁴¹, que provocam lise nas moléculas presentes nos diferentes substratos, transformando-as em segmentos menores que são então absorvidos. Daí os fungos serem considerados heterotróficos para carbono, apresentando tomada de nutrientes por absorção, já que o desdobramento de nutrientes ocorre fora do organismo⁴². Os fungos agem como sapróbios quando desdobram a matéria orgânica morta, e, como parasitas, quando retiram nutrientes de outros organismos vivos, que atuam como hospedeiros⁴³.

Ao buscarem a matéria orgânica para sua nutrição, os fungos degradam os substratos sobre os quais estejam se desenvolvendo, por meio de seu crescimento e liberação de enzimas, sejam estes formados por matéria viva ou morta. Isso se torna um risco para a preservação, principalmente, de objetos compostos por materiais de origem orgânica. No caso de coleções de museus, parte significativa das mesmas pode ser de natureza orgânica e quando são expostas em locais com uma ventilação deficiente e uma umidade relativa do ar acima de 65%, geralmente, tornam-se alvos frequentes da ação de fungos e outros microrganismos⁴.

Os fungos se reproduzem por meio de variados mecanismos, que podem envolver formas sexuadas e assexuadas. A reprodução assexuada pode envolver a especiação de hifas, que originam estruturas reprodutoras denominadas conídios, os quais germinam sobre variados substratos em condições ambientais favoráveis e/ou através da fragmentação do micélio, onde partes de hifas também podem germinar, originando um novo indivíduo. Este tipo de reprodução pode favorecer a dispersão mais rápida dos propágulos. Já na reprodução sexuada, indivíduos sexualmente compatíveis podem fundir suas hifas, dando origem a estruturas especializadas, formadoras de esporos⁴⁴.

Podem ser encontrados, praticamente em todos os ambientes do planeta, desenvolvendo-se em diversos substratos, como nos alimentos, nos tecidos, na madeira de construções antigas, nos animais e nas plantas ou em qualquer outra fonte da qual possam extrair nutrientes. A conquista de inúmeros ambientes teria sido facilitada pela produção de uma grande quantidade de esporos, uma capacidade adquirida pelos fungos durante sua evolução²³.

Existem condições ideais para o desenvolvimento fúngico que estão relacionadas tanto com fatores abióticos, como a temperatura, a umidade relativa do ar, a luminosidade, por

exemplo, quanto com fatores bióticos, entre os quais a disponibilidade de nutrientes básicos (C, N, P, K, Ca e Mg, por exemplo)⁴². Em alguns casos, a fisiologia do fungo apresenta alguma especificidade. Entre os fungos micorrízicos, ou os líquens, por exemplo, ocorre uma troca de fotossintatos (macrossimbiontes) e nutrientes (microsimbiontes). As substâncias são armazenadas na forma de glicogênio, no micélio, ou em células especiais, como clamidósporos ou vesículas⁴⁵.

A temperatura ideal para o desenvolvimento da maioria das espécies de fungos está na faixa entre 20-30°C. Entretanto, muitos se desenvolvem, ou pelo menos sobrevivem, em temperaturas extremas como a do nitrogênio líquido (-195°C). Alguns fungos possuem como temperatura ótima para crescimento, aquelas próximas de 37° C, que é a temperatura média do corpo dos mamíferos⁴².

Sendo a temperatura uma de suas determinantes ambientais mais importantes, a diversidade fúngica tende a aumentar nas regiões tropicais, onde altas temperaturas favorecem o desenvolvimento de variadas espécies^{31, 5}. Já o pH ótimo para o crescimento da grande maioria das espécies está próximo de 6⁴².

Por serem aeróbios, os fungos necessitam de oxigênio para sobreviver, mas são capazes de se manter com concentrações baixas deste gás, ou até mesmo, em sua ausência. Neste caso, diminuem seu metabolismo, mantendo-se em dormência ou com metabolismo em nível basal, na forma de estruturas de resistência^{46, 33}. A maioria das leveduras, por sua vez, é anaeróbia facultativa e obtém o oxigênio que necessitam através de processos fermentativos. Esta capacidade faz com que alguns procedimentos de conservação, que visam reduzir a sua bioatividade, proponham diminuir a concentração de oxigênio do material a ser tratado, através da montagem de cápsulas especiais de atmosfera artificial controlada, de onde é retirado quase totalmente o oxigênio⁷.

Entretanto, a resistência de alguns fungos em anaerobiose os torna um dos tipos de organismos mais difíceis de erradicar, não sendo garantida a sua eliminação ou perda de sua viabilidade, mesmo em atmosferas especiais de CO₂, ainda que este seja um dos tratamentos recomendados modernamente para aplicação em museus e coleções⁵.

2.5.1. Formas de dispersão dos fungos

Os propágulos produzidos pelos fungos, durante a sua reprodução, são dispersos na natureza por diferentes vias, por animais, inclusive o homem, água e, principalmente, pelo ar atmosférico, sendo transportados facilmente pelo vento e carreados por grandes distâncias. As espécies fúngicas que se dispersam pelo vento recebem o nome de anemófilas e constituem um dos principais contaminantes do ar. Com isso, o conhecimento das formas de dispersão dos diferentes fungos torna-se muito importante para compreender os riscos que os mesmos representam para os ambientes, para os materiais armazenados e para os outros seres vivos que possam ficar expostos à sua dispersão, uma vez que existem fungos capazes de provocar doenças no homem e em outros animais¹.

2.6. Os fungos e os riscos à saúde

Existem cerca de 200 espécies fúngicas capazes de infectar os humanos e outros animais endotérmicos. Porém, o homem apresenta imunidade inata contra estes organismos. Por outro lado, quando o sistema imunológico dos indivíduos está comprometido, como em pacientes HIV positivos, transplantados, com câncer ou diabetes avançada, por exemplo, os fungos podem provocar complicações graves à saúde³⁷.

Cerca de 30 espécies de fungos, regularmente, causam infecções humanas. Todas estas podem crescer em temperatura corporal, ao contrário da maioria dos fungos ambientais. Os gêneros mais comuns associados a estas infecções são *Trichophyton*, *Candida* e *Aspergillus*. De acordo com a área atingida e a gravidade da doença, as infecções fúngicas podem ser separadas em infecções invasivas, infecções da pele, cabelo e unhas; da mucosa, alérgicas, pulmonares crônicas ou teciduais profundas⁴⁷.

Apesar de sua gravidade, estas doenças ainda são negligenciadas em todo o mundo. Em níveis globais, são estimadas mais de 300 milhões de pessoas de todas as idades sofrendo com graves complicações causadas por fungos todos os anos. Destas, são estimadas cerca de 1.350.000 mortes, número superior ao de mortes por malária, com 1.240.000, e aproximado ao de mortes por tuberculose, com 1.400.000⁴⁷. As infecções fúngicas invasivas tem emergido rapidamente como um risco global para a saúde devido ao aumento populacional de pessoas imunocomprometidas e a dinâmica interface humana com ecossistemas naturais⁴⁸.

Sabe-se que propágulos de algumas espécies, quando inalados pelo homem, podem desencadear doenças respiratórias, tais como asma, rinites e sinusites², além de infecções da árvore respiratória. Isto pode estar relacionado com a resistência do sistema imunológico dos indivíduos expostos, mas também com a quantidade de propágulos inalados, assim como a certos fatores ambientais como, a temperatura, a umidade relativa do ar, o período do dia, a velocidade e a direção dos ventos, que favorecem a dispersão dos propágulos¹.

No Brasil, atualmente, os fungos anemófilos estão sendo cada vez mais abordados em estudos relacionados a microrganismos alergênicos presentes no ar (aeroalergênicos), especialmente, em ambientes fechados. A concentração de propágulos destes fungos, dentro dos ambientes de uso coletivo, expõe os indivíduos presentes nestes locais a altas concentrações de esporos e favorece o surgimento da Síndrome dos Edifícios Doentes (SED), que é definida segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) como a situação onde os ocupantes ou usuários de um prédio específico apresentam sintomas de doenças de etiologia não determinada, mas que podem estar associadas a diversos tipos de poluentes, sejam químicos, físicos ou biológicos, como no caso dos propágulos fúngicos⁴⁹.

Sabe-se que o ar externo é a principal fonte carreadora destes poluentes para ambientes interiores e que o acúmulo dos mesmos se torna um risco eminente para a saúde dos seus frequentadores. No entanto, existem normativas internacionais, criadas pela OMS, que, desde os anos 80, padronizam a qualidade do ar (QAI) dentro de ambientes, indicando os níveis toleráveis para cada tipo de poluente presente⁵⁰.

No caso dos poluentes biológicos, os fungos têm recebido maior destaque. No Brasil, a presença destes microrganismos dentro de ambientes fechados deve ser limitada em no máximo 750 unidades formadoras de colônias (UFC) por metro cúbico de ar, conforme a RE n° 09 da ANVISA⁵¹. O crescente número de casos de morbidade entre frequentadores destes locais fechados vem sendo associados, principalmente, à presença de microrganismos (Exposição ambiental). Os estudos relativos à microbiota dentro dos ambientes fechados têm recebido cada vez mais destaque. Uma das maiores preocupações relacionadas à Saúde Pública tem sido a presença de fungos anemófilos potencialmente patogênicos aos humanos em locais públicos⁵².

O problema da contaminação de fungos no ar dos ambientes fechados é agravado quando estes encontram substratos e condições ambientais favoráveis para o seu

desenvolvimento. Assim sendo, a presença de fungos em materiais armazenados ou manipulados em ambientes fechados, como nos acervos e reservas técnicas dos museus, representa também pontos críticos para o risco de ocorrer SED.

No caso estudado nesta dissertação, embora as múmias estejam hoje em vitrines fechadas, expostas em salas bem arejadas, eventuais focos contaminantes nestas peças poderiam levar à dispersão de propágulos fúngicos, quando de sua manipulação ou transporte. Por outro lado, sua manipulação eventual para pesquisa em áreas fechadas, onde se utilizam sistemas de ar condicionado com pressão negativa, como os laboratórios e a reserva técnica de arqueologia, torna ainda mais importante o conhecimento de sua condição de organismo patogênico e do potencial de risco sanitário.

3. OBJETIVOS

Os objetivos do presente estudo foram os seguintes:

3.1. Objetivo Geral

- Análise micológica de amostras retiradas de duas múmias egípcias do Museu Nacional (RJ) e dos ambientes relacionados à manutenção e exposição das peças, tendo em vista sua relação com a conservação e os riscos ambientais à saúde.

3.2. Objetivos Específicos

- Isolamento de espécies fúngicas associadas ao material arqueológico egípcio e aos seus ambientes de exposição.
- Caracterização morfológica dos fungos isolados das múmias e dos ambientes amostrados.
- Descrição preliminar dos gêneros fúngicos isolados das múmias e dos ambientes amostrados.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

Foram selecionadas duas múmias humanas da Coleção Egípcia localizada no Museu Nacional do Rio de Janeiro, sendo elas, múmia de um homem adulto (o sacerdote Hori) e múmia de um lactente, ambas escolhidas por se tratarem de exemplares derivados de períodos e localidades diferentes do Egito Antigo e pelo fato de uma delas ter sido exposta, acidentalmente, à águas pluviais, há alguns anos, o que determinou um aumento importante da proliferação de fungos na reserva técnica do Museu Nacional.

4.1.1. Múmia do Sacerdote Hori

A múmia do sacerdote Hori (inventário 527, no acervo arqueológico) é, provavelmente, originária da XXI Dinastia (1070 – 946 a.C.). Consiste no corpo de um indivíduo de sexo masculino, com 1,54m de comprimento, envolto em bandagens de linho. Em análise realizada com amostras da sua bandagem, foram identificados compostos químicos possivelmente derivados de materiais orgânicos usados na mumificação. Entre estes, estão a cera de abelha e as resinas de árvores coníferas⁵³. A cera de abelha foi um dos principais materiais utilizados pelos egípcios nas mumificações, tendo sido empregada também para fechar a boca, nariz e outros orifícios das múmias, durante o período do Novo Império¹³.

Esta múmia nunca havia sido exposta no Museu até 2003, tendo permanecido guardada em armário de ferro e vidro dentro da reserva técnica, por décadas. Na ocasião em que houve o acidente e a múmia foi atingida, apresentou expressivo crescimento de fungos e teve que ser submetida a variados procedimentos de secagem⁶. Depois de retirada a umidade, esta foi lacrada em caixa de madeira com tampa transparente de acetato, suspensa em liteira de tecido, por se encontrar muito fragilizada e para evitar que fungos se desenvolvessem sobre ela, o que poderia representar riscos a saúde de visitantes e funcionários.

A partir de 2003, quando foi realizado o projeto para acondicionamento de parte das múmias em cápsulas de atmosfera anóxica, a múmia de Hori passou a ser exposta na sala Egípcia. O acondicionamento em cápsula plástica no interior da vitrine (Figura 13) foi considerado uma barreira segura contra os fungos. A cápsula foi construída conforme a

técnica de Maekawa e Elert (2003)⁷, tendo por objetivo esterilizar as peças pelo processo de retirada de oxigênio, controlando a bioatividade de organismos aeróbios.



Figura 13: Corpo mumificado do sacerdote Hori na cápsula, em atmosfera anóxica, dentro da vitrine, na sala de exposição. Foto: Sheila Mendonça de Souza.

A cápsula em que a múmia foi mantida era composta por um plástico com baixa porosidade, formado por diversas camadas e capaz de garantir o isolamento da múmia do ar atmosférico, além de impedir, ou tornar muito lenta, a saída do gás de nitrogênio que preenchia a cápsula. Dispositivos metálicos presos ao plástico da cápsula tem a finalidade de permitir a abertura e as trocas gasosas⁷.

A atmosfera na cápsula teve seu nível de umidade fixado em aproximadamente 60%, de maneira a mantê-la um pouco abaixo do valor correspondente ao da média de umidade relativa do ar, no Município do Rio de Janeiro, que é cerca de 70%. Como o Rio de Janeiro é mais úmido do que o local de origem da múmia, no Egito, a exposição, em nosso clima, por cerca de 200 anos, forçou a sua adaptação às condições, por isso, foi mantida em atmosfera muito menos úmida, para evitar danos. A ocorrência de desequilíbrios higroscópicos pode levar à desintegração de partes do corpo mumificado, já severamente danificado pelo tempo⁵⁴.

Dentro da cápsula, a múmia foi mantida sobre plataforma de acrílico, a qual também possuía hastes em forma de arco para manter o corpo protegido do contato com o plástico. Além disso, uma grande quantidade de sílica-gel (Sud-Chemie Inc., California, EUA), na forma de granulado, levemente hidratada, foi colocada em bandejas sob a plataforma para controlar possíveis variações de umidade dentro da cápsula, ajudando a manter estável o

ambiente interior. Escalas de medição colocadas na vitrine, ao lado da múmia, permitiam que os funcionários conferissem a umidade do ar no interior da cápsula ao longo de todo o tempo em que a múmia ali permaneceu⁵⁴.

Quando a cápsula foi selada, o nível de umidade em seu interior era de 60% e o de oxigênio 0,2%. Um absorvedor de oxigênio (RP SystemTM, MGC Inc., Tóquio, Japão) também foi colocado para manter o nível deste gás estabilizado⁵⁴.

Com o passar dos anos e como previsto pela técnica, houve progressivo esvaziamento da cápsula (Figura 14), devido ao escape lento do nitrogênio de seu interior, através de microporos na superfície do plástico. Condições ambientais como temperatura e pressão barométrica podem provavelmente ter influenciado no esvaziamento da cápsula^{55, 7}.

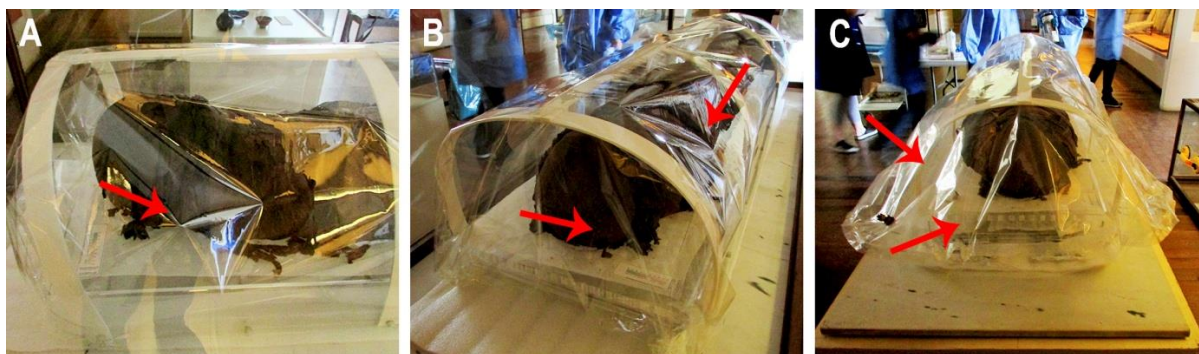


Figura 14: Cápsula de isolamento da múmia Hori e seu esvaziamento progressivo. **A, B e C.** Áreas onde o plástico ficou amassado (setas vermelhas), devido à redução de volume na cápsula.

Embora a concentração de oxigênio tenha sido deixada extremamente baixa dentro da cápsula, com o vazamento do nitrogênio após 10 anos, o nível de oxigênio provavelmente aumentou e pode ter chegado a 2%^{55, 56}. Ainda que esta mensuração nunca tenha sido feita, o aumento do nível de oxigênio na cápsula, pela troca de gases com o ambiente externo, poderia voltar a proporcionar um ambiente favorável ao desenvolvimento de microrganismos, expondo a múmia a novas condições de bioatividade^{7, 57}.

4.1.2. Múmia de lactente

Trata-se da múmia de um lactente, medindo 63 cm, com cerca de 6 meses de idade, que está completamente envolto em bandagem enrijecida por uma capa abundante de resina (inventário 170, acervo arqueológico). Esta múmia está datada do período Romano, sendo sua

antiguidade estimada entre 30 a.C. – 395 d.C. Esta peça já havia sido exposta no Museu e, atualmente, encontra-se numa vitrine, na sala da Coleção Egípcia (Figura 15), juntamente com outras peças do acervo egípcio⁵⁸.



Figura 15: Múmia de lactente na condição em que se encontra exposta atualmente em vitrine na sala da coleção Egípcia. Espaço compartilhado com outras peças do acervo egípcio. Foto: Sheila Mendonça de Souza.

Pela análise da amostra de linho das bandagens desta múmia foram também identificados compostos químicos, provavelmente derivados de cera de abelha e resinas de árvores coníferas, e, tal como no caso de Hori, estes materiais estão relacionados ao processo de mumificação⁵³.

Esta múmia, ao contrário de Hori, tem sido manipulada para fins de estudo, tendo, inclusive, sido transportada para fora do Museu, para realização de exames tomográficos, cujos resultados foram publicados por Souza *et al.*, (2008)⁵⁸. No entanto, nunca foi exposta à água, mantendo-se estável ao longo de todo o tempo em que permaneceu no acervo. Está no Rio de Janeiro desde o início do século XIX, tendo sido trazida juntamente com Hori para o Museu.

4.2. Métodos

4.2.1. Coleta de amostras

A coleta de amostras foi realizada em dias diferentes, nos períodos em que o Museu Nacional não era aberto ao público, para minimizar a movimentação do ar e contaminações externas das áreas de estudo.

Todos os processos de coleta, em ambas as múmias, foram realizados sob a supervisão de profissionais do Museu, designados pelo curador da Coleção Egípcia, Dr. Antonio Brancaglioni Jr., com a prévia autorização do colegiado da instituição. As técnicas de coleta e as áreas a serem amostradas, respeitaram as normas de biossegurança e a conservação de material arqueológico, conforme o Código para Museus, publicado pelo Conselho Internacional de Museus⁵⁹. A equipe utilizou a paramentação adequada (máscara, jaleco, luvas e óculos de proteção) e foi feito isolamento da área de trabalho, além da manutenção máxima da integridade das peças, durante o manuseio, evitando-se o uso de objetos ou produtos que viessem a danificá-las. As coletas foram realizadas com o apoio das orientadoras e da equipe do museu, constituída pelos museólogos Marco Aurélio Marques, Marilene de Oliveira, Moana Campos, e das arqueólogas Angela Maria Camardella e Cleide Maria da Conceição.

O processamento das amostras e as etapas subsequentes, a saber, isolamento, análise e identificação e preservação das cepas fúngicas isoladas foram realizados no Laboratório de Ultraestrutura Celular Hertha Meyer (LUCH, IBCCF, UFRJ). Posteriormente, a análise microscópica das cepas foi complementada, utilizando-se ainda, a infraestrutura do laboratório de Paleoparasitologia da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca - ENSP, Fiocruz.

4.2.1.1. Coleta de amostras do ambiente

Foram coletadas amostras de ar da Sala Egípcia, além do interior das vitrines e de dentro da cápsula em que estava a múmia Hori. Para estas coletas, duas técnicas de amostragem foram empregadas: passiva e ativa.

A técnica passiva consistiu na captação dos propágulos fúngicos por meio da sedimentação espontânea de partículas suspensas no ar do ambiente da sala Egípcia. Esta captação foi obtida pela exposição da placa de Petri de 90 x 15 milímetros, contendo o meio

Agar Sabouraud Dextrosado (SDA) adicionado de Penicilina G e Estreptomicina, 10 U/L (Gibco®, Nova York, USA), posicionada sobre a mesa, em altura aproximada de 1 metro do chão (Figura 16), conforme proposto por Pasquarella *et al.* (2000)⁶⁰. A placa permaneceu aberta durante aproximadamente 2 horas, até o fim da coleta de amostras, sendo, em seguida, vedada e transportada ao laboratório. Este tipo de amostragem do ar ambiente foi realizado apenas durante o trabalho com a múmia de lactente.



Figura 16: Amostragem ambiental da múmia de lactente. Material coletado por meio de placa de Petri (seta vermelha), posicionada próxima da múmia, sobre maca a cerca de 1 metro do chão.

