

**ESTUDO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA
DO AR DE AMBIENTES INTERNOS
CLIMATIZADOS**

ZILMA DAS GRAÇAS NUNES

Programa de Pós-graduação em Vigilância Sanitária
Instituto de Controle da Qualidade em Saúde
Fundação Oswaldo Cruz

Orientadores:

Prof. Sérgio Eduardo Longo Fracalanza

Prof^a. Paula Fernandes de Aguiar

Rio de Janeiro
2005

ESTUDO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO AR DE AMBIENTES
INTERNOS CLIMATIZADOS

Zilma das Graças Nunes

Tese submetida à Comissão Examinadora composta pelo corpo docente do Programa de Pós-graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz e por professores convidados de outras instituições, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor.

Aprovado:

Prof. _____ (UNI-RIO)
Agostinho Alves de Lima e Silva

Prof. _____ (FIOCRUZ)
Cláudio de Moraes Andrade

Prof. _____ (FIOCRUZ)
Keyla Belizia Marzochi

Prof. _____ (FIOCRUZ)
Claude André Solari

Prof. _____ (FIOCRUZ)
Marisa Zenaide Ribeiro Gomes

Prof. _____ (IOC - FIOCRUZ)
Leon Rabinovitch

Orientadora: _____ (UFRJ)
Paula Fernandes de Aguiar

Orientador: _____ (UFRJ)
Sérgio Eduardo Longo Fracalanza

Rio de Janeiro

2005

Nunes, Zilma das Graças

Estudo da Qualidade Microbiológica do Ar de Ambientes Internos Climatizados./ Zilma das Graças Nunes. Rio de Janeiro: INCQS / FIOCRUZ, 2005.

xx, 143, quadr, fig.

Dissertação em Vigilância Sanitária, Prog. Pós-graduação em Vigilância Sanitária / INCQS, 2005. Orientadores: Sérgio Eduardo Longo Fracalanza e Paula Fernandes de Aguiar.

1- Qualidade microbiológica do ar. 2. Amostradores de ar. 3. Isolamento de patógenos. 4. Avaliação por componentes principais. 5. Tipagem molecular.

I. Título

*Dedico este trabalho
à minha filha Lívia ...
por puro amor.*

Ó mundo invisível, nós o vemos
Ó mundo intangível, nós o tocamos
Ó mundo não identificável, nós o identificamos
Inapreensível, nós o agarramos
Francis Thompson (1859-1906)

*Existem armadilhas para as nossas vidas
em tudo o que comemos e bebemos.
O próprio ar que respiramos
está carregado de contágio.
Não podemos nem mesmo dormir
sem correr o risco de uma infecção.
Dr. Tobias Smollett, 1771.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Paulo Márcio de Mello pelo consentimento e apoio para que este trabalho se realizasse.

Aos meus orientadores Dr Sérgio Eduardo Longo Fracalanza e Dra Paula Fernandes de Aguiar pelos olhares sempre atentos, pelos conselhos sempre sensatos e também pela confiança, amizade e exemplo.

À Dra Marisa Zenaide Ribeiro Gomes pelo interesse e pela colaboração indispensável, disponibilizando informações técnicas essenciais ao bom andamento deste trabalho.

A toda a equipe de profissionais do hospital estudado neste trabalho, por todo auxílio prestado durante as coletas das amostras de ar.

À Dra Marise Dutra Asensi pela caracterização genotípica das amostras de bactérias isoladas do ar do ambiente hospitalar.

À Dra Marília Martins Nishikawa pela identificação dos fungos isolados do ar do ambiente hospitalar.

Aos colegas do Laboratório de Controle da Qualidade em Saúde (LABCON) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ, pelo auxílio prestado na fase de coleta das amostras de ar e, principalmente, pela amizade.

Ao Prof. Armando Alves Borges Neto e ao colega Marco Antônio Américo, do Laboratório de Coleção de Culturas, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, pelo convívio e pela colaboração nos trabalhos laboratoriais.