O outro tipo de técnica empregada foi a amostragem ativa, feita por meio de um amostrador de ar automático (modelo AESAP10175, Sampl'air Lite, USA), programado para sugar um volume de ar de 100 L, num período de 10 minutos (Figura 17).

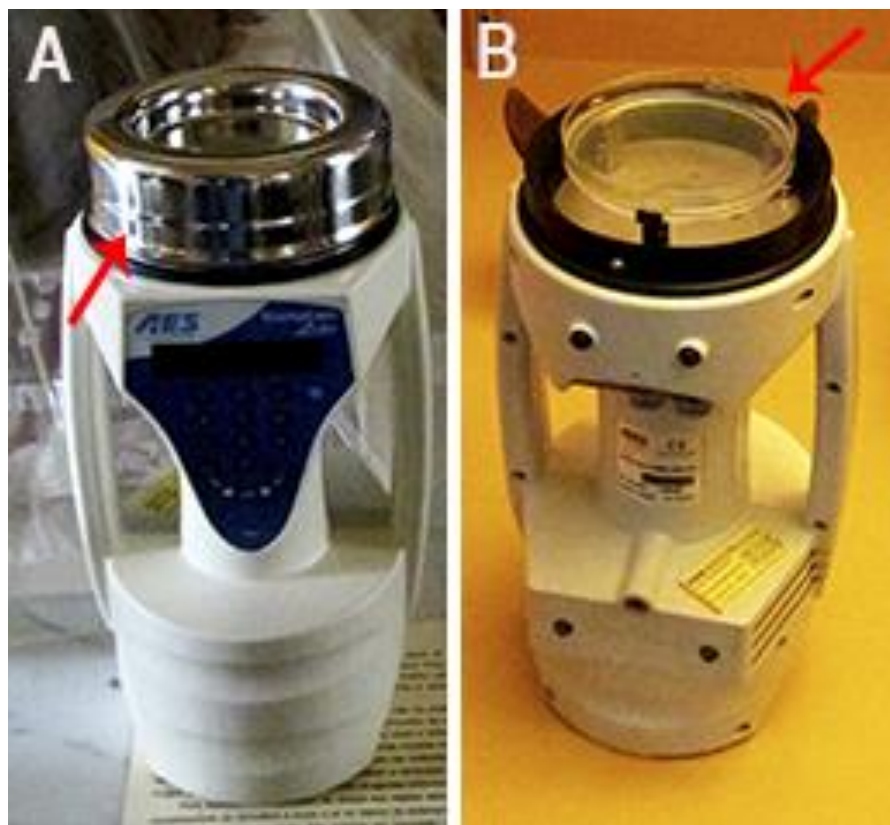


Figura 17: Amostrador de ar automático utilizado nas coletas ativas de ar do ambiente. **A.** Filtro para captura de propágulos em pontos pré-definidos da placa (seta). **B.** O mesmo aparelho mostrando a placa de Petri exposta ao ambiente para a captura de propágulos em pontos aleatórios do meio de cultura.

Por meio do amostrador automático, foi possível a captação de propágulos fúngicos em suspensão no ar da sala, das vitrines e da cápsula, mediante a sucção e impactação dos mesmos em placa de Petri acoplada ao aparelho, preparada também com o meio SDA, com Penicilina G e Estreptomicina, 10 U/L. Esta forma de amostragem, recomendada para a coleta em ambientes interiores, é um técnica eficiente para a captação de agentes microbianos⁵¹ e foi empregada nos dias em que foram realizadas as amostragens corporais da múmia de lactente e da múmia do sacerdote Hori. No entanto, não foi utilizado o filtro no amostrador, já que a captação de propágulos em pontos pré-determinados na placa poderia ocasionar, posteriormente, o desenvolvimento de colônias fúngicas de maneira sobreposta, prejudicando o seu isolamento.

4.2.1.2. Coleta de amostras nos corpos

Os pontos onde foram feitas as coletas de amostras sobre as bandagens das múmias foram escolhidos conforme características da superfície de cada peça. Manchas de coloração e formato característico, texturas destoantes e presença de material filamentososo agregado, além de fragmentos de tecido soltos e de fácil coleta, foram indicativos para as coletas. Foram coletados, sempre que possível, com auxílio de pinça, tesoura e bisturi, pedaços desprendidos de tecidos e barbantes de amarração.

As amostras coletadas no corpo foram semeadas diretamente em placas de Petri preparadas com o meio SDA com Penicilina G e Estreptomicina, 10 U/L (Figura 18). Alguns fragmentos de bandagem foram armazenados em sacos autoclaváveis e transportados para o laboratório para semeadura posterior.



Figura 18: Amostragem da múmia de lactente. Material coletado da superfície das bandagens e semeado diretamente sobre meio de cultura sólido na placa de Petri.

Também foi feita a amostragem por aspiração de material pulverizado, depositado nos espaços do tecido de linho, entre as bandagens, ou na superfície das múmias. Para isso, foi adaptado um mini aspirador de poeira (modelo 0278, Bright ®, Brasil). O equipamento foi

modificado para permitir coletas sucessivas, minimizando a contaminação através da troca de pontas de sucção descartáveis, onde ficavam retidos os materiais aspirados. Esta adaptação foi feita pelo encaixe de ponteiros de pipeta de 1 ml na sua haste de sucção (Figura 19). Dentro das ponteiros, dois chumaços de algodão foram inseridos com a função de reter o material a ser aspirado. A esterilização de todo o conjunto descartável da extremidade de sucção, por meio de autoclavagem, com sua substituição a cada coleta, minimizaram a contaminação cruzada entre amostras.

Para a coleta em áreas mais internas, como aberturas estreitas entre as bandagens, uma sonda estéril de 8 mm de diâmetro foi fixada às ponteiros, permitindo um melhor acesso.

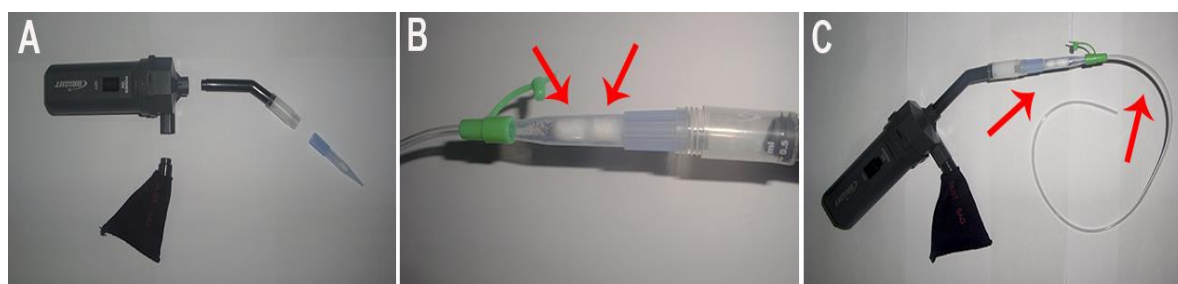


Figura 19: Mini aspirador de poeira Bright ® adaptado, durante o desenvolvimento deste projeto, para coletas localizadas e em condições estéreis. **A.** Componentes: corpo do aparelho, bolsa coletora do ar, tubo de conexão, ponteira de pipeta descartável estéril. **B.** Ponteira estéril mostrando filtros de algodão posicionados para reter o material aspirado, e sonda acoplada. **C.** Ponteira de pipeta acoplada à sonda para coletas em canais e cavidades pequenas.

A cada coleta, as ponteiros eram desencaixadas do tubo de sucção do mini aspirador e acondicionadas em sacos autoclaváveis, assim como as sondas, sendo transportadas para o laboratório onde eram manipuladas para remoção do aspirado, em condição controlada para os meios de cultura. Desta forma, buscou-se assegurar a não contaminação durante as coletas.

4.2.1.2.1. Coleta de amostras da múmia de lactente (13 de maio de 2013).

No dia desta coleta, ocorreram fortes chuvas no período da manhã, em grande parte do município do Rio de Janeiro. No bairro de São Cristóvão, onde está localizado o Museu, a umidade relativa do ar foi de 76% e a temperatura média 23,7°C, durante o período de coleta, entre 9:00 - 11:00 h, segundo dados da Fundação GEO RIO (Fundação Instituto de Geotécnica do Município do RJ), disponibilizados no Sistema Alerta Rio. Os dados referentes à umidade e temperatura dentro do Museu e da sala da Coleção Egípcia não foram obtidos, mas podem ser considerados os mesmos, por tratar-se de salas abertas no segundo andar do

prédio, que conta com amplas portas e janelas que abrem para o exterior arborizado do Palácio de São Cristóvão, sede do Museu.

Durante o trabalho feito com a múmia do lactente, foram coletadas duas amostras ambientais de forma ativa, por meio do amostrador de ar automático, sendo uma da sala de exposição, com o amostrador posicionado ao lado da vitrine e outra de dentro da vitrine (Figura 20, A e B). Coletou-se ainda uma amostra de forma passiva sobre a mesa em que foi manipulada a múmia, tal como descrito na metodologia (Figura 20, C).

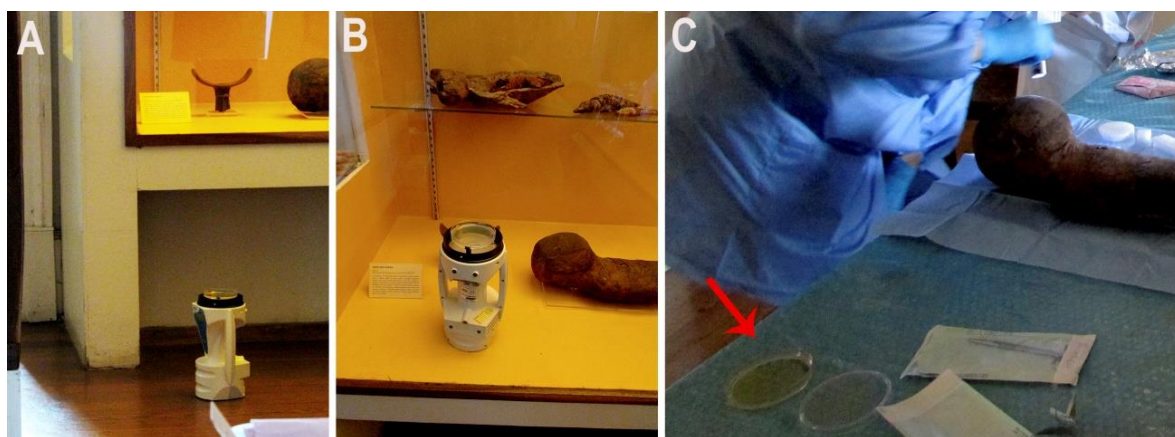


Figura 20: Amostragem ativa: **A.** Amostrador de ar posicionado ao lado da vitrine na sala de exposição. **B.** Amostrador no interior da vitrine, próximo do corpo. **C.** Amostragem ambiental passiva: placa de Petri aberta próximo do corpo.

Foram coletadas 10 amostras do corpo, seis por meio do mini aspirador de poeira, sendo constituídas por material pulverulento e resíduos de fibras de tecido e outros materiais depositados sobre o corpo. Outras quatro foram coletadas com auxílio de pinças, sendo constituídas por fragmentos de tecido. As amostras foram coletadas de áreas da cabeça, do tronco e dos pés (Figura 21). Três destas foram semeadas imediatamente em placas com meio de cultura, logo após coletadas. A amostra não semeada, proveniente da área dos pés, foi transportada em saco autoclavável para o laboratório e analisada ao microscópio de varredura. O material sedimentar coletado foi proveniente de aberturas existentes nas bandagens nas áreas da cabeça e pés, além de materiais depositados na superfície (Figura 22).



Figura 21: Regiões da múmia de lactente escolhidas para a coleta de amostras: **Seta a.** Cabeça. **Seta b.** Tronco. **Seta c.** Pés.

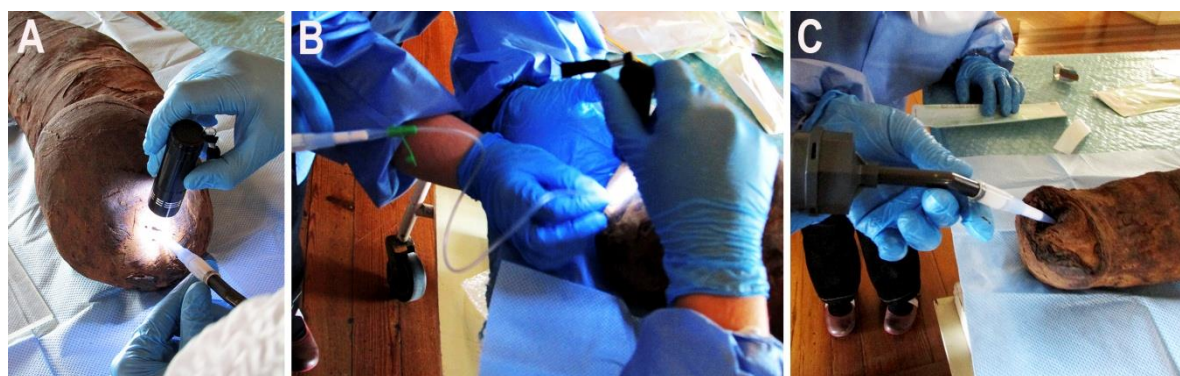


Figura 22: Coleta por aspiração de material seco e pulverulento. **A.** Ponteira introduzida em orifício na cabeça. **B.** Aprofundamento da coleta com auxílio de sonda, na mesma abertura. **C.** Aspiração de abertura nas bandagens na extremidade de um dos pés.

4.2.1.2.2. Coleta de amostras na múmia do sacerdote Hori (17 de junho de 2013).

No dia da coleta das amostras na múmia Hori, a temperatura e a umidade do ar médias registradas no bairro de São Cristóvão, entre 9:00 - 11:00 h, foram de 65% e 24,9°C, respectivamente (GEO-RIO). Também não foram registradas a temperatura e a umidade dentro do Museu e da sala da Coleção Egípcia, assumindo-se, da mesma forma, que estas fossem próximas aos valores indicados pela GEO-RIO.

Uma vez que esta múmia havia sido mantida fechada em cápsula de atmosfera controlada, por longo tempo, esta cápsula teve que ser aberta para as coletas do presente estudo, o que foi previamente autorizado pela curadoria do Museu Nacional. Para fins de correlação com os resultados, foram também anotados alguns registros constantes na vitrine e na cápsula, que isolavam a múmia de Hori, antes de sua exposição, para amostragem micológica. A escala colorimétrica no interior da cápsula que guardava o sacerdote Hori mostrou que, no momento da sua abertura para este trabalho, a umidade dentro daquele microambiente era superior ao descrito no relatório de construção da cápsula (Figura 23). O nível de umidade registrado foi cerca de 80% no interior da cápsula, sugerindo mudança das condições microambientais em que a múmia se encontrava ao longo dos anos. Entretanto, como a escala é antiga, deve-se considerar que talvez a sua leitura estivesse prejudicada.

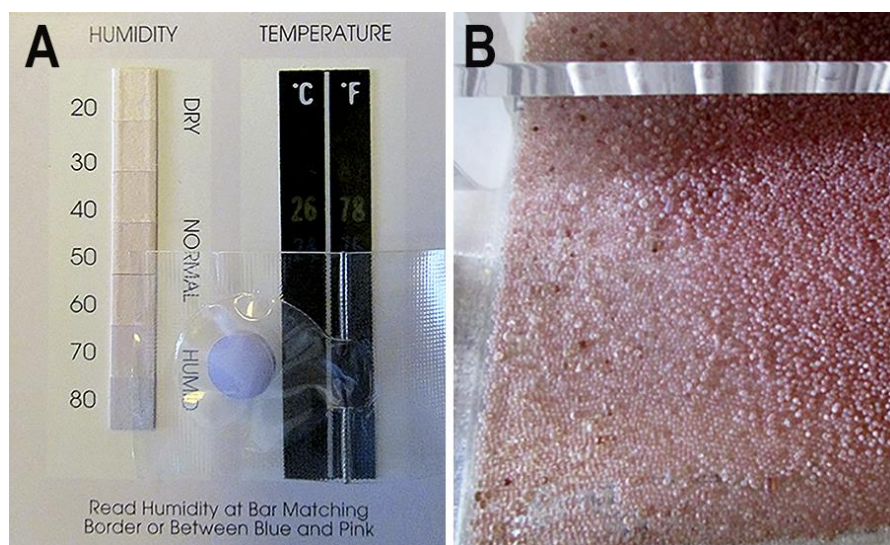


Figura 23: Sistemas utilizados para controle de umidade dentro da vitrine de Hori. **A.** Escala de umidade. As cores variando de tons azuis a rosas representam o percentual de umidade no ambiente. A cor mais azulada da pastilha confirma que a umidade dentro da cápsula de Hori chegou a cerca de 80%. **B.** Sílica gel granulada e parcialmente hidratada que estava na gaveta sob a base de acrílico que suporta a múmia.

Durante o trabalho com a múmia do sacerdote Hori, foram coletadas 3 amostras ambientais. Todas as amostras foram coletadas de forma ativa, por meio do amostrador de ar automático (Figura 24). A primeira foi obtida na sala de exposição, com o amostrador posicionado no chão, ao lado da vitrine, e antes que a mesma fosse aberta. A segunda foi obtida dentro da vitrine. A caixa de vidro que cobria a múmia foi aberta o suficiente para que

o aparelho fosse posicionado ao lado da cápsula contendo a múmia, sendo a vitrine novamente fechada, até que a coleta terminasse. A terceira coleta foi do ar de dentro da cápsula, depois que a tampa de vidro havia sido removida. Para esta coleta, foi feito um corte na extremidade da cápsula plástica e a parte superior do aparelho foi imediatamente posicionada na abertura, sendo o aparelho mantido nesta posição enquanto se realizava a coleta. A abertura foi suficiente para a colocação do aparelho.

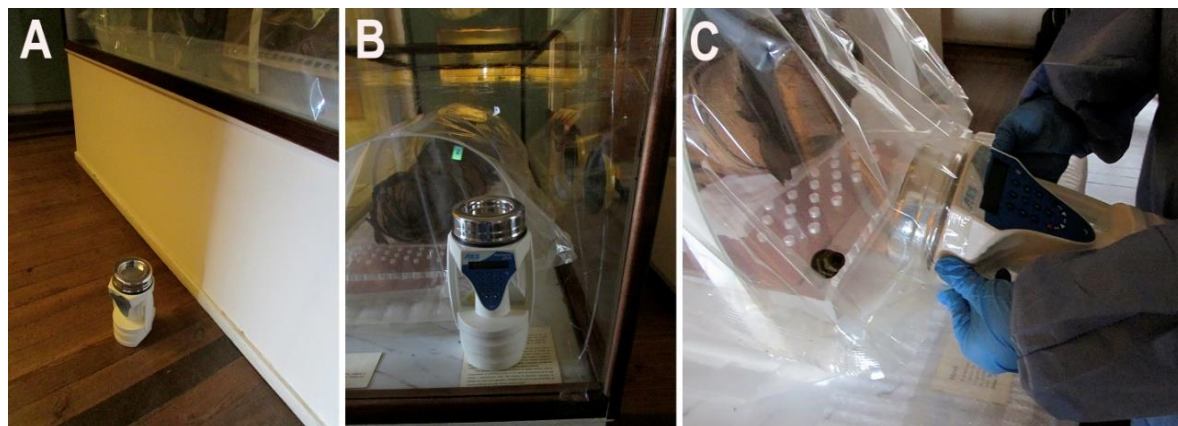


Figura 24: Amostragem dos ambientes de exposição quando da coleta na múmia Hori. **A.** Amostrador posicionado para coleta próximo da vitrine. **B.** Amostrador posicionado no interior da vitrine, junto à cápsula plástica ainda fechada com o corpo mumificado. **C.** Amostrador posicionado para coleta dentro da cápsula.

Além destas coletas, foi obtida uma amostra do material observado na forma de pontos de depósito circulares e pequenos, que formavam uma linha contínua sobre a cápsula, à altura da junção vidro-madeira, que dividia a parte superior da tampa da vitrine desta múmia. Essa coleta, feita por meio do mini aspirador, foi incluída entre as amostras ambientais. Uma última coleta retirou grânulos de sílica-gel que se encontravam abaixo da múmia, sendo estes também semeados em meio de cultura, logo após coletados.

Foram coletadas 11 amostras corporais, sendo 6 com o mini aspirador, 1 com alça bacteriológica descartável, 3 com pinça e 1 com tesoura. As amostras coletadas com alça, pinça e tesoura foram semeadas diretamente em meio de cultura, logo após coletadas. As amostras foram coletadas nas áreas da cabeça, peito, pernas e pés, respectivamente (Figura 25).



Figura 25: Áreas escolhidas para coletas de amostras sobre as bandagens da múmia Hori. **Seta a.** Cabeça. **Seta b.** Tórax. **Seta c.** Pernas. **Seta d.** Pés.

4.2.2. Isolamento dos Fungos

As amostras corporais imediatamente semeadas em meio de cultura após coletadas, além das amostras ambientais, incluindo a amostra de grânulos de sílica-gel, foram mantidas em estufa, a 28°C, por 10 dias. Aquelas amostras corporais transportadas em sacos autoclaváveis foram semeadas em 15 ml de meio líquido (Caldo de Sabouraud contendo Penicilina G e Estreptomicina, 10 U/L) e incubadas a 28°C, sob agitação de 90 rpm, até o desenvolvimento fúngico.

O material sedimentar, após ser removido das ponteiros, foi semeado, juntamente com o filtro de algodão, também em meio líquido, sendo mantido nas mesmas condições de incubação anteriormente mencionadas. Para a semeadura dos aspirados, foi tomado o seguinte cuidado. O filtro de algodão mais próximo à extremidade que conectava a ponteira ao tubo de aspiração (filtro mais interno) foi removido da ponteira e descartado e o filtro posicionado mais próximo à extremidade de aspiração (ponta) (filtro mais externo) foi retirado com pinça estéril e depositado diretamente no meio de cultura. Em seguida, as ponteiros foram agitadas manualmente sobre o meio para a deposição de partículas ainda retidas no seu interior.

Após o desenvolvimento fúngico em meio líquido, 100 µl de cada cultivo foram retirados e espalhados com auxílio de alça de Drigalski sobre o meio em placas SDA contendo Agar mais Penicilina G/ Estreptomicina, 10 U/L, sendo, posteriormente incubado a 28°C, por 10 dias.

Após o crescimento nas placas (Figura 26), as colônias fúngicas derivadas das amostras corporais e ambientais foram avaliadas quanto ao aspecto macroscópico. As características observadas foram a morfologia e a coloração. Aquelas colônias distintas foram repicadas até o crescimento em cultivo monoxênico. Dentre as colônias que apresentaram o mesmo aspecto, foi escolhida apenas uma para o repique. A partir do crescimento monoxênico, estas foram novamente descritas e passaram a ser tratadas como cepas distintas. Observou-se novamente a morfologia e a coloração, além da presença de pigmento solúvel no meio.

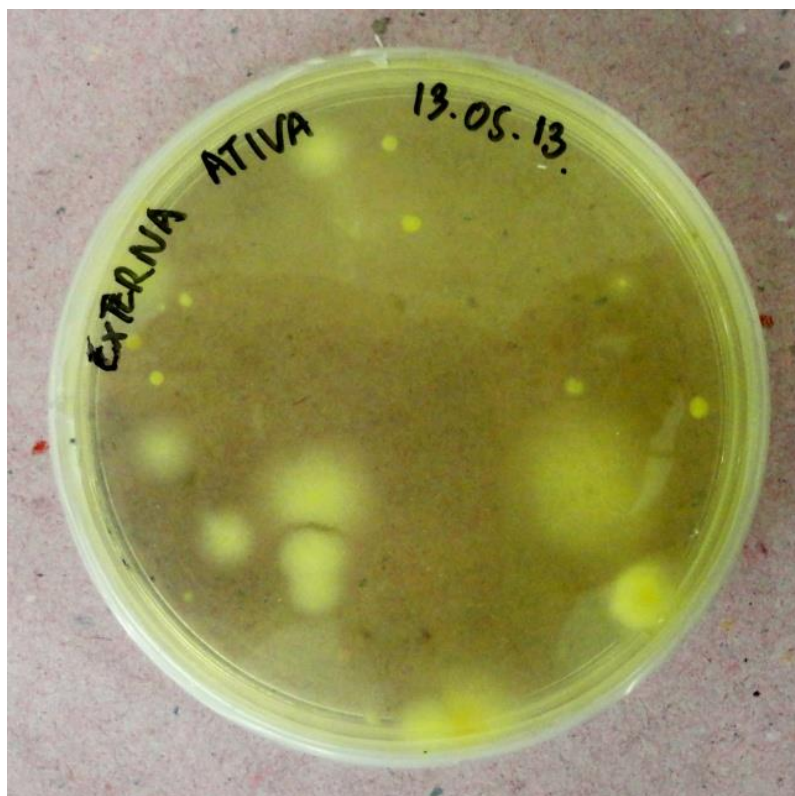


Figura 26: Crescimento misto das colônias fúngicas após cultivo de amostra em meio de cultura SDA, à temperatura de 28°C, por 10 dias.

Todos os isolados foram testados para a capacidade de crescimento em 37°C, com o objetivo de identificar fungos potencialmente patogênicos, uma vez que alguns grupos fúngicos, que são termotolerantes a esta temperatura, podem representar risco patogênico, quando acometem o organismo humano⁶¹. O processamento das amostras, com o isolamento das cepas, está representado no esquema (Figura 27).

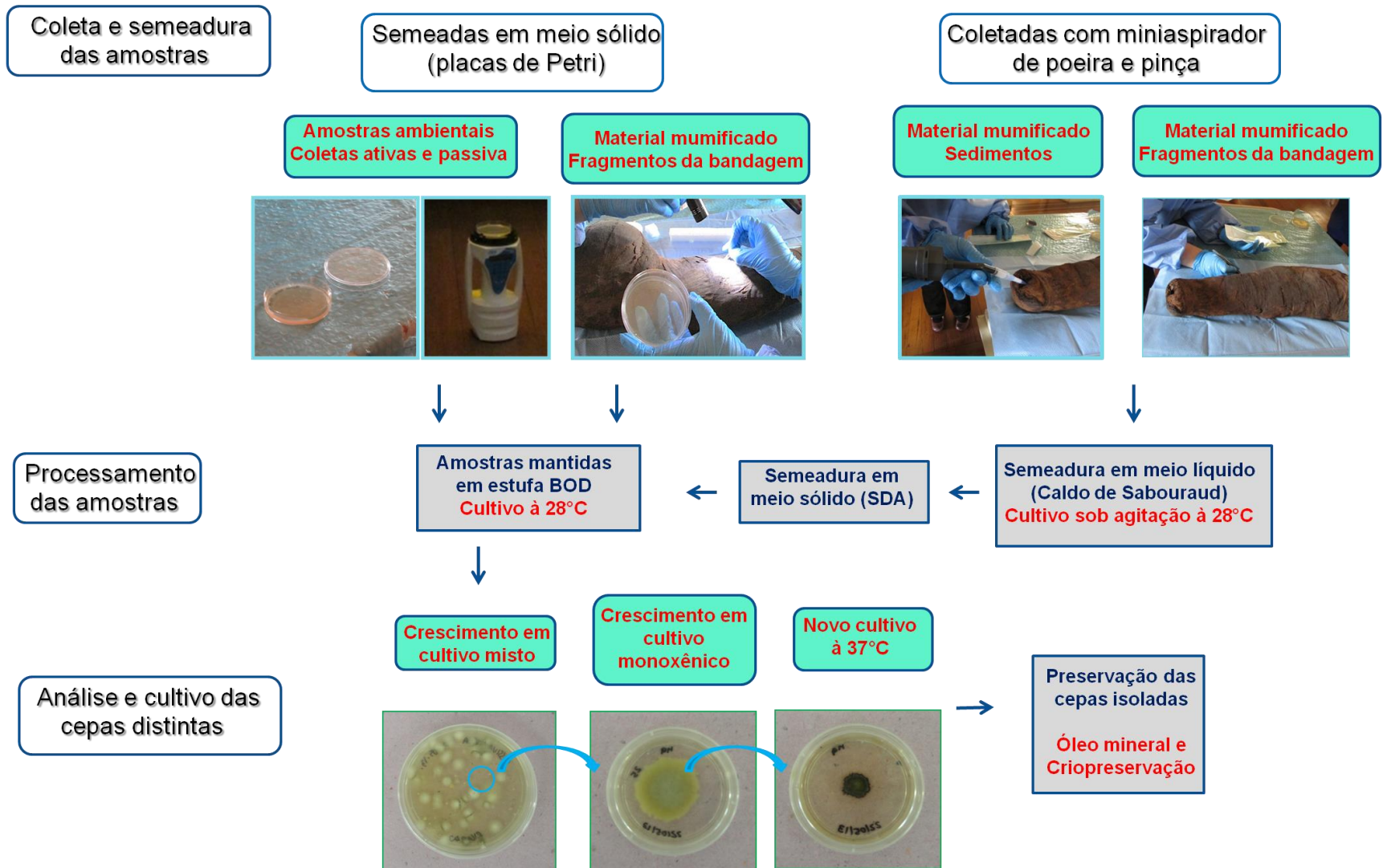


Figura 27: Etapas do processamento das amostras coletadas dos corpos e dos ambientes relacionados às múmias e do isolamento fúngico.

4.2.3. Preservação dos fungos isolados

Para a preservação dos fungos isolados foram utilizados dois métodos diferentes. A preservação em SDA em tubo com óleo mineral e criopreservação em freezer -80°C.

Para a preservação, as cepas foram inicialmente cultivadas em tubos de ensaio contendo SDA e, em seguida, colocadas em óleo mineral, previamente esterilizado, em autoclave (120°C, por 20 minutos), até cobrir a superfície de cada colônia em até 1 cm de altura.

Para a criopreservação, primeiro as cepas foram crescidas em meio SDA preparado em placas de Petri e, após o crescimento, um fragmento de cada colônia foi retirado e colocado em criotubos com caldo de Sabouraud mais glicerol 15%, mantendo-se, em seguida, em freezer à temperatura de -80°C.

4.2.4. Identificação tradicional dos isolados

Para a identificação tradicional dos isolados, tanto de fungos filamentosos como de leveduriformes, foi feito o estudo dos aspectos macroscópicos e microscópicos apresentados por estes. Os dados obtidos foram organizados em fichas individuais (ANEXO 1), referentes a cada isolado, permitindo uma análise completa dos mesmos e, posteriormente, foram comparados com aqueles descritos em chaves de identificação de fungos, constantes de Kern & Blevins (1999)⁶² e Klich & Pitt (2002)⁶³.

4.2.4.1. Caracterização macroscópica

Os aspectos macroscópicos utilizados para a identificação dos fungos filamentosos foram a morfologia, a coloração, o tamanho, a presença de pigmentos solúveis, entre outros, no caso das colônias filamentosas. Já para as leveduriformes, foi observada a coloração, a textura e o formato das colônias⁶¹.

4.2.4.2. Caracterização microscópica

4.2.4.2.1. Fungos filamentosos

Durante a análise microscópica dos isolados, os aspectos analisados foram relacionados às estruturas reprodutivas como conidióforos, além dos propágulos (esporos

sexuados e assexuados) e hifas. Foi observada a morfologia, a coloração e o tamanho destas estruturas, que são específicos em alguns grupos fúngicos.

A análise microscópica destes fungos foi realizada a partir da técnica de microcultivo em lâmina⁶², na qual o desenvolvimento das colônias em meio de cultura sólido posicionado entre lâmina e lamínula, permite a análise da morfologia com uma boa preservação das estruturas, facilitando o reconhecimento das espécies fúngicas.

Para o microcultivo de cada cepa, procedeu-se da seguinte maneira. Placas de Petri preenchidas com um disco de papel de filtro (Whatman® Filters, Inglaterra), uma lamínula, uma lâmina, além de duas ponteiras de pipeta, foram autoclavadas. Posteriormente, colocou-se um cubo de meio SDA sobre a lâmina e um fragmento de cada cepa foi inoculado nas laterais do cubo, sendo o mesmo coberto com a lamínula. O papel de filtro foi umedecido com água destilada estéril e as placas, então, vedadas. Os microcultivos foram mantidos em temperatura ambiente por até 10 dias, sendo interrompidos conforme o desenvolvimento das colônias. O mesmo procedimento foi realizado com as culturas crescidas em 37°C, sendo os microcultivos colocados em estufa na mesma temperatura.

Após o desenvolvimento das colônias, a lamínula foi retirada de cima do cubo e colocada sobre uma nova lâmina, contendo uma gota do corante azul de lactofenol. Em seguida, o cubo foi removido da lâmina e esta também corada com azul de lactofenol e coberta com uma nova lamínula. Ambas as lamínulas foram vedadas e as cepas analisadas ao microscópio óptico. Todo o procedimento realizado, a partir da semeadura das cepas no meio de cultura até a análise microscópica das mesmas, está representado na Figura 28.

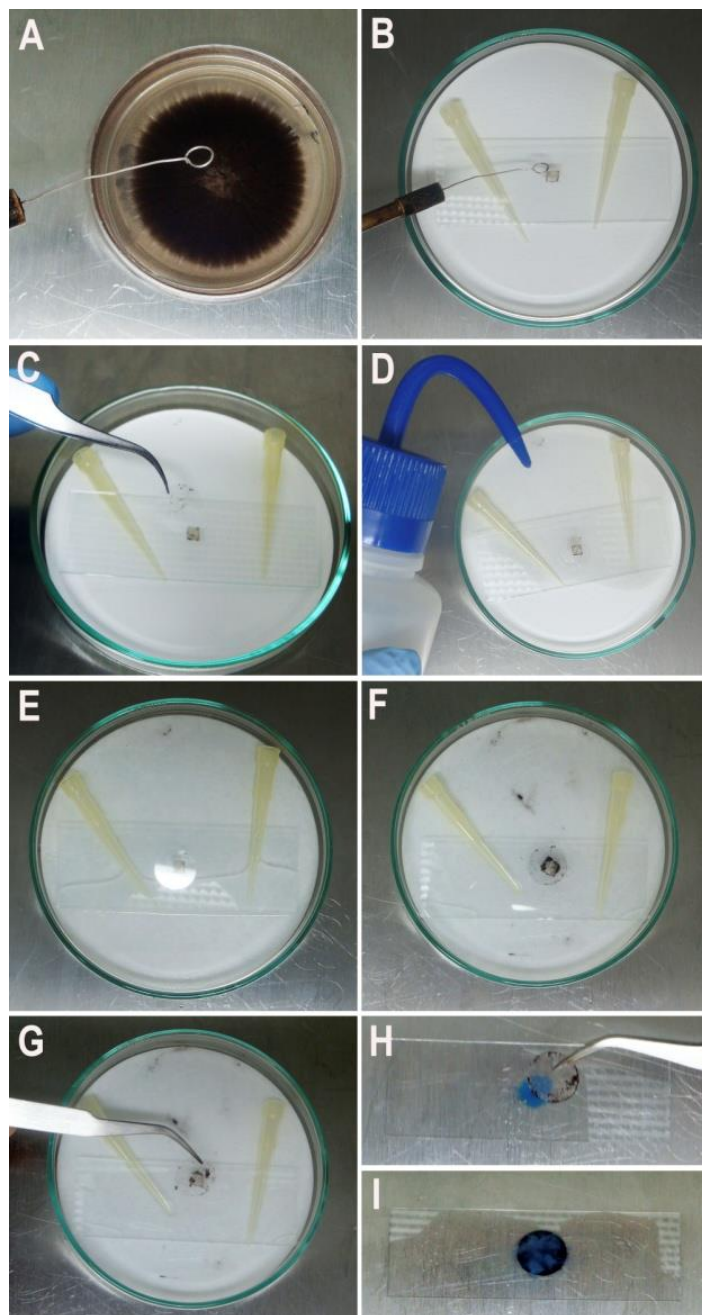


Fig. 28: Preparo das cepas para o microcultivo e posterior análise microscópica. **A.** Retirada de uma porção de cada cepa. **B.** Semeadura em cubo de meio de cultura Sabouraud Ágar. **C.** Cobertura do cubo com lamínula. **D.** Hidratação do disco de papel de filtro com água destilada. **E.** Microcultivo pronto para ser mantido em temperatura ambiente, ou em 37°C. **F.** Microcultivo com colônia já desenvolvida. **G.** Remoção de lamínula de cima do cubo de meio de cultura. **H.** Colocação de lamínula sobre gota de Azul de Lactofenol na superfície da lâmina. **I.** Lâmina pronta para microscopia.

4.2.4.2.2. Fungos leveduriformes

A análise microscópica dos fungos leveduriformes foi realizada a partir da observação em lâmina de uma porção de cada cultivo, corada com azul de lactofenol, ao microscópio óptico (Zeiss Axioplan, EUA). As células foram caracterizadas segundo sua morfologia, coloração e presença ou não de pseudo-hifas^{62, 64}.

A identificação destes fungos foi, posteriormente, realizada de forma automatizada, empregando-se o aparelho Vitek®2 (Vitek, ICB, BioMérieux, EUA), análise esta obtida graças à colaboração do Dr. Rodrigo Almeida Paes, do Laboratório de Micologia, do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, da Fundação Oswaldo Cruz, Fiocruz.

O princípio desta análise está baseado na leitura e identificação do perfil bioquímico das cepas. Para isso, uma suspensão de cada levedura, derivada de cultivos de até 24 h, foi inserida em cartões especializados (Vitek2-YST card), que foram depositados no aparelho, permitindo a análise dos perfis bioquímicos, com divulgação dos resultados em até 24 horas. A validação dos resultados, então, foi feita através do software Advanced Expert System™ (AES), por meio do qual os dados obtidos foram comparados com aqueles referentes às cepas fúngicas já identificadas, registrados na base de dados de identificação do programa. Para a confirmação dos resultados, também foram realizados testes adicionais com as cepas, como a produção da enzima urease e a reação ao Diazonium Blue B (DBB).

5. RESULTADOS

Dentre as 29 amostras coletadas, 17 foram positivas para o crescimento fúngico. A partir destas, foi possível isolar 51 cepas distintas, das quais, 46 foram de fungos filamentosos e 5, de fungos leveduriformes. Após subcultivo, cultura monoxênica, isolamento e novo subcultivo a 37°C, por 10 dias de incubação, apenas 34 culturas tiveram crescimento positivo a 37°C. Estas últimas, devido ao seu crescimento após incubação em temperatura corporal, foram consideradas fungos termotolerantes para esta temperatura e, portanto, capazes de habitar no organismo humano. As fichas que documentam as 51 cepas isoladas estão disponibilizadas em meio digital.

5.1. Resultado das coletas na múmia de lactente e ambiente relacionado

Das 10 amostras coletadas na múmia do lactente, apenas 3 foram negativas para fungos. Já as 3 amostras coletadas do ambiente, foram positivas para fungos (Tabela 1).

Tabela 1. Múmia de lactente. Distribuição dos isolados a partir das amostras ambientais e corporais, instrumentos de coleta das amostras e aspecto apresentado pelas cepas.

Nome da Amostra	Área de coleta	Instrumento de coleta	Aspecto e quantidade de isolados	
			Leveduriforme	Filamentoso
Corporais				
Cabeça dentro	Cabeça	Aspirador e sonda	1	0
Cabeça	Cabeça	Aspirador e tip	0	0
Corpo	Corpo	Aspirador e tip	0	1
Pó do pé 1	Pé	Aspirador e tip	0	1
Pó do pé 2	Pé	Aspirador e tip	0	0
Pó do pé 3	Pé	Aspirador e tip	0	1
Tecido do pé	Pé	Pinça	0	1
Fragmento Cabeça	Cabeça	Pinça, bisturi	0	0
Fragmento Corpo	Corpo	Pinça, bisturi	0	2
Fragmento Pé	Pé	Pinça, bisturi	0	1
Ambientais				
Ativa interna vitrine	Vitrine	Amostrador	1	4
Ativa externa	Próxima a vitrine Sobre a maca próxima da múmia	Amostrador	2	4
Passiva Mesa		Placa aberta	2	4

5.1.1. Amostras de aspirados e fragmentos da múmia de lactente

Das seis amostras compostas por material pulverizado, obtidas por aspiração, duas foram negativas, a saber, uma da região da cabeça e outra da região dos pés. Ambas foram semeadas, inicialmente, em meio líquido e, posteriormente, em placas. A amostra aspirada da perfuração existente na cabeça apresentou apenas colônias leveduriformes. Esta amostra não representou o material interno ao crânio, uma vez que a sonda não ultrapassou a espessura das bandagens, representando, portanto, apenas o material removido da trama do linho que obstruía parcialmente a cavidade existente no crânio da múmia, o que representava material que já estava profundamente impregnado no tecido e protegido no interior da pequena cavidade.

Três das quatro amostras de fragmentos de bandagem retiradas da superfície da múmia de lactente (área da cabeça, tronco e pés) foram positivas para crescimento fúngico. As cepas isoladas foram filamentosas. Apenas a amostra que foi coletada da cabeça, com pinça, e semeada diretamente em placa, mostrou-se negativa. O isolamento de cepas a partir deste fragmento foi tentado por duas vezes, a partir do cultivo em meio líquido, porém não houve nenhum crescimento fúngico.

A partir da amostra de fragmento de bandagem, analisada em microscópio de varredura, foram observadas estruturas semelhantes a conídios fúngicos (Figura 29).

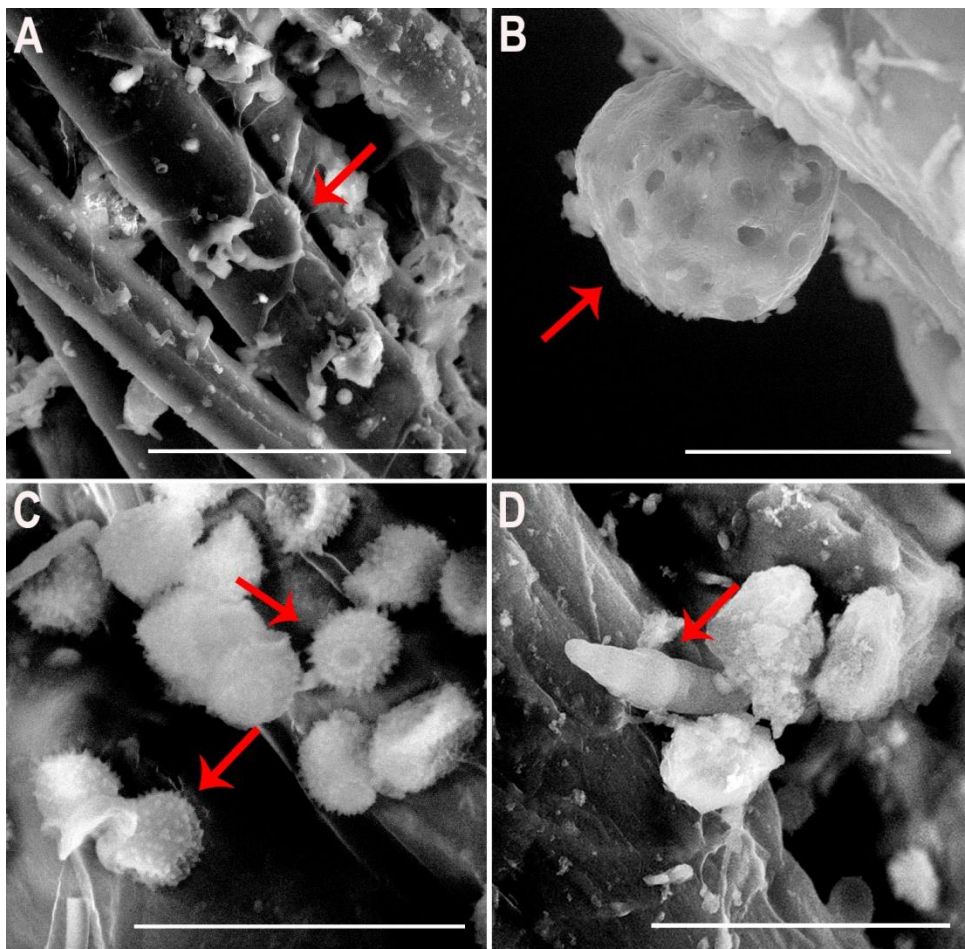


Figura 29: Microscopia eletrônica de varredura de amostra de fragmento de bandagem coletada da área dos pés da múmia de lactente. Estruturas biológicas observadas (setas vermelhas). **A.** Filamentos agregados à fibra de bandagem. (Barra 50 μm). **B.** Estrutura arredondada porosa semelhante a esporo vegetal. (Barra 20 μm). **C e D.** Estruturas semelhantes morfologicamente a propágulos de alguns fungos filamentosos, como *Aspergillus* sp. (Barra 10 μm) e *Alternaria* sp. (Barra 20 μm), respectivamente.