Aos meus examinadores Dr Cláudio de Moraes Andrade e Dr Claude André Solari, que contribuíram para este estudo com suas leituras detalhadas e sugestões enriquecedoras previamente à defesa da tese.

A todos os professores do curso de Doutorado em Vigilância Sanitária por terem contribuído para a minha formação profissional.

Aos amigos de todas as horas, Edite Rodrigues Santiago e Edmir Fernandes Ferreira, pelo carinho, pelo apoio profissional e emocional.

À coordenadora do curso, Maria Helena Simões Villas Bôas pela dedicação e pela atenção sempre carinhosa.

RESUMO

A determinação da qualidade microbiológica do ar climatizado de interiores e a sua influência no bem estar e na saúde dos indivíduos que freqüentam esses espaços é motivo de ampla discussão.

Nesse trabalho foi avaliado, inicialmente, o desempenho do amostrador de ar MAS-100 frente ao amostrador de Andersen de um estágio. Os resultados obtidos a partir de coletas efetuadas em um escritório apresentaram a mesma tendência.

Em seguida, os níveis de contaminação microbiana no ar em escritórios, hospitais, indústrias e shoppings da cidade do Rio de Janeiro foram verificados entre 1998 e 2002. A grande maioria dos 3060 pontos avaliados (94.3 a 99.4%) estava de acordo com a legislação vigente no país. Foi avaliada também a sazonalidade e a possível correlação entre a quantidade de microrganismos, a temperatura e a umidade do ar, através do uso da técnica de análise por componentes principais. A distribuição das amostras foi homogênea e, tanto a temperatura quanto a umidade, não foram parâmetros importantes para explicar o padrão de dispersão das amostras.

A avaliação microbiológica do ar de diferentes setores de um hospital público demonstrou contagens mais elevadas em momentos de atividade junto ao paciente ou de limpeza e, ainda, valores mais elevados de heterótrofos totais do que de bolores e leveduras, de um modo geral. Neste hospital foram encontradas também espécies patogênicas do gênero *Aspergillus*, como *A. fumigatus*, *A. flavus* e *A. terreus*.

Do mesmo modo, entre as bactérias isoladas encontraram-se cepas multirresistentes de patógenos como *S. marcescens*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*. A epidemiologia molecular estudada pela técnica de eletroforese de campo pulsado revelou um perfil genético indistinguível para algumas cepas de *S. marcescens* isoladas do ar e de material clínico, obtido de pacientes colonizados ou com infecção hospitalar, caracterizou as cepas de *P. aeruginosa*, de amostras de ar, como estreitamente relacionadas às de material clínico. Uma cepa de *S. aureus* isolada de amostra de ar mostrou-se também como estreitamente relacionada a uma cepa desta mesma espécie, isolada de paciente.

Assim, as análises microbiológicas do ar de interiores climatizados mostraram-se como um instrumento fundamental para controle microbiológico do ar destes locais, assim como para estudos de cunho epidemiológico.

ABSTRACT

Extensive discussion has focused on determining the microbiological air quality of acclimatized interiors and its influence on the health and well-being of individuals frequenting such places.

This study began by evaluating the performance of the MAS-100 air sampler compared to the one stage Andersen sampler and it was observed a similar trend for both instruments.

Microbial air contamination levels were measured in offices, hospitals, industries, and shopping centers in the city of Rio de Janeiro, Brazil, from 1998 to 2002. The vast majority of the 3,060 sites evaluated (94.3 to 99.4%) were in accordance with the prevailing Brazilian legislation. The seasonality and possible correlation between the quantity of airborne microorganisms were evaluated and the air temperature and humidity, using principal components analysis technique. It was observed that the samples distribution was homogeneous, and that temperature and humidity were not important parameters to explain the samples' dispersion pattern.

Microbiological air evaluation in different hospital departments showed higher levels during cleaning periods, and there were generally higher levels of heterotrophs than molds and yeasts.