5.1.2. Amostras de ar dos ambientes relacionados à múmia de lactente

As três amostras coletadas dos ambientes de exposição da múmia de lactente foram positivas para o crescimento de fungos, após 10 dias de incubação (Figura 30). As colônias que cresceram foram analisadas e repicadas até a cultura monoxênica. A partir da amostra ambiental ativa da sala de exposição foi possível isolar 7 cepas, sendo 5 filamentosas e 2 leveduriformes. Já a partir da amostra ambiental passiva, do mesmo ambiente, foram isoladas 5 cepas, sendo 4 filamentosas e 1 leveduriforme. Da amostra derivada da vitrine, foram isoladas 6 cepas distintas, sendo 5 filamentosas e uma leveduriforme.

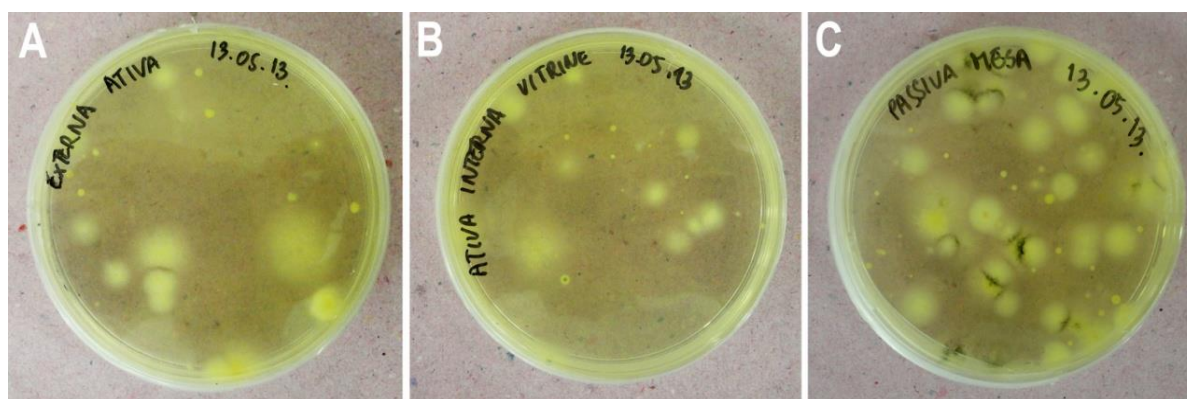


Figura 30: Amostras coletadas a partir dos ambientes de exposição da múmia de lactente. Crescimento de colônias em meio Sabouraud Ágar, após cultivo à temperatura de 28°C. **A.** Amostra do ar da sala de exposição, coletada por meio de amostrador, próxima da vitrine. **B.** Amostra do ar do interior da vitrine, coletada com amostrador. **C.** Amostra do ar da sala de exposição, coletada de forma passiva sobre a mesa, próximo à múmia.

Outro fator que deve ser levado em conta é a proximidade da placa ao corpo mumificado que estava sendo manipulado, o que pode ter aumentado a dispersão de propágulos existentes sobre a múmia, levando a um maior contato com a superfície do ágar.

Contudo, além do número, a variedade de cepas isoladas, a partir das amostras ambientais coletadas ativa e passivamente da sala de exposição e da amostra do interior da vitrine, foi também aproximadamente a mesma, mostrando consistência nos resultados qualitativos para os fungos isolados.

5.1.3. Potencial de patogenicidade das cepas isoladas a partir da múmia de lactente e ambientes relacionados

Dentre as cepas isoladas a partir das coletas feitas na múmia e seus ambientes relacionados, 15 foram consideradas termotolerantes por terem crescido a 37°C. As características apresentadas por cada cepa podem ser visualizadas nas respectivas fichas de descrição, disponibilizadas no banco de dados. Do total, 4 cepas foram isoladas de amostras retiradas da múmia e 11 de amostras obtidas do ambiente (2 da amostra passiva, 4 da amostra ativa do interior da vitrine e 5 da amostra ativa da sala de exposição), confirmando que estes estão circulando no ambiente.

Das 4 cepas isoladas de amostras da múmia, 3 foram filamentosas e apresentaram aspecto morfológicos distintos entre si. A outra cepa era leveduriforme. Das cepas derivadas do ambiente, isoladas da amostra passiva da sala de exposição, foram obtidas uma filamentosas e outra leveduriforme. Das derivadas da coletada ativa do mesmo ambiente, foram recuperadas uma leveduriforme e outras 4 filamentosas, de 3 gêneros distintos. Da amostra do interior da vitrine, foi isolada uma cepa leveduriforme e outras 3 filamentosas do mesmo gênero.

5.2. Resultados das coletas na múmia do sacerdote Hori e ambiente relacionado

Das 11 amostras coletadas no corpo da múmia do sacerdote Hori, 8 foram negativas e 3 foram positivas para o crescimento de fungos. A amostra de grânulos de sílica gel foi negativa para fungos. Das 4 amostras coletadas dos ambientes relacionados à múmia, no mesmo dia, todas foram positivas para fungos (Tabela 2).

Tabela 2. Múmia Hori. Distribuição dos isolados a partir das amostras ambientais e corporais, instrumentos de coleta das amostras e aspecto apresentado pelas colônias isoladas.

Nome da amostra	Área de coleta	Instrumento de coleta	Aspecto e quantidade de isolados	
			Leveduriforme	Filamentoso
Corporais				
Barbante Alça (raspado)	Bandagem	Tesoura	0	1
Barbante Fragmento	Bandagem	Aspirador e tip	0	3
Aspirado Tórax	Bandagem	Aspirador e tip	0	1
Aspirado Osso-Olho	Cabeça	Aspirador e tip	0	0
Corpo	Superfície do corpo	Pinça	0	0
Corpo	Superfície do corpo	Pinça	0	0
Corpo	Superfície do corpo	Pinça	0	0
Silica	Abaixo do corpo	Pinça	0	0
Pó do pé	Pé	Aspirador e sonda	0	0
Ambientais				
Sala	Sala de exposição	Amostrador	0	4
Cápsula	Cápsula	Amostrador	0	9
Vitrine	Vitrine	Amostrador	0	7
Pó da Cápsula	Em cima da cápsula	Aspirador e tip	0	1

5.2.1. Amostras de aspirados e fragmentos da múmia do sacerdote Hori

Quatro amostras, sendo 1 fragmento de barbante com aspecto sugestivo de crescimento de hifas e 3 amostras de fragmentos coletados sobre a múmia com auxílio de pinça (cabeça, tórax e pés), foram analisadas. Mas apenas o fragmento de barbante apresentou resultado positivo, sendo as demais negativas para fungos.

Ambas as amostras de fragmento de barbante e do aspirado da área do tórax apresentaram crescimento abundante de fungos filamentosos em culturas mistas, as quais estavam distribuídas por toda a placa. Contudo, foram isoladas apenas 2 cepas distintas na primeira amostra e uma na segunda. A amostra do raspado do barbante, retirada de uma pequena corda torcida que apresentava a extremidade livre na lateral esquerda, junto ao flanco da múmia, resultou em apenas uma colônia de fungo filamentoso.

As 3 amostras coletadas da superfície da múmia do sacerdote Hori e semeadas diretamente no meio de cultura foram negativas. Da mesma forma, as amostras coletadas pela aspiração superficial sobre o osso frontal exposto, sem bandagem, e na região do pé foram negativas.

5.2.2. Amostras de ar do ambiente relacionadas à múmia do sacerdote Hori

Todas as amostras ambientais foram positivas para o crescimento fúngico (Figura 31). A amostra de ar coletada de dentro da cápsula permitiu obter 9 isolados, o maior número quando comparado aos 7 isolados obtidos do ar de dentro da vitrine (externo à cápsula) e aos 4 isolados da amostra da sala de exposição.

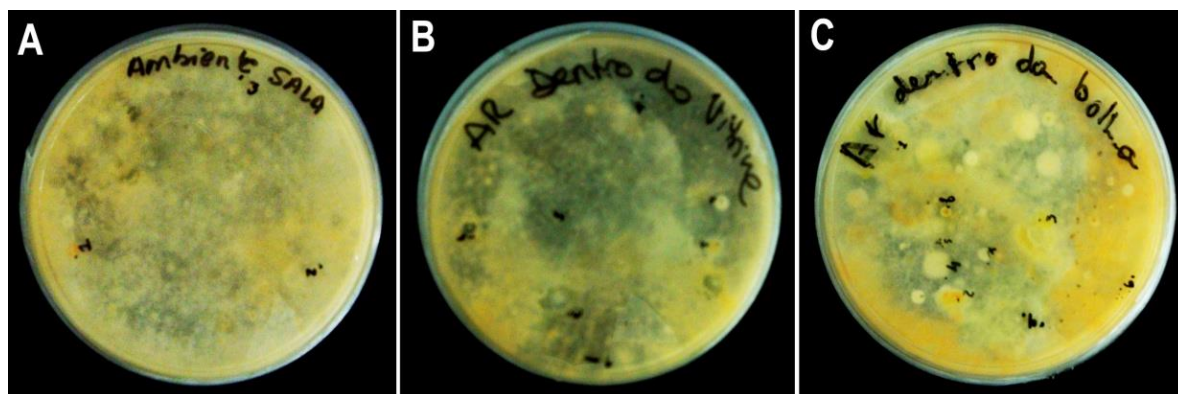


Figura 31: Amostras coletadas a partir dos ambientes de exposição da múmia do sacerdote Hori. Crescimento de colônias em meio Sabouraud Ágar, após cultivo à temperatura de 28°C. **A.** Amostra do ar da sala de exposição, coletada próxima da vitrine. **B.** Amostra do ar do interior da vitrine. **C.** Amostra do ar do interior da cápsula em que a múmia estava acondicionada. Ambas as amostras foram coletadas de forma ativa por meio do amostrador de ar automático.

5.2.3. Amostra do depósito de poeira existente sobre a cápsula de plástico

A amostra de material depositado sobre o plástico da cápsula, captada com o mini aspirador, apresentou colônias filamentosas e uma abundância de colônias leveduriformes, semelhantes entre si, que estavam sobrepostas e dispersas na placa. O aspecto deste depósito de poeira sobre o plástico e sua posição, alinhado com a fresta existente na junção vidro-madeira da vitrine (Figura 32), sugere que ali houve depósito de material vindo do ambiente externo (poeira do ambiente), o que permitiu o crescimento de colônias fúngicas.



Figura 32: **A.** Junção vidro-madeira da vitrine (seta vermelha), por onde o material externo, constituído por poeira do ambiente penetrou na vitrine, ficando depositado sobre a cápsula. **B.** Depósito de poeira sobre a cápsula, presente abaixo da junção vidro-madeira da vitrine, destacado pelo círculo vermelho.

5.2.4. Potencial de patogenicidade das cepas isoladas a partir da múmia do sacerdote Hori e ambientes relacionados

Dentre as 26 cepas isoladas a partir das coletas feitas na múmia do sacerdote Hori e ambiente relacionado, 19 foram consideradas potencialmente patogênicas por terem crescido a 37°C. As características apresentadas por cada cepa pode ser visualizada nas respectivas fichas de descrição, no CD anexo à dissertação. Destas, nenhuma se originou de coletas feitas diretamente na múmia, sendo portanto originadas das coletas feitas no ambiente, sugerindo que estes fungos são daí originários. Foram 6 cepas derivadas do ar de dentro da vitrine, 4 do ar da Sala de Exposição, 8 da atmosfera interna à cápsula, além de 1 proveniente do depósito de poeira que havia sobre a cápsula.

As 6 cepas derivadas da amostra do ar da vitrine foram filamentosas, sendo identificadas em 4 gêneros distintos. As 4 cepas derivadas da amostragem da Sala de Exposição também foram filamentosas, sendo 3 pertencentes ao mesmo gênero. As 8 cepas derivadas da atmosfera da cápsula, todas filamentosas, foram identificadas e distribuídas em 3 gêneros distintos. A única cepa isolada do depósito de poeira da cápsula foi filamentosa.

5.3. Descrição preliminar dos gêneros isolados em ambas as múmias

Considerando ambas as múmias e seus respectivos ambientes de exposição, das 46 cepas filamentosas isoladas, 42 foram descritas ao nível de gênero após a análise macro e microscópica. Outras 4 cepas, isoladas de amostras ambientais, foram identificadas como micélio estéril, pois não apresentaram conidióforos após o microcultivo. Além disso, possuíam aspectos macro e microscópicos semelhantes entre si, sugerindo que podem pertencer ao mesmo gênero. Foram 11 gêneros ao todo, distribuídos entre o material proveniente das múmias e seus ambientes de exposição (Tabela 3). Dentre os gêneros identificados foram observadas algumas diferenças entre as cepas incluídas em cada um, como variação na coloração e no tamanho de conídios e conidióforos, sugerindo a existência de mais de uma espécie.

Tabela 3. Distribuição dos gêneros fúngicos entre as múmias e seus ambientes de exposição e a quantidade de isolados positivos para crescimento em 37°C em cada área amostrada.

Múmia	Gênero	Área de coleta e quantidade de cepas isoladas						Total de isolados	Positivos em 37°C
		Corpo	Poeira de cima da cápsula	Vitrine	Sala de exposição Coleta ativa	Sala de exposição Coleta passiva	Cápsula		
Lactente	<i>Alternaria</i>	2	-	1	0	2	-	5	0
	<i>Aspergillus</i>	1+	-	0	0	0	-	1	1
	<i>Chaetomium</i>	2+	-	0	0	0	-	2	1
	<i>Cladophialophora</i>	1	-	0	0	0	-	1	0
	<i>Cladosporium</i>	0	-	1	1	0	-	2	0
	<i>Cryptococcus laurentii</i>	1+	-	1+	2+	1+	-	5	4
	<i>Curvularia</i>	1+	-	3+++	2++	2+	-	8	7
	<i>Fusarium</i>	0	-	0	1+	0	-	1	1
	Micélio estéril	0	-	0	1+	0	-	1	1
	Total de isolados	8	-	6	7	5	-	26	-
Positivos em 37°C	4	-	4	5	2	-	-	15	
Hori	<i>Aspergillus</i>	0	0	2++	3+++	-	4++++	9	9
	<i>Cladosporium</i>	3	0	0	0	-	0	3	0
	<i>Fusarium</i>	0	0	2++	0	-	0	2	2
	<i>Paecilomyces</i>	0	1+	0	0	-	0	1	1
	<i>Penicillium</i>	1	0	2+	0	-	3++	6	3
	<i>Trichoderma</i>	0	0	0	0	-	1+	1	1
	Micélio estéril	0	0	1+	1+	-	1+	3	3
	Total de isolados	4	1	7	4	-	9	25	-
Positivos em 37°C	0	1	6	4	-	8	-	19	

Obs.: Símbolo (+) igual a quantidade de isolados positivos para o crescimento em 37°C.

Já as cepas leveduriformes, todas isoladas da múmia do lactente e seus ambientes de exposição, após serem submetidas à análise pelo método Vitek®2, foram identificadas como pertencentes à espécie *Cryptococcus laurentii* (Tabela 4). Apenas uma cepa, do total de 5, isolada da amostra de ar da vitrine, não pode ser identificada por este método, embora tenha apresentado aspecto macroscópico semelhante às demais. No aspecto microscópico nem todas as cepas foram semelhantes (Figura 33). Nos testes adicionais de urease e DBB realizados, todas as cepas foram positivas, sendo este um indicativo para a confirmação da espécie. Apenas uma destas cepas, isolada da amostragem de ar ativa da sala de exposição, não foi positiva para o crescimento em 37°C.

Tabela 4. Distribuição das cepas leveduriformes, identificadas a partir do método Vitek®2, entre os ambientes de coleta.

Cepa	Espécie indicada	Origem	Isolamento em 37°C	Método de Identificação	Testes adicionais	
					Produção de urease	DBB
M1b	<i>Cryptococcus laurentii</i>	Sala de exposição. Coleta ativa	-	Vitek®2	+	+
M2b	<i>Cryptococcus laurentii</i>	Sala de exposição. Coleta ativa	+	Vitek®2	+	+
M4b	<i>Cryptococcus laurentii</i>	Sala de exposição. Coleta passiva	+	Vitek®2	+	+
M5b*	-	Vitrine	+	Vitek®2	+	+
M21b	<i>Cryptococcus laurentii</i>	Corpo	+	Vitek®2	+	+

*Cepa não identificada.

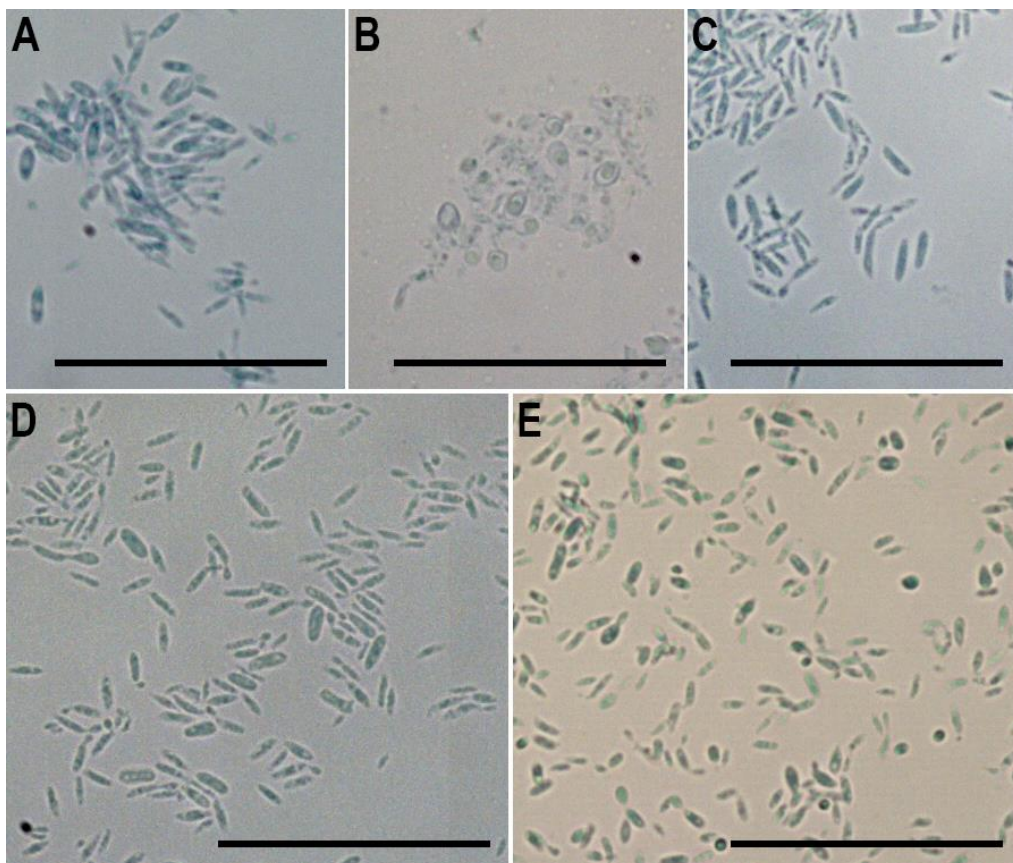


Figura 33. Cepas leveduriformes isoladas da múmia de lactente e ambientes relacionados. **A.** Cepa M1b. **B.** Cepa M2b. **C.** Cepa M4b. **D.** Cepa M5b. **E.** Cepa M21b. (Barra 50 μm).

5.3.1. Gêneros fúngicos isolados da múmia de lactente e seus ambientes de exposição

Foram descritos 7 gêneros distintos, isolados das amostras associadas a esta múmia: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Cladophialophora*, *Cladosporium*, *Curvularia* e *Fusarium* (Figura 34). Além da espécie *Cryptococcus laurentii*, no caso das cepas leveduriformes. Também foi identificada uma cepa como micélio estéril (*Micelia sterilia*).

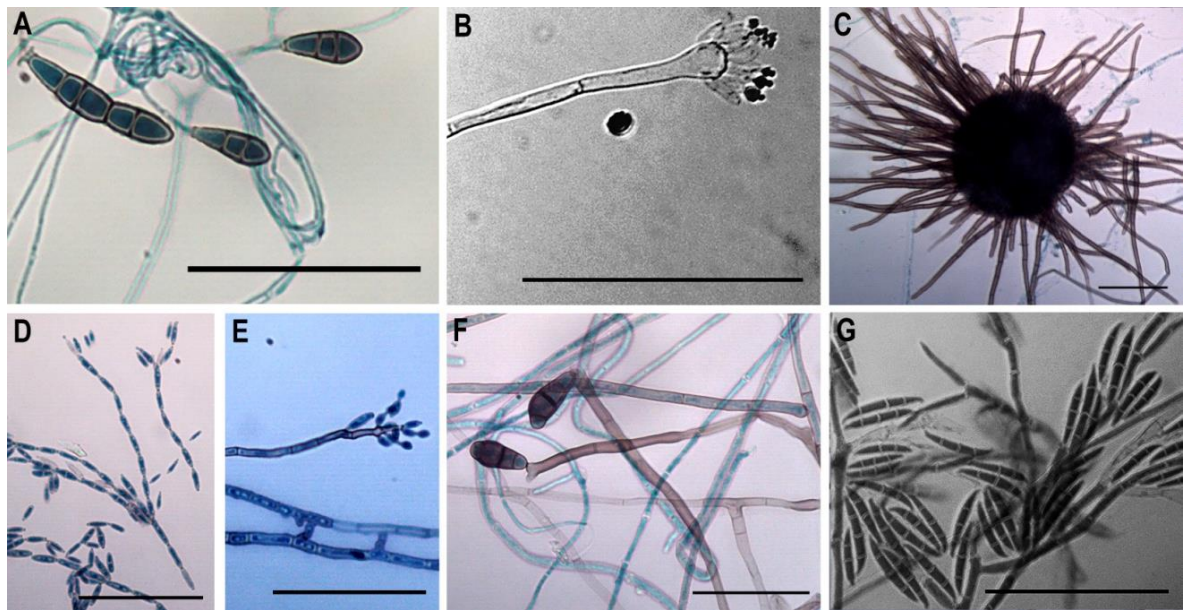


Figura 34: Gêneros fúngicos isolados a partir da múmia de lactente e seus ambientes de exposição. **A.** *Alternaria*. **B.** *Aspergillus*. (Barra 50 μm). **C.** *Chaetomium*. (Barra 10 μm). **D.** *Cladophialophora*. **E.** *Cladosporium*. **F.** *Curvularia*. **G.** *Fusarium*. (Barra 50 μm).

O gênero prevalente foi *Curvularia*, tendo sido isolado 8 vezes dentre as amostras corporais e ambientais (Figura 35). Sete destes isolados foram positivos para o crescimento em 37°C. *Aspergillus* foi o gênero menos frequente com apenas 1 isolado proveniente de uma amostra da superfície da múmia de lactente, tendo também crescimento positivo em 37°C.

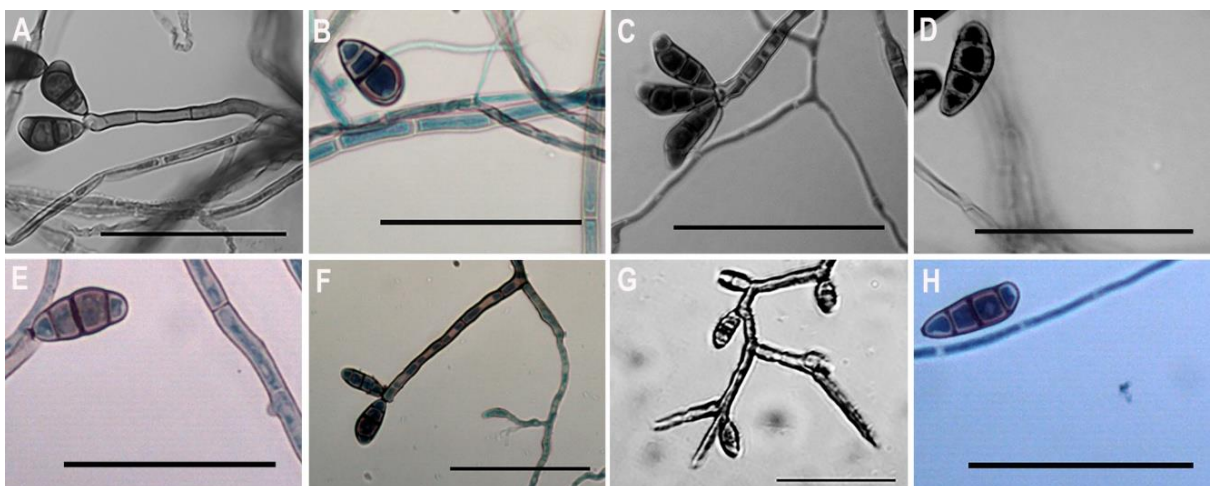


Figura 35: A – H. Cepas do gênero *Curvularia* isoladas a partir das amostras coletadas do corpo e dos ambientes de exposição da múmia de lactente. (Barra 50 μm).

A partir das 8 cepas isoladas de amostras recuperadas do corpo do lactente, foram identificados 5 gêneros distintos. Os gêneros identificados, juntamente com o respectivo nome da cepa na ficha de descrição segue a seguinte ordem: 1 isolado de *Curvularia* (M27b), 1 de *Aspergillus* (M15b), 2 de *Alternaria* (M13b; M14b), 2 de *Chaetomium* (M22b; M23b), e 1 semelhante a *Cladophialophora* (M26b), todos fungos filamentosos (Figura 36); Além de 1 de *C. laurentii* (M21b), leveduriforme. Apenas os isolados de *Alternaria* e um de *Chaetomium* não foram positivos para crescimento em 37°C.

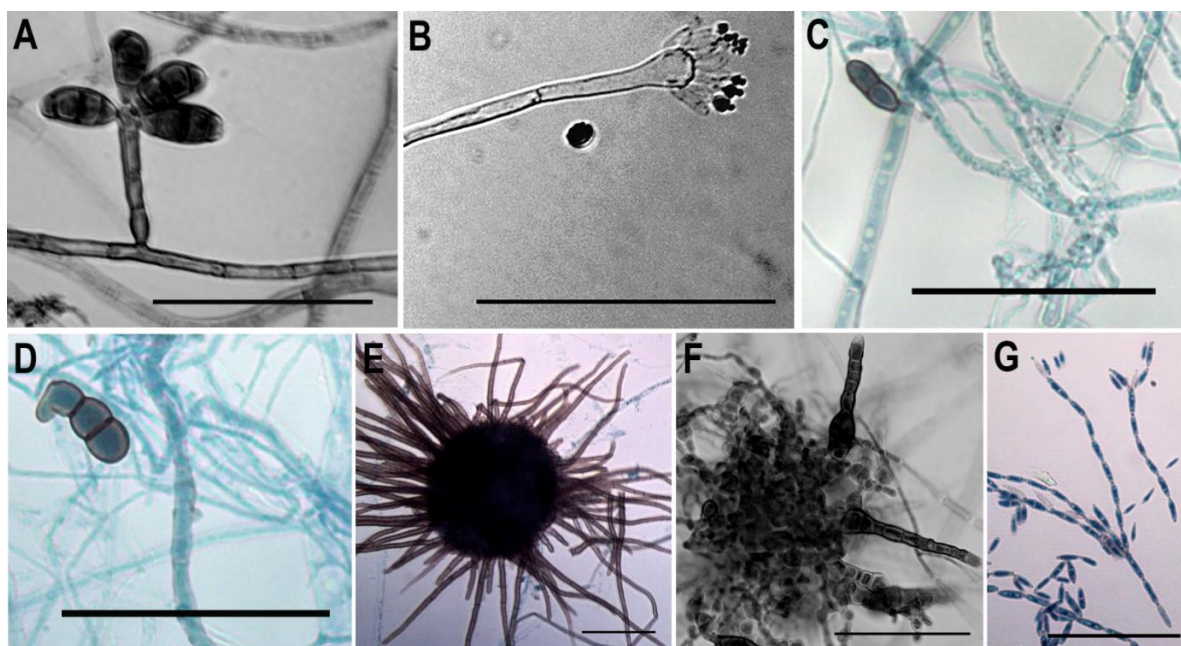


Figura 36: Cepas isoladas a partir de amostras corporais da múmia de lactente. **A.** *Curvularia*. **B.** *Aspergillus*. **C e D.** *Alternaria*. **E e F.** *Chaetomium*. **G.** *Cladophialophora*. (Barra 50 µm, exceto em E: 20 µm).

A partir da amostra ambiental do interior da vitrine, dentre as 6 cepas isoladas, foram descritas 3 pertencentes ao gênero *Curvularia* (M11b; M18b; M25b), 1 de *Alternaria* (M12b) e 1 de *Cladosporium* (M24b), todas filamentosas (Figura 37). Além de 1 semelhante àquelas identificadas como *Cryptococcus laurentii* (M5b), que é leveduriforme e foi positiva para crescimento em 37°C. Como *C. laurentii*, apenas as cepas de *Curvularia* foram positivas nesta temperatura.

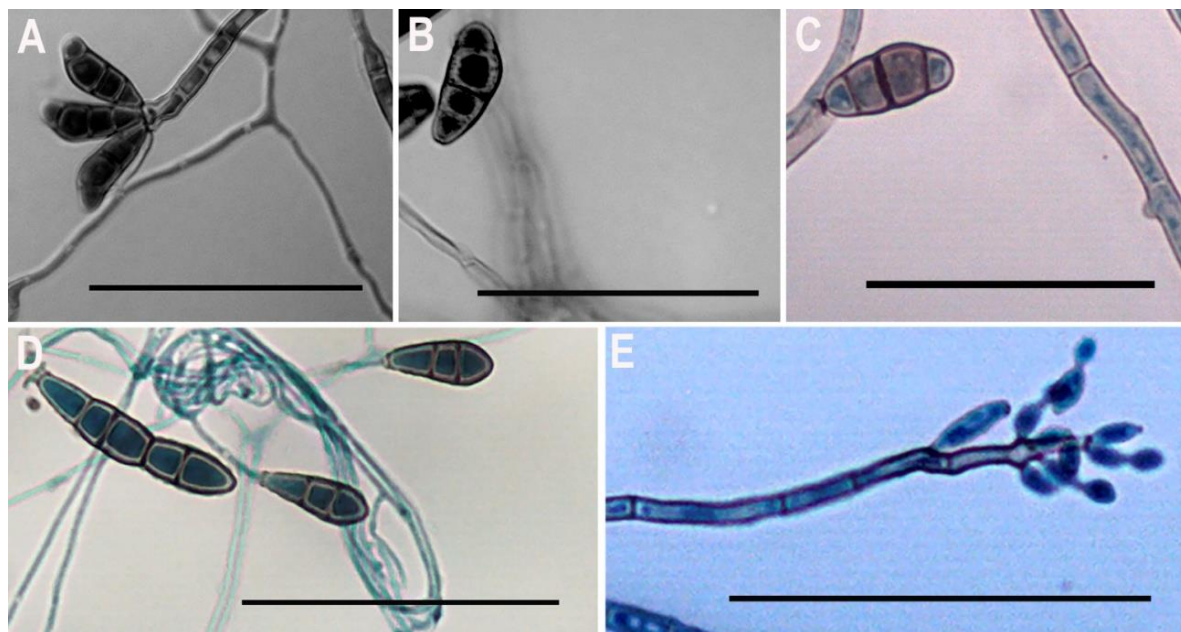


Figura 37: Cepas isoladas a partir da amostra ambiental coletada de dentro da vitrine onde estava acondicionada a múmia de lactente. **A, B e C.** *Curvularia*. **D.** *Alternaria*. **E.** *Cladosporium*. (Barra 20 μm em A, B e C; D e E: 50 μm).

A partir da amostra ambiental da sala de exposição, coletada de forma ativa, das 7 cepas isoladas, 2 foram descritas como *Curvularia* (M8b; M16b), 1 como *Cladosporium* (M17b), 1 como *Fusarium* (M6b) e 1 como *Micelia sterilia* (M7b), todas essas filamentosas (Figura 38). Outras 2 cepas foram identificadas como pertencentes à espécie *Cryptococcus laurentii* (M1b; M2b). Dentre todas as cepas, apenas a do gênero *Cladosporium* e uma da espécie *C. laurentii* não cresceram em 37°C, sendo as demais positivas para crescimento nesta temperatura.

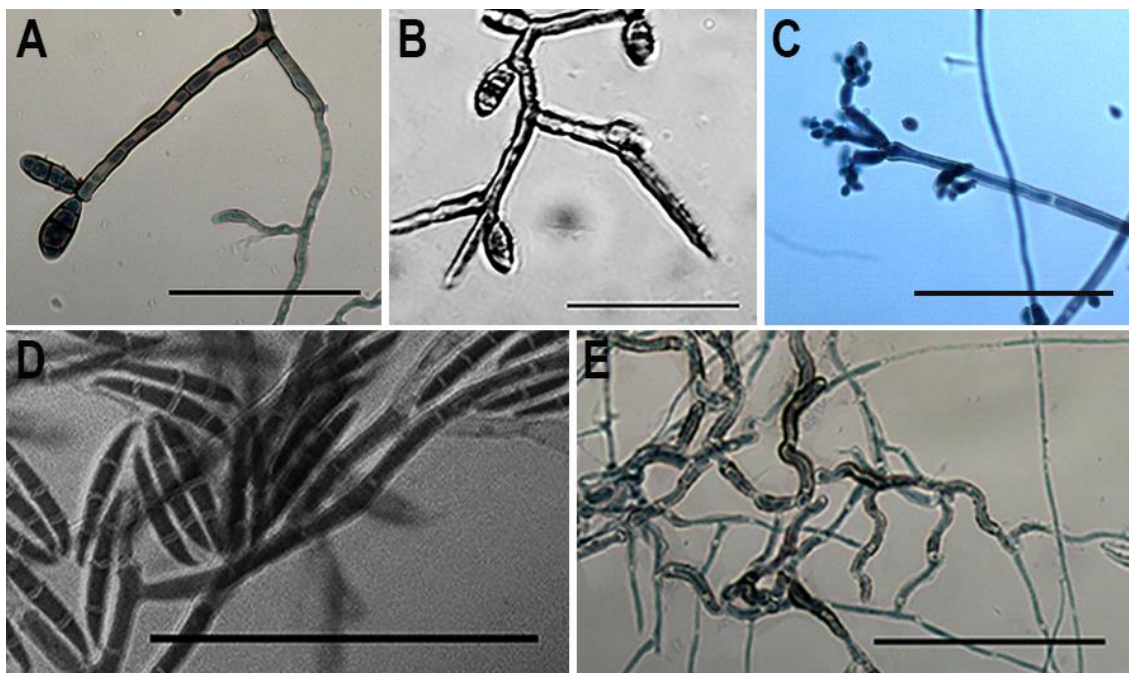


Figura 38: Cepas isoladas a partir da amostra ambiental da Sala de Exposição coletada de forma ativa. **A e B.** *Curvularia*. **C.** *Cladosporium*. **D.** *Fusarium*. **E.** Micélio estéril. (Barra 50 μm).

Dentre as 5 cepas isoladas da amostra ambiental passiva da Sala de Exposição, no mesmo período, foram descritas 2 como *Curvularia* (M9b; M19b), e 2 *Alternaria* (M10b; M20b), ambas filamentosas (Figura 39); e 1 como *C. laurentii* (M4b). Destas, foram positivas para crescimento em 37°C apenas a cepa de *C. laurentii* e uma das cepas de *Curvularia*.

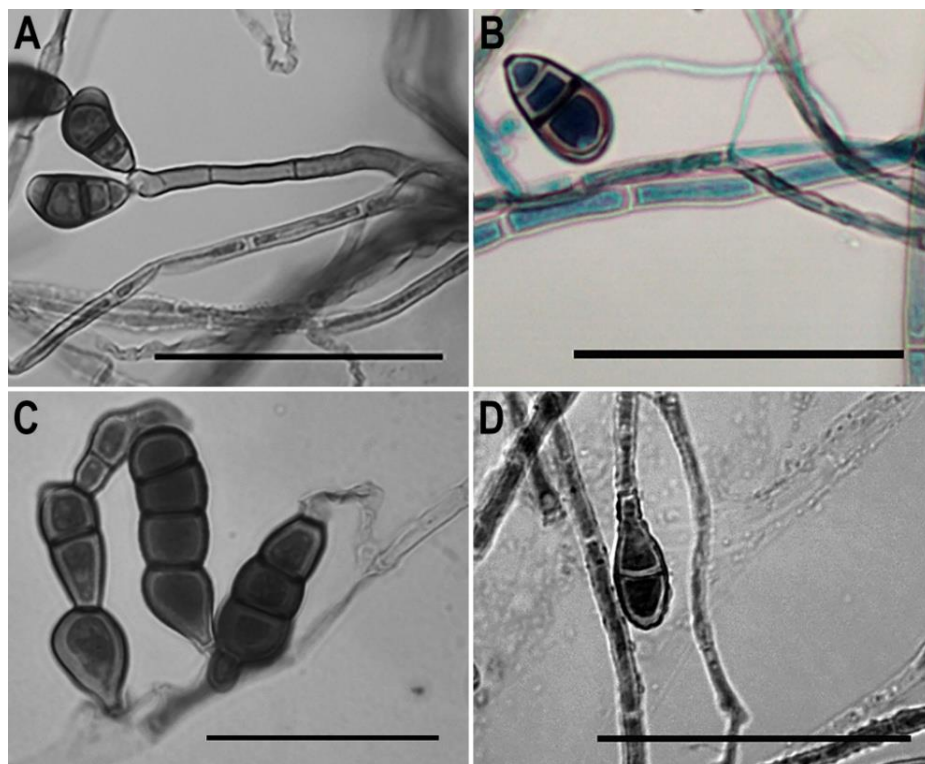


Figura 39: Cepas isoladas a partir da amostra ambiental da Sala de Exposição coletada de forma passiva. **A e B.** *Curvularia*. **C e D.** *Alternaria*. (Barra 50 μ m).

5.3.2. Gêneros fúngicos isolados da múmia Hori e seus ambientes de exposição

Foram descritos 6 gêneros distintos entre os fungos filamentosos, a saber, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Acremonium*, *Paecilomyces*, *Penicillium* e *Trichoderma* (Figura 40). Outras 3 cepas foram descritas como *Micelia sterilia*, pois não foram observados conidióforos na análise microscópica. Estes micélios estéreis foram semelhantes entre si nos aspectos macroscópicos, mas diferentes nos aspectos microscópicos, sendo isolados de uma amostra do ar da vitrine (ficha M46h), outra do ar da sala de exposição (M31h) e a terceira do ar de dentro da cápsula (M37h) (Figura 41).

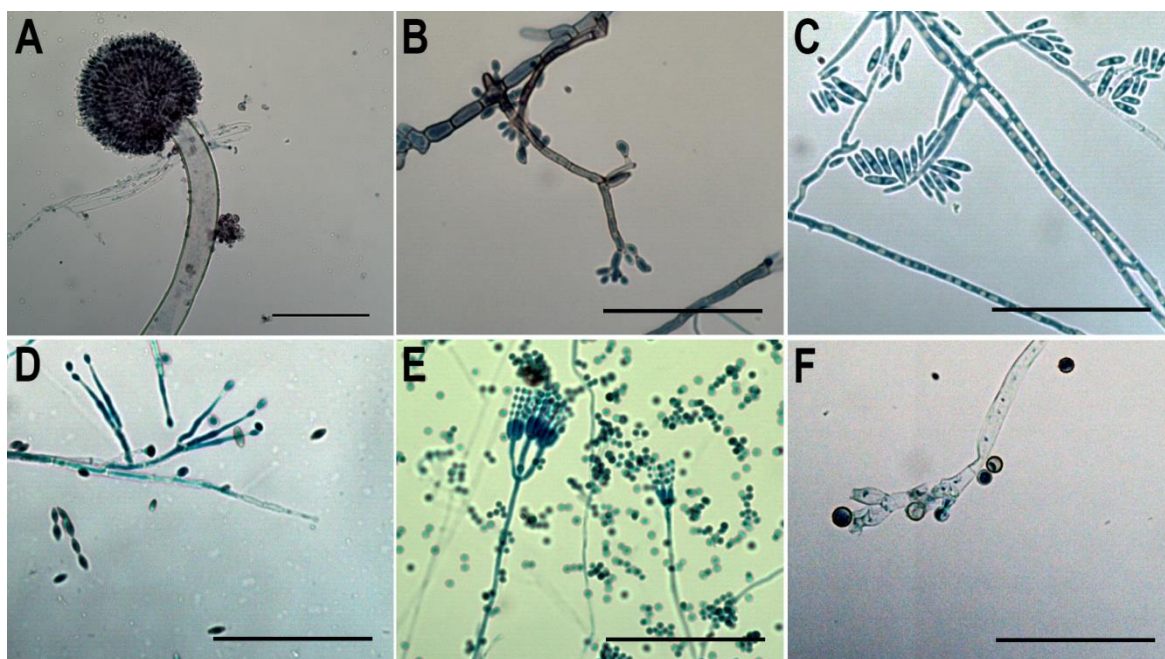


Figura 40: Gêneros fúngicos isolados a partir da múmia Hori e seus ambientes de exposição. **A.** *Aspergillus*. **B.** *Cladosporium*. **C.** *Acremonium*. **D.** *Paecilomyces*. **E.** *Penicillium*. **F.** *Trichoderma*. (Barra 50 μm , exceto em A: 20 μm).

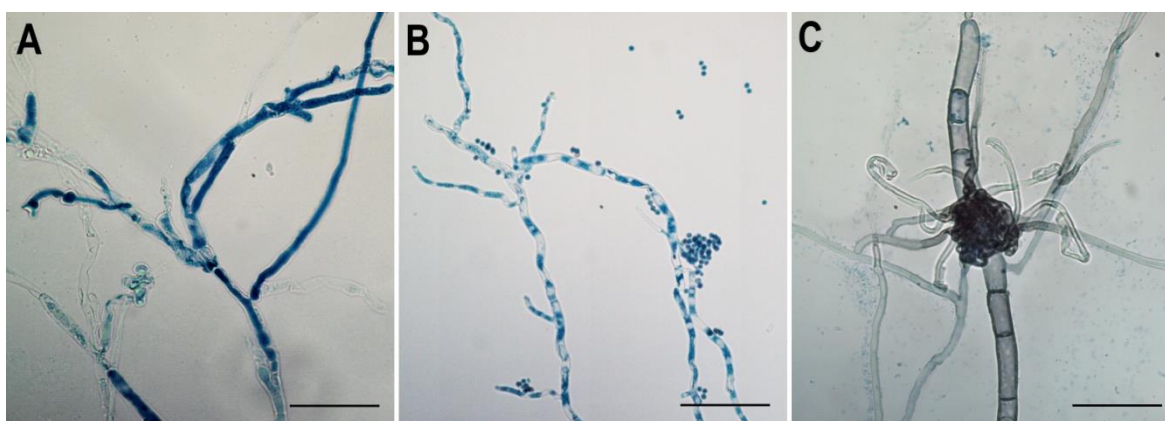


Figura 41: **A, B** e **C.** Cepas de fungos filamentosos isoladas dos ambientes de exposição da múmia Hori descritas como micélio estéril. (Barra 50 μm).