There was found pathogenic species from genus *Aspergillus* like *A. fumigatus*, *A. flavus*, and *A. terreus*. Likewise, the bacteria isolated included multi-resistant strains of pathogens such as *S. marcescens*, *P. aeruginosa*, and *S. aureus*. The molecular epidemiology studied by pulsed field gel electrophoresis showed total similarity for genetic profiles of some *S. marcescens* strains isolated from air and clinical material obtained from colonized patients or patients with nosocomial infection, besides characterizing a *P. aeruginosa* strain from air sample as closely related to the clinical material one. A *S. aureus* strain isolated from an air sample proved to be closely related to one of the strains of this specie isolated from patient.

In this way, microbiological analyses of indoor air have proven to be a important instrument for microbiological air control, as well as for epidemiological studies.

SIGLAS E ABREVIATURAS

AC - agar cetrimide

ACGIH - “American Conference of Governmental Industrial Hygienists”

ACP - análise por componentes principais

AIHA - “American Industrial Hygiene Association”

Amb. - ambulatório

AMS - agar manitol salgado

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATCC - “American Typing Culture Collection”

Ber - berçário

BHI - infusão de cérebro e coração

BL - bolores e leveduras

BLac - β Lactamase

C Cir - centro cirúrgico

CEC - “Commission of the European Communities”

CM - clínica médica

CO - monóxido de carbono

CO₂ - dióxido de carbono

CP - componente principal

CTI - centro de terapia intensiva de adultos

CTI Ped - centro de terapia intensiva pediátrico

DNA - “desoxyribonucleic acid”

EDTA - “etilenodiaminotetracetic acid”

EPA - “Environmental Protection Agency”

ESP - solução de EDTA, lauril sulfato de sódio e proteinase K

Fig. - figura

Fiocruz - Fundação Oswaldo Cruz

g - grama

h - hora

HCl - ácido clorídrico

Hemod. - setor de hemodiálise

HEPA - “high-efficiency particulate air”

HT - heterótrofos totais

I - intermediário

I/E - relação entre o valor obtido no ambiente interno e o valor obtido no ambiente externo

INCQS - Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde

IOC - Instituto Oswaldo Cruz

L1 a L8 - leito 1 a leito 8

L - litro

LPS - lipopolissacarídeo

m - metro

M - molar

m³ - metro cúbico

min - minuto

mL - mililitro

mM - milimolar

µg - micrograma

µm - micrômetro(s)

NaCl - cloreto de sódio

NCCLS - "National Committee for Clinical Laboratory Standards"

ND - não detectado

NE - não especificado

nm - nanômetro

O/F - oxidação e fermentação

°C - grau Celsius

PCA - agar padrão para contagem

PFGE - "pulsed field gel electrophoresis"

pH - potencial de hidrogênio

PMOC - plano de operação, manutenção e controle dos sistemas de condicionamento de ar

Pó - poeira do duto do sistema de ar climatizado

ppm - parte por milhão

R - resistente

RCS - "Reuter Centrifugal Air Sampler"

RNA - “ribonucleic acid”

mRNA - “messenger ribonucleic acid”

s - segundo

S - sensível

SAS - “Surface Air System”

SmaI - designação dada à enzima de restrição

SpeI - designação dada à enzima de restrição

Su - surto

Sb - suabe

T - temperatura

TBE - solução tampão contendo Tris, EDTA e ácido bórico

TE - solução tampão de Tris-HCl e EDTA

TSA - agar tripticase soja

U - unidade

UC - unidade coronariana

UFC - unidades formadoras de colônias

UI - unidade intermediária

UI Ber - unidade intermediária do berçário

UI Em - unidade intermediária da emergência

UR - umidade relativa do ar

USOSHA - “United States Occupational Health and Safety Administration”

UTR - unidade de transplantes renais

V/cm - Volts por centímetro

↓ - valor baixo

↑ - valor elevado

INDICE DE QUADROS E TABELAS:

Quadro 1 - Correlação entre os estágios do amostrador de Andersen e as regiões do sistema respiratório humano	13
Quadro 2 - Parâmetros referenciais de qualidade do ar de interiores em ambientes artificialmente climatizados de uso público e coletivo (Brasil, 2003)	18
Quadro 3 - Parâmetros referenciais microbiológicos de qualidade do ar de interiores, em serviços de saúde, segundo os níveis de risco (Consulta Pública nº 109, de 11/12/2003)	19
Quadro 4 - Proposta de interpretação para as variações nos perfis dos fragmentos de DNA obtidos através de PFGE (Tenover et al.,1995).....	39
Quadro 5 - Exemplos de amostras segundo os padrões de distribuição nos gráficos de APC para os diferentes ambientes estudados (Figura 7: CP1 x CP2)	46
Quadro 6 - Espécies de fungos do gênero Aspergillus isoladas conforme o ponto de amostragem na unidade hospitalar em estudo	54
Quadro 7 - Características das culturas provenientes de material clínico	55
Quadro 8 - Locais de isolamento, coletas e perfil de sensibilidade a antimicrobianos das amostras de S. marcescens isoladas de amostras de pacientes e de ar	58
Quadro 9 - Locais de isolamento, coletas e perfis de sensibilidade a antimicrobianos das culturas de P. aeruginosa isoladas de amostras de pacientes e de ar	59

Quadro 10 - Locais de isolamento, coletas e perfis de sensibilidade a antimicrobianos das culturas de S. aureus isoladas de amostras de pacientes e de ar	60
Quadro 11 - Locais de isolamento, coletas e perfis de sensibilidade a antimicrobianos das culturas de estafilococos coagulase negativos isoladas de amostras de pacientes e de ar	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Comparação dos equipamentos de coleta de amostras de ar MAS-100, MAS-100 com vazão alterada e de Andersen, quanto à enumeração de heterótrofos totais (a) , e de bolores e leveduras (b)	40
Figura 2 - Comparação dos equipamentos de coleta de amostras de ar MAS-100 e de Andersen, quanto à enumeração de heterótrofos totais (a) e de bolores e leveduras (b)	41
Figura 3 - Frequência de distribuição de heterótrofos totais (a) e de bolores e leveduras (b) em amostras de ambientes de indústrias (classes de 100 UFC/m ³).....	42
Figura 4 - Frequência de distribuição de heterótrofos totais (a) e de bolores e leveduras (b) em amostras de ambientes de escritórios (classes de 100 UFC/m ³).....	42
Figura 5 - Frequência de distribuição de heterótrofos totais (a) e de bolores e leveduras (b) em ambientes de hospitais (classes de 100 UFC/m ³).....	43
Figura 6 - Frequência de distribuição de heterótrofos totais (a) e de bolores e leveduras (b) em ambientes de <i>shopping centers</i> (classes de 100 UFC/m ³)	43
Figura 7 - Gráficos de ACP para cada tipo de ambiente estudado (escritórios, indústrias, hospitais e <i>shopping centers</i>), em função das variáveis bolores e leveduras, heterótrofos totais, temperatura e umidade relativa.....	44/ 46
Figura 8 - Influência da temperatura e da umidade sobre as amostras 110 a 112 e 114 a 120, de ambientes hospitalares: (CP2 x CP3).....	47

Figura 9 - Médias mensais das contagens de heterótrofos totais e de bolores e de leveduras entre os anos de 1998-2000.....	48
Figura 10 - Percentual de amostras aprovadas, por tipo de ambiente, segundo a legislação vigente no Brasil.....	48
Figura 11 - Percentual de amostras aprovadas, por tipo de ambiente, caso o parâmetro adotado pela legislação vigente no Brasil fosse válido também para heterótrofos totais.....	49
Figura 12 - Freqüências de bolores e leveduras por ponto de amostragem nas amostras de ambientes hospitalares coletadas com o amostrador MAS-100.....	50
Figura 13 - Freqüências de bolores e leveduras por