Aspergillus foi o gênero prevalente, tendo sido isolado apenas das amostras ambientais. No total, foram 9 isolados (Figura 42), sendo todos positivos para crescimento em 37°C.

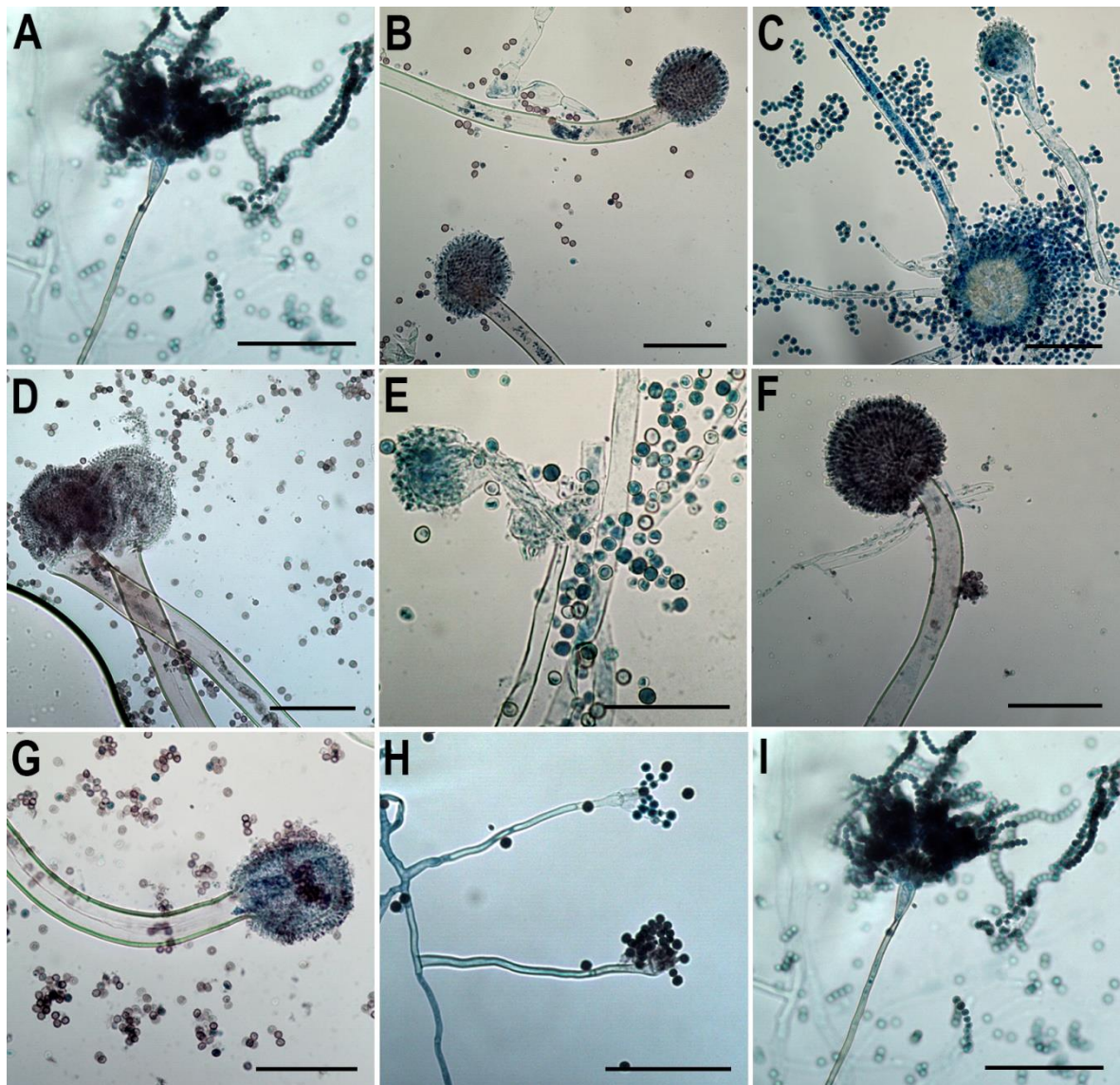


Figura 42: A - I. Cepas distintas do gênero *Aspergillus* isoladas dos ambientes de exposição da múmia do sacerdote Hori. (Barra 50 μm , exceto em B, C, D, F e G: 20 μm).

Paecilomyces e *Trichoderma* foram os menos prevalentes, com apenas 1 isolado cada. Ambos positivos para o crescimento em 37°C.

Dentre as 4 cepas isoladas de amostras corporais, 3 foram descritas como *Cladosporium*, sendo 2 provenientes da amostra de fragmento de barbante (M51h; M52h) e 1 do material aspirado da região do tórax (M53h). Uma quarta cepa foi descrita como *Penicillium* (M50h), sendo esta proveniente do material capturado pela raspagem do fragmento de barbante (Figura 43).

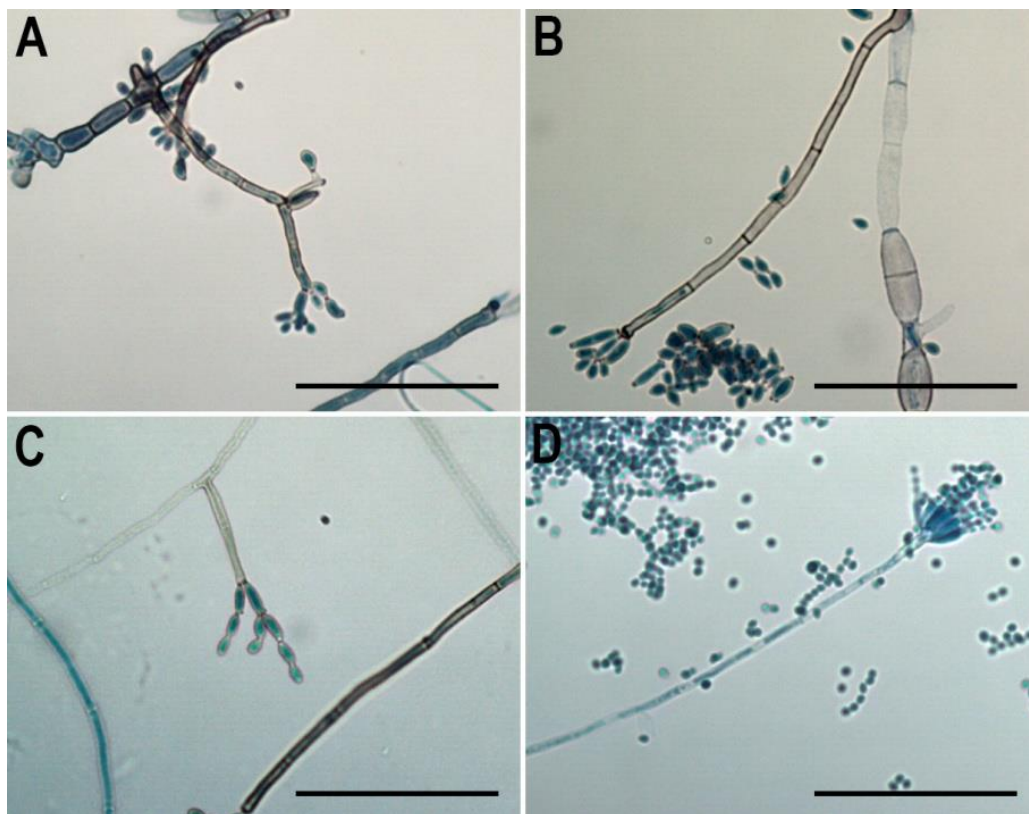


Figura 43: Cepas distintas isoladas a partir das amostras corporais da múmia Hori. **A, B e C.** *Cladosporium*. **D.** *Penicillium*. (Barra 50 μm).

Dentre as 7 cepas isoladas da amostra de ar da vitrine, 2 foram descritas como *Aspergillus* (M43h; M47h), 2 como *Penicillium* (M41h; M44h), 2 como *Acremonium* (M42h; M45h) (Figura 44) e 1 como *Micelia sterilia* (M46h). Destas, apenas uma cepa de *Penicillium* não cresceu em 37°C.

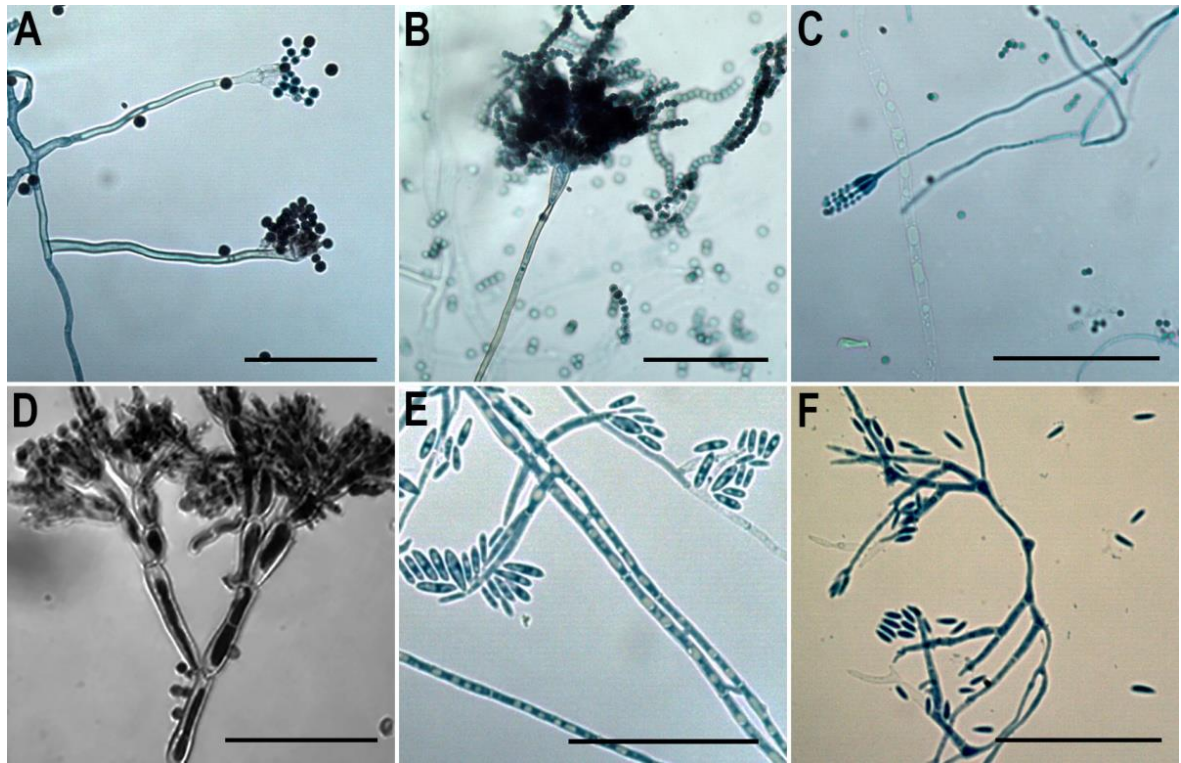


Figura 44: Cepas isoladas a partir da amostra de ar da vitrine onde estava exposta a múmia do sacerdote Hori. **A e B.** *Aspergillus*. **C e D.** *Penicillium*. **E e F.** *Acremonium*. (Barra 50µm).

A cepa isolada a partir da amostra de depósito de poeira, obtida de cima da cápsula foi descrita como *Paecilomyces* (M49h). A partir da amostra do ar da sala de exposição, foram isoladas 4 cepas. Três descritas como *Aspergillus* (M28h; M29h; M30h) (Figura 45) e 1 como *Micelia sterilia* (M31h). Todas as cepas foram positivas para crescimento em 37°C.

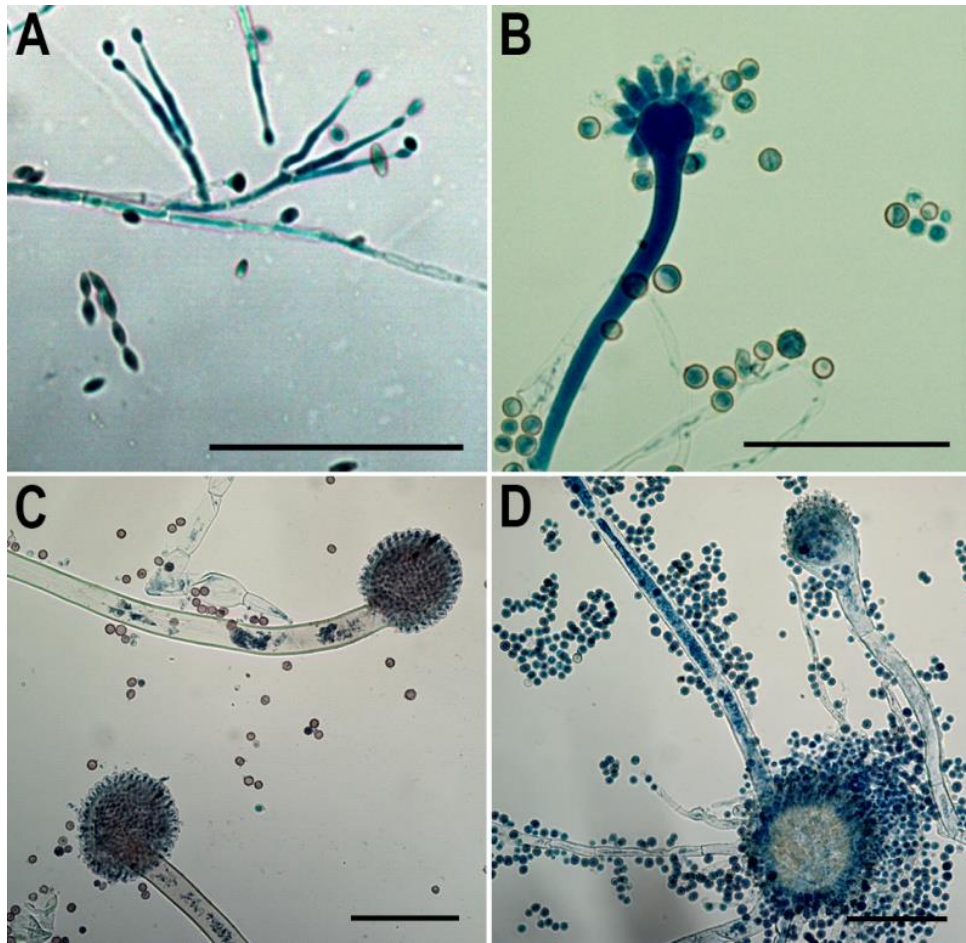


Figura 45: Cepas isoladas a partir dos ambientes de exposição da múmia do sacerdote Hori. **A.** *Paecilomyces*. Cepas isolada do depósito de poeira. **B, C e D.** *Aspergillus*. Cepas isoladas da amostra ambiental da sala de exposição. (Barra 50 μm , exceto em C e D: 20 μm).

Das 9 cepas isoladas da amostra de ar da cápsula, 4 foram descritas como *Aspergillus* (M32h; M33h; M34h; M36h), 3 como *Penicillium* (M35h; M38h; M39h), 1 como *Trichoderma* (M40h) (Figura 46) e 1 como *Micelia sterilia* (M37h). Todas foram positivas para o crescimento em 37°C, exceto 1 cepa de *Penicillium*.

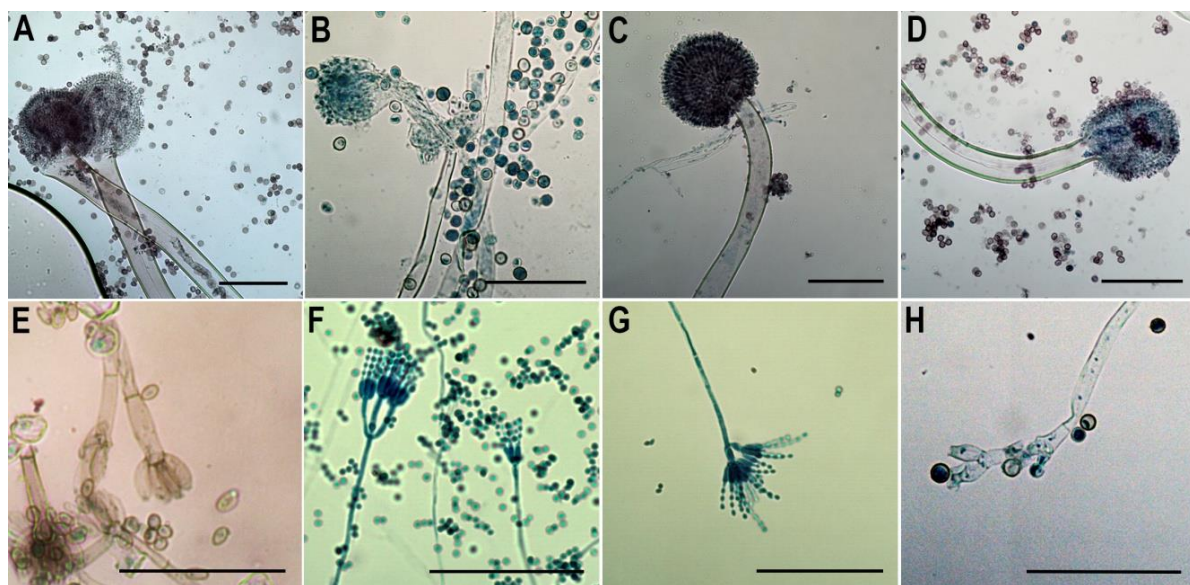


Figura 46: Cepas distintas isoladas da amostra de ar da cápsula onde a múmia do sacerdote Hori estava acondicionada. **A, B, C e D.** *Aspergillus*. **E, F e G.** *Penicillium*. **H.** *Trichoderma*. (Barra 50 μm , exceto em A, C e D: 20 μm).

6. DISCUSSÃO

A contaminação biológica tem sido um sério problema que afeta múmias egípcias, principalmente, quando expostas a altos níveis de umidade do ar e a ambientes pouco ou não ventilados, como visto nos estudos de Elnaggar *et al.* (2010)³⁰ e Valentín (2012)⁵.

No caso das múmias analisadas neste estudo, observamos duas situações. A múmia de lactente há muito tempo sob visitação em vitrine pouco isolada, sendo frequentemente exposta ao ambiente externo, e a múmia de Hori, exposta em vitrine que permaneceu fechada, e dentro de cápsula selada.

Embora a umidade do ar no ambiente do Museu seja relativamente alta (cerca de 70%), as janelas da sala de exposição permanecem a maior parte do tempo abertas, permitindo que haja circulação permanente do ar no ambiente interno. Por outro lado, esta mesma circulação de ar externo para o interior da sala permite o contato das múmias com propágulos fúngicos trazidos do ambiente externo onde há árvores de grande porte no entorno, além da presença de aves e outros animais que circulam na área externa, telhado e jardins do Museu.

Como alguns dos fungos isolados neste estudo também são conhecidos por associação aos vegetais, agindo como simbioses ou parasitas, como *Fusarium* e *Trichoderma*, por exemplo, o foco da proliferação destes também pode ter origem em árvores que se encontram ao redor do Museu.

Além disso, sabe-se que alguns animais, como pequenos mamíferos e insetos, quando presentes em museus e no entorno podem ser prejudiciais para a conservação de diversos tipos de materiais, seja por sua ação direta, como também por poderem criar condições para o desenvolvimento de variados tipos de microrganismos, além de serem vetores dos mesmos, trazendo-os do ambiente externo para o interno⁵. Contudo, os fungos isolados no presente estudo são anemófilos e comumente encontrados no ambiente e, por isso, facilmente dispersos pelo ar (aerovagantes), podendo ser o foco de sua proliferação tanto no ambiente em torno do Museu, como ambientes mais afastados, inclusive, quilômetros distantes, conforme relata Valentín (2012)⁵.

Da mesma forma, a circulação de pessoas dentro do Museu também parece contribuir para a contaminação das peças, o que é mais provável do que a presença de animais, por exemplo.

A presença de fungos como *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* e *Penicillium* dentro de ambiente de museus, isolados do ar e de corpos mumificados, egípcios ou não, também foi observada nos estudos de Araya *et al.* (2001)²⁸, Lopez-Martinez (2007)³, Elnaggar *et al.* (2010)³⁰, Caycho *et al.* (2010)¹⁹. Isto se explica por serem fungos comumente encontrados na natureza (anemófilos), ou seja, facilmente disseminados pelo ar, cosmopolitas, além de serem descritos na literatura por sua capacidade de desenvolvimento em variados tipos de substratos e em diversas condições ambientais.

Além destes fungos, uma variedade pequena de gêneros foi isolada, sendo composta por *Alternaria*, *Curvularia*, *Paecilomyces* e *Trichoderma*, que também são, comumente, encontrados na natureza e já foram relatados em ambientes de museus, ainda que com menos frequência. Sua associação a corpos mumificados aparece em estudos de Caycho *et al.* (2010)¹⁹ e Elnaggar *et al.* (2010)³⁰.

O isolamento de fungos semelhantes, tanto de amostras das múmias como dos ambientes internos das vitrines e do ar da sala de exposição, indica que estes estão bem disseminados, sendo provável que o que foi isolado no presente estudo seja resultado da contaminação das múmias, que estão há dois séculos no ambiente tropical onde encontra-se o Museu. Tal como descrito antes, os corpos mumificados representam bons substratos e, ao longo do tempo, tem recebido e guardado os resíduos dispersos pelo ar ou disseminados pela manipulação e contato com materiais e objetos diversos, mantendo, assim, fungos em sua superfície.

Do ponto de vista dos riscos para a conservação, embora as múmias deste estudo se apresentem bem conservadas, a presença de fungos viáveis na sua superfície confirma que estão sujeitas à ação danosa destes microrganismos. Caso haja condições favoráveis, por exemplo, com aumento da umidade, poderão sofrer séria deterioração. Da mesma forma, outras múmias presentes na Coleção Egípcia provavelmente estão sob o mesmo risco. Devido à presença destes fungos no ambiente e nas peças examinadas, é possível supor que toda a coleção guardada e exposta nos mesmos ambientes esteja sob o mesmo tipo de contaminação. O desenvolvimento destes microrganismos sobre as múmias analisadas, no entanto, depende

de condições favoráveis, relacionadas à umidade relativa do ar, variações de temperatura, luminosidade, natureza dos nutrientes presentes nos corpos e umidade presente nos corpos²¹.

A maioria destes fungos tem a capacidade de produzir diversas enzimas, como celulases, amilases, proteases e queratinases, que são capazes de degradar os materiais constituintes dos corpos mumificados. A celulase, por exemplo, degrada a celulose encontrada no linho das bandagens²¹, sendo *Fusarium* considerado um dos mais potentes microrganismos a provocar a degradação de diversos tipos de materiais celulósicos⁶⁵.

Apesar da presença de propágulos viáveis e da umidade relativa do ar ser alta, não foram observadas manchas e áreas sugestivas de crescimentos ativos de fungos sobre as múmias. É possível que outros fatores estejam inibindo o desenvolvimento fúngico sobre as peças e favorecendo a boa conservação das mesmas, tal como os produtos usados no embalsamamento destas múmias, os quais ainda podem estar mantendo algum efeito inibidor protegendo-as da ação biodegradante de fungos.

Elnaggar *et al.* (2010)³⁰, testando a suscetibilidade de fungos como *Aspergillus* e *Penicillium* isolados de múmias egípcias do *Ismailia Museum*, Egito, a diversos produtos utilizados na mumificação, constataram que o sal de natrão seria o melhor inibidor do crescimento fúngico, enquanto que mirra e cera de abelha, por exemplo, teriam pouco efeito nesse sentido. Já outros materiais, a maioria de origem vegetal, teriam efeito nulo.

No caso da múmia do sacerdote Hori, a sua manutenção por 10 anos dentro de cápsula com uma atmosfera anóxica certamente estabilizou o ambiente e foi capaz de inibir o crescimento fúngico, mesmo que não tenha sido capaz de inviabilizar os esporos depositados na mesma. Propágulos viáveis dos gêneros *Cladosporium* e *Penicillium* foram isolados nesta peça. *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Micelia sterilia* e, novamente, *Penicillium*, foram isolados de amostras do ar do interior da cápsula.

Comparando-se os resultados do presente estudo com aqueles do trabalho realizado por Wanke (2003) (comunicação pessoal), é possível notar que os gêneros *Cladosporium* e *Penicillium* foram isolados de amostras derivadas da múmia Hori em ambos. Segundo o trabalho de Wanke, ainda foram identificados os gêneros *Aspergillus* e *Drechslera*, além de Dematiaceae. No presente estudo, *Aspergillus* foi isolado apenas de amostras ambientais, inclusive da amostra do interior da cápsula.

O resultado positivo para o isolamento fúngico em ambos os trabalhos sugere que os fungos isolados nas duas ocasiões possam ter tido a mesma origem. Infelizmente, no caso da coleta feita em 2003, por Sheila Mendonça de Souza, quando do fechamento da cápsula, não foi feita a marcação do local de coleta sobre a superfície da múmia, o que impede de correlacionar diretamente os dois resultados. No entanto, as manchas escuras já eram percebidas. O fato de a múmia ter estado isolada em atmosfera anóxica desde o momento da primeira coleta até a segunda – dentro da cápsula isolada do ar exterior – permite propor que os fungos que existiam na superfície da múmia naquele momento seriam os mesmos encontrados na presente coleta, principalmente porque, embora pudessem estar inativos, estes não teriam perdido sua viabilidade apenas pela exposição ao nitrogênio presente na cápsula.

Um agravante neste caso é que com a remoção da cápsula e a exposição da múmia a uma atmosfera não controlada, como a da sala de exposição da Coleção Egípcia, pode surgir um novo ciclo de crescimento fúngico, além de favorecer o contato da múmia com novos propágulos fúngicos presentes no ambiente, que venham também a se desenvolver e causar-lhe danos, prejudicando, novamente, sua conservação⁵.

O isolamento de *Aspergillus* de todos os ambientes relacionados à múmia do sacerdote Hori mostra que este fungo pode estar bem disseminado dentro da sala de exposição. Contudo, o mesmo não foi isolado de amostras corporais, apesar de ter sido isolado do ar da cápsula onde a múmia esteve acondicionada. De certa forma, isto ocorreu com o gênero *Curvularia*, o qual foi prevalente dentre os gêneros isolados dos ambientes de exposição da múmia do lactente, porém ocorreu apenas uma vez entre as amostras derivadas do corpo.

Isto pode ser explicado pela forma de exposição e armazenamento dos corpos ou pela própria viabilidade dos propágulos, após o contato com determinado fator inibidor presente nos corpos.

De qualquer forma, foram isolados do corpo desta múmia uma variedade de fungos composta por *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Chaetomium*, *Cryptococcus laurentii* e *Curvularia*, o que pode significar um risco maior para sua conservação. Segundo Valentín (2012)⁵, todos estes fungos podem ser agentes de biodeterioração de corpos mumificados, pois são capazes de atuar sobre os compostos orgânicos presentes, caso existam condições favoráveis.

Do ponto de vista dos riscos para a saúde, todos os fungos descritos no presente estudo, segundo a literatura, podem ser associados a algum tipo de enfermidade causada ao homem. As mais frequentes são rinites, dermatites, bronquites alérgicas, além de alergias diversas, por conta do contato e inalação de propágulos suspensos no ar. E entre os fungos isolados no presente estudo, *Aspergillus* destaca-se como o principal patógeno. De acordo com Valentín (2012)⁵, já foi, inclusive, isolado com grande frequência em diversos estudos relacionados à contaminação biológica de múmias egípcias e seus sarcófagos, entre outros materiais.

O gênero *Aspergillus* possui grande importância na micologia médica, pois abriga espécies capazes de causar complicações à saúde humana, podendo afetar os indivíduos susceptíveis de forma superficial ou sistêmica³⁷. E a constante circulação de indivíduos dentro de ambientes onde este e outros fungos potencialmente patogênicos podem estar presentes, aumenta os riscos à saúde dos mesmos.

A inalação de esporos de *Alternaria* e *Cladosporium*, por exemplo, pode fazer com que os indivíduos susceptíveis desenvolvam alergias ainda que os esporos não estejam mais viáveis⁶⁶. Estes gêneros apresentam uma ampla distribuição geográfica e podem viver na natureza como sapróbios ou parasitas⁶⁷.

Além disso, os gêneros *Alternaria* e *Cladosporium*, embora sejam conhecidos por apresentarem potencial patogênico ao homem, não foram termotolerantes para temperatura de 37°C, no presente estudo. Isto pode indicar que foram isoladas espécies não patogênicas, ainda que outros fatores também devessem ser considerados para esta possibilidade. Os demais gêneros descritos tiveram pelo menos um isolado termotolerante para a temperatura de 37°C.

O crescimento de fungos em temperaturas acima de 37°C é um importante fator de patogenicidade, pois demonstra a capacidade de sobrevivência no organismo humano. No entanto, para que seja caracterizada a patogenicidade de determinado fungo, outros aspectos devem ser considerados, como por exemplo, a atividade proteásica e fosfolipásica destes organismos, durante o desenvolvimento em meios de cultura específicos.

A produção de enzimas hidrolíticas como protease e fosfolipase teria importante papel no metabolismo fúngico, podendo estar envolvida na patogenicidade de infecções humanas e animais, causando danos às células hospedeiras⁶⁸. Um dos papéis fisiológicos das proteases

para os fungos na colonização de um hospedeiro mamífero, por exemplo, seria a degradação das barreiras da pele e mucosa, além do ataque às células de defesa, como linfócitos e macrófagos⁶⁹.

De uma maneira geral, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Curvularia* e *Fusarium* estão entre os gêneros frequentemente associados a enfermidades humanas, como complicações respiratórias ou a alergias⁴³.

Funcionários e demais frequentadores do Museu, de acordo com a sua susceptibilidade imunológica, podem vir a desenvolver algum tipo de enfermidade, devido ao contato com os propágulos destes fungos presentes no ar. Isto leva a um risco maior para aqueles funcionários que tenham que lidar diretamente com as múmias, manuseando-as, pois podem dispersar os propágulos presentes nos corpos, inalando-os mais facilmente, caso não usem equipamentos de proteção básicos.

A contaminação por fungos dos indivíduos durante o manuseio de múmias pode ocorrer devido ao contato constante com as peças, muitas vezes associado ao não uso de equipamentos de proteção, como luvas e máscaras, por exemplo, que são imprescindíveis, tanto para não haver contaminação das peças, quanto para os indivíduos não se contaminarem.

A maioria dos casos de contaminação por fungos, com o conseqüente adoecimento de indivíduos que realizaram trabalhos com múmias egípcias, como as do presente estudo, pode ter ocorrido durante a manipulação das peças sem o uso de tais equipamentos. Historicamente, muitos destes casos acabaram sendo relatados como a popularmente conhecida “maldição da múmia”, sendo posteriormente descoberta a verdadeira causa de alguns dos acometimentos dos indivíduos afetados, sendo devido à inalação de propágulos do gênero *Aspergillus*, descrito neste estudo, assim como *Histoplasma*.

Embora a presença de fungos do gênero *Histoplasma* em materiais expostos e/ou armazenados represente um importante problema de saúde pública, não foi avaliada a sua presença nas múmias do presente estudo, principalmente porque estes fungos necessitam de um período mais longo para o seu desenvolvimento, sendo necessária uma metodologia específica para o seu isolamento.

O isolamento de fungos com potencial patogênico ao homem, no presente estudo, indica que os ambientes de exposição das múmias analisadas podem representar riscos para a saúde dos seus frequentadores. No entanto, como não foram considerados os dados

quantitativos da presença de UFC's observadas nas amostras após o cultivo, não foi possível avaliar qual dos ambientes de exposição estaria mais saturado de propágulos fúngicos, o que poderia indicar qual destes representaria maior risco de contaminação. Conforme os parâmetros da ANVISA, o número máximo permitido nos ambientes é de 750 UFC's fúngicas, por metro cúbico. Acima destes valores o ambiente torna-se extremamente prejudicial à saúde dos seus frequentadores.

Comparando-se as amostras ambientais passiva e ativa da sala de exposição coletadas durante o trabalho com a múmia de lactente, notou-se uma abundância maior de UFC's na coleta passiva do que na coleta ativa após o cultivo. Apesar disso, ambas as amostras foram coletadas no mesmo ambiente. No entanto, a proximidade da placa da coleta passiva com o corpo mumificado que estava sendo manipulado, poderia ter aumentado a dispersão de propágulos existentes sobre a múmia que teriam decantado sobre a placa. Desta forma, os resultados da coleta passiva talvez representem dados enviesados do ponto de vista quantitativo, ainda que não haja diferenças expressivas do ponto de vista dos fungos descritos.

Neste caso, nem todos os fungos isolados a partir deste tipo de amostragem poderiam ser representativos do ambiente. Isto poderia implicar também numa eventual análise dos riscos oferecidos pela exposição dos indivíduos ao ambiente em que a múmia se encontra.

Embora possam existir dados enviesados com relação à coleta passiva da múmia de lactente, e a quantidade de UFC's presentes nas placas da amostragem de ambas as múmias não tenha sido contabilizada, o fato de terem sido isolados fungos já descritos na literatura por apresentarem potencial patogênico ao homem pode representar riscos para a saúde das pessoas presentes no ambiente do museu.

7. CONCLUSÕES

- Corpos mumificados podem ser reservatórios de propágulos fúngicos e também ambientes favoráveis para o desenvolvimento destes microrganismos, caso haja condições favoráveis.
- A contaminação fúngica dos corpos é devida, provavelmente, à exposição destes ao ar do ambiente de exposição, já que foram descritos fungos comuns das amostras ambientais também nas corporais. No entanto, nem todos os gêneros descritos, isolados das amostras ambientais foram isolados, igualmente, de amostras corporais. Isto pode ser explicado por fatores relacionados ao isolamento das cepas ou por mudanças dos ambientes de exposição de ambas as múmias, ocorridas com o tempo, que podem ter exposto os corpos a uma quantidade e variedade maior de fungos, comuns no ambiente na ocasião.
- A manutenção da múmia do sacerdote Hori em cápsula com atmosfera anóxica inibiu a proliferação de fungos na peça, embora tenha sido observado indício de desenvolvimento fúngico na bandagem, antes da retirada da cápsula, o que indica que a atmosfera dentro da mesma pode ter sido alterada com o seu esvaziamento e o passar do tempo.
- Os fungos isolados da múmia Hori podem ser provenientes de deposições antigas, anteriores a manutenção da múmia em cápsula, já que alguns dos gêneros descritos foram semelhantes aos isolados por Wanke (2003) nas amostras coletadas do corpo anos antes do isolamento da múmia na cápsula.
- Os fungos isolados neste estudo, que foram termotolerantes para o crescimento em 37°C, podem ser considerados potencialmente patogênicos. Pois, além de se desenvolverem em temperatura de 37°C, também são descritos na literatura em associação a variadas enfermidades causadas ao homem. No entanto, outros fatores devem ser avaliados para confirmar sua patogenicidade.

8. RECOMENDAÇÕES

- Maior cuidado na manipulação das múmias estudadas, com o uso de equipamentos de proteção individual para os indivíduos encarregados de lidar com as mesmas, principalmente por conta da presença de propágulos fúngicos.
- Emprego de placas alertando aos visitantes, principalmente àqueles imuno-comprometidos, sobre os riscos de adentrarem em locais onde há presença de propágulos fúngicos no ar, devido a maior suscetibilidade deste grupo em desenvolver enfermidades.
- Cuidados na manipulação das demais múmias da coleção, em função do isolamento de fungos do ar da sala de exposição, cujos propágulos podem também ter se depositado sobre as peças.
- Manutenção regular dos ambientes de exposição das múmias, visando inibir ou minimizar a exposição dos corpos ao ar da sala de exposição, devido a esta ser a fonte mais provável da contaminação fúngica.
- Uso de aparelhagem e equipamentos específicos no museu para que sejam mantidas as condições ambientais adequadas para o armazenamento e exposição das múmias, principalmente aquelas relacionadas à temperatura e umidade do ar, e que possibilitem também avaliar a concentração de fungos no ambiente, buscando inibir de todas as formas possíveis os riscos de biodeterioração das peças.
- Inibir que pequenos animais, como mamíferos e insetos possam penetrar nos ambientes de exposição das múmias, uma vez que estes podem ser carregadores de propágulos fúngicos, além de também poderem provocar biodeterioração.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Backes LTH, Naumann VLD, Calil LN. Isolamento de fungos anemófilos em biblioteca e prevalência de alergias respiratórias. *Revista Panamericana de Infectología* 2011; 13 (3): 19-25.
2. Valentín N. Microbial contamination in archives and museums: Health hazard and preventive strategies using air ventilation systems. The Getty Conservation Institute; 2007. p. 1-26.
3. López-Martínez R, Hernández-Hernández F, Millán-Chiu BE, Manzano-Gayosso P, Méndez-Tovar LJ. Effectiveness of imazalil to control the effect of fungal deterioration on mummies at the Mexico City Museum 'El Carmen (article in Spanish). *Revista Iberoamericana de Micología* 2007; 24: 283-288.
4. Lima e Silva FHA. Segurança e saúde do profissional em conservação. In: Granato M, Santos CP, Rocha CRA. *Conservação de Acervos. Museu de Astronomia e Ciências Afins. MAST Colloquia*. Rio de Janeiro: MAST; 2007. p. 165. v. 9.
5. Valentín N. Análisis y control del biodeterioro. A las plagas les gustan las momias. In: *Momias. Manual de buenas prácticas para su preservación*. IPCE. Ministerio de Educación, Cultura y Deporte; 2012. p. 99-131.
6. Ferreira JC, Dantas RMMC, Trucco RE. - In memoriam: José Amilton Santana de Mello; Claudia Regina Nunes. A Secagem da Múmia de Hori do Museu Nacional da Quinta da Boa Vista. In: *Anais do IX Congresso ABRACOR*. Bahia; 1998. p. 22-27.
7. Maekawa S, Elert K. *The Use of Oxygen-Free Environments in the Control of Museum Insect Pests*. Los Angeles: Getty Conservation Institute; 2003. 157 p.
8. Aufderheide AC. Mechanisms of mummification. In: Aufderheide AC. *The scientific study of mummies*; 2003. p. 41-71.
9. Cockburn A, Cockburn E, Reyman A. *Mummies, Disease & Ancient Cultures*. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1998. 428 p.
10. César MB. *O Escaravelho-Coração nas Práticas e Rituais Funerários do Antigo Egito [Dissertação de Mestrado em Arqueologia]*. Rio de Janeiro: Departamento de Antropologia, Museu Nacional, UFRJ; 2008.

11. Babraj K, Symanska H. Mummy. Results of Interdisciplinary Examination of the Egyptian Mummy of Aset-iri-khet-es from the Archaeological Museum in Cracow. Cracow: Polish Academy of Arts and Sciences; 2001. 239 p.
12. Souza SMFM. Conhecendo as múmias da coleção egípcia do Museu Nacional a partir de imagens tomográficas. In: Memória & Festa. VI Congresso da SBEC. XV Ciclo de debates em história antiga; 2005. p. 134-140.
13. Ikram S, Dodson A. The Mummy in ancient Egypt – Equipping the Dead for Eternity. London: Thames & Hudson; 1998. 352 p.
14. Kitchen KA, Beltrão MC. Catalogue of the Egyptian collection in the Nacional Museum. Warminster: Aris & Phillips Ltda; 1990. 304 p.
15. Morris N, Cappon M. Comment on vivait en Egypte. Paris, Ed Gründ; 2001. 46 p.
16. Lace WW. The curse of king Tut (The mysterious & Unknown). Reference Point Press, Hardcover; 2007. 104 p.
17. Bodenhoff J, Geertinger P, Prause J. Isolation of *Sporothrix fungorum* from a 500-year-old mummy found in Greenland. *Acta pathologica et microbiologica scandinavica - Section B – Microbiology* 1979; 87B(3): 201-3.
18. Rojo-Pérez F. Riesgos ocupacionales por manejo de restos momificados [Tesis de Licenciatura en Antropología Física]. Escuela Nacional del Antropología e Historia, México, UNAM; 1998.
19. Caycho KLS, Parian RMS, Huamantupa CAV. Micoflora en muros, tejidos y momias del Museo Regional Adolfo Bermúdez Jenkins de Ica. Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica/ Facultad de Ciencias/ Escuela Academico Profesional de Biología; 2010. <https://pt.scribd.com/doc/61237920/Micoflora-en-Museo-100> (acessado em 09/11/2014).
20. Abdel-Kareem O. Monitoring, controlling and prevention of the fungal deterioration of textile artifacts in the Museum of Jordanian Heritage. *Mediterranean Archaeology and Archaeometry* 2010b; 10 (2): 85-96.
21. Valentín N. El biodeterioro de materiales organicos. Instituto del patrimonio histórico español. Conferencia basada en la publicación "El biodeterioro de materiales organicos". Nieves Valentín y Rafael Garcia. Ed. Arbor; 2005. p. 1-22.

22. Unis G, Oliveira FM, Severo LC. Histoplasmosse Disseminada no Rio Grande do Sul. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2004; 37: 463-468.
23. Webster J, Weber RWS. *Introduction to fungi*. 3rd edition. New York: Cambridge University Press; 2011. 841 p.
24. Hueck HJ. The Biodeterioration of materials as a part of hylobiology. *Material und organismen* 1965; 1: 5-35.
25. Callol MV. *Biodeterioração do patrimônio histórico documental: alternativas para eliminação e controle*. Rio de Janeiro: Museu de Astronomia e Ciências Afins; Fundação Casa de Rui Barbosa; 2013. 139 p.
26. Gómez-Alarcón G, Cilleros B, Flores M, Lorenzo J. Microbial communities and alteration processes in monuments at Alcalá de Henares, Spain. *The Science of the Total Environment* 1995b; 167: 231–239.
27. Rajendran R, Prasad NA. Study on the indoor and outdoor microflora associated with the biodeterioration of mural paintings at Sekharaipuram Vishnu temple, Adakkaputhur, Palakkad, Kerala, India. *International Journal of Environmental Sciences and Research* 2012; 1 (4): 104-108.
28. Araya A, Shah AR, Sadasivan S. Indoor aeromycoflora of Baroda museum and deterioration of Egyptian mummy. *Current science* 2001; 81 (7): 793-799.
29. Abdel-Kareem O. Fungal deterioration of historical textiles and approaches for their technical paper control in Egypt. *e-Preservation Science* 2010a; 7: 40-47.
30. Elnaggar A, Sahab A, Ismail S, Mahgoub G, Abdelhady M. Microbial Study of Egyptian Mummies: an Assessment of Enzyme Activity, Fungicides and Some Mummification Materials for the Inhibition of Microbial Deterioration. *E-conservation magazine* 2010; 16: 39-49.
31. Güths S, Carvalho CSR. *Conservação Preventiva: Ambientes Próprios Para Coleções*. In: Granato M, Santos CP, Rocha CRA. *Conservação de acervos*. Museu de Astronomia e Ciências Afins. MAST Colloquia. Rio de Janeiro: MAST; 2007. 25 p. v. 9.
32. Kirk PM, Cannon, PF, David JC, Stalpers JA. *Dictionary of the Fungi*. 9th ed. Wallingford: CAB International, 2001. 655 p.

33. Hibbett DS, Binder M, Bischoff JF, Blackwell M, Cannon PF, Eriksson OE, Huhndorf S, James T, Kirk PM, Lücking R, Lumbsch HT, Lutzoni F, Matheny PB, McLaughlin DJ, Powell MJ, Redhead S, Schoch CL, Spatafora JW, Stalpers JA, Vilgalys R, Aime MC, Aptroot A, Bauer R, Begerow D, Benny GL, Castlebury LA, Crous PW, Dai Y, Gams W, Geiser DM. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research* 2007; 111: 509-547.
34. Galletti SR. Introdução a Microscopia Eletrônica. São Paulo: Biológico 2003; 65 (1/2): 33-35.
35. Mio LLM, Novaes QS, Alves E. Metodologia de preparação de amostras de ferrugem para estudos morfológicos de urediniósporos por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura. *Botucatu: Summa Phytopathol* 2006; 32 (3): 267-273.
36. Kirk PM, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA. *Dictionary of the Fungi*. 10th ed. Wallingford: CAB International; 2008. 784 p.
37. Deacon J. *Fungal Biology*. 4 th ed. Cambridge, Massachusetts: Blackwell Publishers; 2006. 371 p.
38. Hawksworth DL. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research* 2001; 105 (12): 1422-1432.
39. Harris SD. Branching of fungal hyphae: regulation, mechanisms and comparison with other branching systems. *Mycologia* 2008; 100 (6): 823–832.
40. Guerreiro RT, Silveira RMB. *Glossário Ilustrado de Fungos: termos e conceitos aplicados à micologia*. 2.ed. Editora Universidade/UFRGS; 2003. 102 p.
41. Esposito E, Azevedo JL. *Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia*. Caxias do Sul, RS: Ed. Educ; 2004. 510 p.
42. Wilson RA, Talbot NJ. Fungal physiology - a future perspective. *Microbiology* 2009; 155 (Pt 12): 3810-3815.
43. Kurup VP, Shen HD, Banerjee B. Respiratory fungal allergy. *Microbes Infect* 2000; 2: 1101-1110.

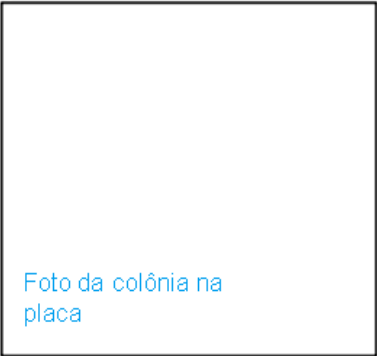

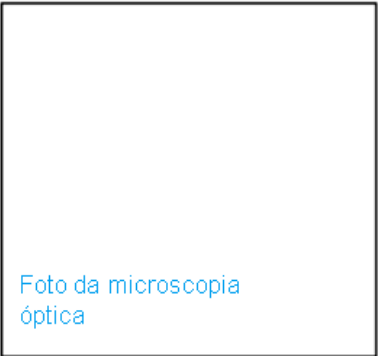

44. Heitman J. Sexual reproduction and the evolution review of microbial pathogens. *Current Biology* 2006; 16: 711-725.
45. Kendrick B. The Fifth Kingdom [enciclopédia online]. Mycologue Publications; 2011. <http://www.mycolog.com/fifhtoc.html>. (acessado em 09/nov/2014).
46. Feofilova, E.P. Deceleration of vital activity as a universal biochemical mechanism ensuring adaptation of microorganisms to stress factors: A review. *Appl Biochem Microbiol* 2003; 39: 1-18.
47. Brown GD, Denning DW., Gow NAR, Levitz SM, Netea MG., White TC. Hidden Killers: Human Fungal Infections. *Science Translational Medicine* 2012; 4 (165): 1-9.
48. Fisher MC, Henk DA, Briggs CJ, Brownstein JS, Madoff LC, McCraw SL, Gurr SJ. Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature* 2012; 484: 186-194.
49. World Health Organization. WHO Guidelines for indoor air quality: dampness and mold. Denmark: WHO regional office for Europe; 2009.
50. _____. WHO Guidelines for indoor air quality: Selected pollutants. Denmark: WHO regional office for Europe; 2010.
51. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RE nº 9 de 16 de janeiro de 2003. http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d094d3004e5f8dee981ddcd762e8a5ec/Resolucao_RE_n_09.pdf?MOD=AJPERES (acessado em 09/11/2014).
52. Schirmer WN, Pian LB, Szymanski MSE, Gauer MA. A poluição do ar em ambientes internos e a síndrome dos edifícios doentes. *Ciência & Saúde Coletiva* 2011; 16 (8): 3583-3590.
53. Jorge S. Aplicação da Química Analítica no Auxílio à Datação da Coleção de Múmias Egípcias do Museu Nacional da UFRJ [Dissertação de mestrado]. Rio de Janeiro: Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ; 2005.
54. Leite MAB, Barcellos MTC, Baumann T. A história, as técnicas e a conservação de testemunhos históricos. In: 1º Congresso de História das Ciências e das Técnicas e Epistemologia – UFRJ / HCTE - 22 e 23 de setembro de 2008. <http://www.hcte.ufrj.br/downloads/sh/sh1/Artigos/41.pdf> (acessado em 09/11/2014).

55. Maekawa S, Preusser FD, Lambert FL. An hermetically sealed display and storage case for sensitive organic objects in inert atmospheres. In: *Biodeterioration of Cultural Property 2: Proceedings of the 2nd International Conference on Biodeterioration of Cultural Property*. Yokohama: International Congress of Biodeterioration of Cultural Properties; 1993. p. 374-85.
56. Maekawa, S. *Oxygen-Free Museum Cases*. Los Angeles: The Getty Conservation Institute; 1998. 71 p.
57. Maekawa S. Las salas de exposición y almacenes para restos momificados. Vitruvianas. Análisis de volátiles, ¿ por qué huelen las momias? In: *Momias. Manual de buenas prácticas para su preservación*. IPCE. Ministerio de Educación, Cultura y Deporte; 2012. p. 133-145.
58. Souza SMFM, Kuroki LR, Brancaglioni Junior A, Lima TA. The body seems perfect, the spirit lives forever: The Egyptian baby in the National Museum, Rio de Janeiro, Brazil. In: *Mummies and Science World Mummies Research*; 2008. p. 555-578.
59. Consejo Internacional de Museos - ICOM. Código de Deontología del ICOM para los Museos; 2013. http://icom.museum/fileadmin/user_upload/pdf/Codes/code_ethics2013_es.pdf (accesado em 09/nov/2014).
60. Pasquarella C, Pitzurra O, Savino A. The Index of Microbial Air Contamination. *Journal of Hospital Infection* 2000; 46: 241-256.
61. Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Detecção e identificação dos fungos de importância médica. In: *Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde*. Brasília: Ministério da Saúde; 2004. 381 p.
62. Kern ME, Blevins KS. *Micologia médica – Texto e Atlas*. 2.ed. São Paulo: Editorial Premier; 1999. 256 p.
63. Klich MA, Pitt JI. *A laboratory guide to the common Aspergillus species and their 20 teleomorphs*. Australia: CSIRO - Division of Food Processing; 2002. 116 p.
64. Kreger-van Rij NJW (Ed). *The Yeasts. A Taxonomic Study*. 3rd Edition. Amsterdam: Elsevier Publishers; 1984. 1082 p.

65. Sahab AF, Ismail SA, Darwish SS. Conservation study of benlate fungicide and its effect on cellulases and β -glucosidases of *Fusarium oxysporum* isolated from old documents. World Journal of Agricultural Sciences 2007; 3(6): 741-746.
66. Flückiger B, Koller T, Moon C. Comparison of airborne spore concentrations and fungal allergen content. Aerobiologia 2000; 16: 393-396.
67. Erkara I, Asan A, Yilmaz V, Pehlivan S, Okten S. Airborne Alternaria and Cladosporium species and relationships with meteorological conditions in Eskisehir City, Turkey. Environ Monit Assess 2008; 144: 31-4.
68. Lima AN, Gomes B, Brito AL, Oliveira R, Magalhães OMC, Souza-Motta CM. Diagnóstico laboratorial e fatores de patogenicidade de fungo isolado naturalmente de lhamas (*Lama glama* - Linnaeus 1758) do Parque Zoológico de Dois Irmãos, Recife-PE. Acta Veterinaria Brasilica 2012; 6 (2):147-150.
69. Hube B. Exocellular proteases of human pathogenic fungi. Contributions to Microbiology 2000; 5:126-137.
70. Balout L, Roubet C (Eds.). Échantillons prélevés sur et sous Ramsés II; 1976-1977. In: La momie de Ramsés II: Contribution Scientifique à l'Égyptologie. Paris: Édition Recherche sur les Civilizations/ Muséum National d'Histoire Naturelle/ Musée de l'Homme; 1985. p. 60-63.

ANEXOS

Anexo 1. Modelo das fichas de descrição individual das cepas isoladas.

FICHA DE DESCRIÇÃO DAS CEPAS		
Nome	Data de isolamento	Origem Ambiental / Corporal
Descrição Morfológica Macroscópica Filamentosa / Leveduriforme		Nome Taxonômico Gênero identificado
Isolamento em Sabouraud		
Verso		Reverso
 <p>Foto da colônia na placa</p>		
Coloração: Aspecto: Bordos: Pigmento difuso no meio:		Coloração: Aspecto: .
Microscopia Óptica_ cultivado e corado com azul de lactofenol. (40x)		
 <p>Foto da microscopia óptica</p>		
Observações:		

Anexo 2. Resultados da identificação das cepas leveduriformes pelo método automatizado Vitek®2.

Anexo 2.1. Resultado referente à cepa M1b.

Cliente bioMérieux: **Relatório do Laboratório** Impresso a 5/Fev/2014 14:42 GMT-03:00
 Nº do Sistema: Impresso por: labsuper
 Nome do Doente: ID do Doente:
 Grupo de Isolados: M1B-1
 Bionúmero: 6712365747737531
 Microrganismo Seleccionado: Low Discrimination

Comentários:	

Informações da Identificação	Carta:	YST	Nº de Lote:	243283310	Data de Validade:	16/Set/2014 12:00 GMT-03:00
	Concluído:	5/Fev/2014 06:23 GMT-03:00	Estado:	Final	Hora da Análise:	18,00 Horas
Microrganismo Seleccionado	Low Discrimination					
	Bionúmero:	6712365747737531	Confiança:	Baixa Discriminação		
Microrganismo FRS						
Microorganismos de Análise e Testes a Separar:						
Low Discrimination Organism						
Stephanoascus ciferrii UREASE(0),						
Cryptococcus laurentii UREASE(100),						
Mensagens da Análise:						
Contradizem o(s) Perfi(l)(s) Biológico(s) Típico(s)						
Stephanoascus ciferrii IRHAa(95),LACa(11),XLTa(99),dMLZa(11),NO3a(19),						
Cryptococcus laurentii ISBEa(19),IMLTa(19),IRHAa(91),GENa(99),dCELa(81),NO3a(9),						

Detalhes Bioquímicos																	
3	LysA	-	4	IMLTa	+	5	LeuA	+	7	ARG	+	10	ERYa	+	12	GLYLa	(+)
13	TyrA	+	14	BNAG	-	15	ARBa	-	18	AMYa	-	19	dGALa	+	20	GENa	-
21	dGLUa	+	23	LACa	+	24	MAdGa	-	26	dCELa	-	27	GGT	+	28	dMALa	+
29	dRAFa	+	30	NAGA1	-	32	dMNEa	+	33	dMELa	+	34	dMLZa	+	38	ISBEa	+
39	IRHAa	-	40	XLTa	-	42	dSORa	+	44	SACa	+	45	URE	+	46	AGLU	+
47	dTURa	+	48	dTREa	+	49	NO3a	+	51	IARa	+	52	dGATa	+	53	ESC	-
54	IGLTa	+	55	dXYLa	+	56	LATa	+	58	ACEa	+	59	CITa	(-)	60	GRTas	+
61	IPROa	+	62	2KGa	+	63	NAGa	(-)	64	dGNTa	+						

Versão do VITEK 2 Systems instalada: 05.04
 Norma de Interpretação CMI:
 Nome dos Conjuntos de Parâmetros AES:

Norma de Interpretação Terapêutica:
 Último Parâmetro AES Modificado:

Anexo 2.2. Resultado referente à cepa M2b.

Cliente bioMérieux:
Nº do Sistema:

Relatório do Laboratório

Impresso a 5/Fev/2014 14:41 GMT-03:00
Impresso por: labsuper

Nome do Doente:
Grupo de Isolados: M2B-1

ID do Doente:

Biorúmero: 6712765747537771

Microrganismo Seleccionado: *Cryptococcus laurentii*

Comentários:	

Informações da Identificação	Carta: YST	Nº de Lote: 243283310	Data de Validade: 16/Set/2014 12:00 GMT-03:00
	Concluído: 5/Fev/2014 06:23 GMT-03:00	Estado: Final	Hora da Análise: 18,00 Horas
Microrganismo Seleccionado	87% Probabilidade <i>Cryptococcus laurentii</i>		Confiança: Identificação aceitável
Microrganismo FRS	Bionúmero: 6712765747537771		
Microrganismos de Análise e Testes a Separar:			
Mensagens da Análise:			
Contradizem o(s) Perfi(l)(s) Biológico(s) Típico(s) <i>Cryptococcus laurentii</i> ISBEa(19),IMLTa(19),IRHAa(91),GENa(99),dCELa(81),NO3a(9),			

Detalhes Bioquímicos																	
3	LysA	-	4	IMLTa	+	5	LeuA	+	7	ARG	+	10	ERYa	+	12	GLYLa	(+)
13	TyrA	+	14	BNAG	-	15	ARBa	-	18	AMYa	-	19	dGALa	+	20	GENa	-
21	dGLUa	+	23	LACa	+	24	MAdGa	+	26	dCELa	-	27	GGT	+	28	dMALa	+
29	dRAFa	+	30	NAGA1	-	32	dMNEa	+	33	dMELa	+	34	dMLZa	+	38	ISBEa	+
39	IRHAa	-	40	XLTa	-	42	dSORa	+	44	SACa	+	45	URE	+	46	AGLU	+
47	dTURa	+	48	dTREa	-	49	NO3a	+	51	IARa	+	52	dGATa	+	53	ESC	-
54	IGLTa	+	55	dXYLa	+	56	LATa	+	58	ACEa	+	59	CITa	(+)	60	GRTas	+
61	IPROa	+	62	2KGa	+	63	NAGa	+	64	dGNTa	+						

Versão do VITEK 2 Systems instalada: 05.04
Norma de Interpretação CMI:
Nome dos Conjuntos de Parâmetros AES:

Norma de Interpretação Terapêutica:
Último Parâmetro AES Modificado:

Anexo 2.3. Resultado referente à cepa M4b.

Cliente bioMerieux:

Relatório do Laboratório

Impresso a 5/Fev/2014 14:38 GMT-03:00

Nº do Sistema:

Impresso por: labsuper

Nome do Doente:

ID do Doente:

Grupo de Isolados: M4B-1

Bionúmero: 6712365747737571

Microorganismo Seleccionado: Low Discrimination

Comentários:	

Informações da Identificação	Carta: YST	Nº de Lote: 243283310	Data de Validade: 16/Set/2014 12:00 GMT-03:00
	Concluído: 5/Fev/2014 06:37 GMT-03:00	Estado: Final	Hora da Análise: 18,25 Horas
Microorganismo Seleccionado	Low Discrimination		
	Bionúmero: 6712365747737571	Confiança: Baixa Discriminação	
Microorganismo FRS:			
Microorganismos de Análise e Testes a Separar:			
Low Discrimination Organism			
Stephanoascus ciferrii UREASE(0),			
Cryptococcus laurentii UREASE(100),			
Mensagens da Análise:			
Contradizem o(s) Perfí(l)(s) Biológico(s) Típico(s)			
Stephanoascus ciferrii IRHAa(95),LACa(11),XLTa(99),dMLZa(11),NO3a(19),			
Cryptococcus laurentii ISBEa(19),IMLTa(19),IRHAa(91),GENa(99),dCELa(81),NO3a(9),			

Detalhes Bioquímicos																	
3	LysA	-	4	IMLTa	+	5	LeuA	+	7	ARG	+	10	ERYa	+	12	GLYLa	+
13	TyrA	+	14	BNAG	-	15	ARBa	-	18	AMYa	-	19	dGALa	+	20	GENa	-
21	dGLUa	+	23	LACa	+	24	MAdGa	-	26	dCELa	-	27	GGT	+	28	dMALa	+
29	dRAFa	+	30	NAGA1	-	32	dMNEa	+	33	dMELa	+	34	dMLZa	+	38	ISBEa	+
39	IRHAa	-	40	XLTa	-	42	dSORa	+	44	SACa	+	45	URE	+	46	AGLU	+
47	dTURa	+	48	dTREa	+	49	NO3a	+	51	IARaA	+	52	dGATa	+	53	ESC	-
54	IGLTa	+	55	dXYLa	+	56	LATa	+	58	ACEa	+	59	CITa	-	60	GRTas	+
61	IPROa	+	62	2KGa	+	63	NAGa	+	64	dGNTa	+						

Versão do VITEK 2 Systems instalada: 05.04

Norma de Interpretação CMI:

Nome dos Conjuntos de Parâmetros AES:

Norma de Interpretação Terapêutica:

Último Parâmetro AES Modificado:

Anexo 2.4. Resultado referente à cepa M5b.

Cliente bioMerieux:

Relatório do Laboratório

Impresso a 5/Fev/2014 14:37 GMT-03:00

Nº do Sistema:

Impresso por: labsuper

Nome do Doente:

ID do Doente:

Grupo de Isolados: M5B-1

Bionúmero: 6312765343737531

Microorganismo Seleccionado: Unidentified Organism

Comentários:	

Informações da Identificação	Carta: YST	Nº de Lote: 243283310	Data de Validade: 16/Set/2014 12:00 GMT-03:00
	Concluído: 5/Fev/2014 06:38 GMT-03:00	Estado: Final	Hora da Análise: 18,25 Horas
Microorganismo Seleccionado	Unidentified Organism		
Microorganismo FRS	Bionúmero: 6312765343737531		
Microorganismos de Análise e Testes a Separar:			
Mensagens da Análise:			
Contradizem o(s) Perfí(l)s Biológico(s) Típico(s)			

Detalhes Bioquímicos																	
3	LysA	-	4	IMLTa	+	5	LeuA	+	7	ARG	+	10	ERYa	+	12	GLYLa	-
13	TyrA	+	14	BNAG	-	15	ARBa	-	18	AMYa	-	19	dGALa	+	20	GENa	-
21	dGLUa	+	23	LACa	+	24	MAdGa	(+)	26	dCELa	-	27	GGT	+	28	dMALa	+
29	dRAFa	+	30	NAGA1	-	32	dMNEa	+	33	dMELa	+	34	dMLZa	+	38	ISBEa	-
39	IRHAa	-	40	XLTa	-	42	dSORa	+	44	SACa	+	45	URE	+	46	AGLU	-
47	dTURa	+	48	dTREa	+	49	NO3a	+	51	IARAa	+	52	dGATa	+	53	ESC	-
54	IGLTa	+	55	dXYLa	+	56	LATa	+	58	ACEa	+	59	CITa	-	60	GRTas	+
61	IPROa	+	62	2KGa	+	63	NAGa	-	64	dGNTa	+						

Versão do VITEK 2 Systems instalada: 05.04

Norma de Interpretação CMI:

Nome dos Conjuntos de Parâmetros AES:

Norma de Interpretação Terapêutica:

Último Parâmetro AES Modificado:

Página 1 de 1

Anexo 2.5. Resultado referente à cepa M21b.

Cliente bioMerieux:
Nº do Sistema:

Relatório do Laboratório

Impresso a 5/Fev/2014 14:41 GMT-03:00
Impresso por: labsuper

Nome do Doente:
Grupo de Isolados: M21B-1

ID do Doente:

Bionúmero: 6116365747737771
Microrganismo Seleccionado: Cryptococcus laurentii

Comentários:	

Informações da Identificação	Carta: YST	Nº de Lote: 243283310	Data de Validade: 16/Set/2014 12:00 GMT-03:00
	Concluído: 5/Fev/2014 06:37 GMT-03:00	Estado: Final	Hora da Análise: 18,25 Horas
Microrganismo Seleccionado	90% Probabilidade Cryptococcus laurentii		
	Bionúmero: 6116365747737771	Confiança: Boa identificação	
Microrganismo FRS			
Microrganismos de Análise e Testes a Separar:			
Mensagens da Análise:			
Contradizem o(s) Perfi(l)(s) Biológico(s) Típico(s)			
Cryptococcus laurentii ISBEa(19),IRHAa(91),CITa(19),IMLTa(19),dCELa(81),NO3a(9),			

Detalhes Bioquímicos																	
3	LysA	-	4	IMLTa	+	5	LeuA	+	7	ARG	+	10	ERYa	(-)	12	GLYLa	(-)
13	TyrA	+	14	BNAG	-	15	ARBa	-	18	AMYa	-	19	dGALa	+	20	GENa	(+)
21	dGLUa	+	23	LACa	+	24	MAdGa	-	26	dCELa	-	27	GGT	+	28	dMALa	+
29	dRAFa	+	30	NAGA1	-	32	dMNEa	+	33	dMELa	+	34	dMLZa	+	38	ISBEa	+
39	IRHAa	-	40	XLTa	-	42	dSORa	+	44	SACa	+	45	URE	+	46	AGLU	+
47	dTURa	+	48	dTREa	+	49	NO3a	+	51	IARAa	+	52	dGATa	+	53	ESC	(-)
54	IGLTa	+	55	dXYLa	+	56	LATa	+	58	ACEa	+	59	CITa	+	60	GRTas	+
61	IPROa	+	62	2KGa	+	63	NAGa	+	64	dGNTa	+						

Versão do VITEK 2 Systems instalada: 05.04
Norma de Interpretação CMI:
Nome dos Conjuntos de Parâmetros AES:

Norma de Interpretação Terapêutica:
Último Parâmetro AES Modificado: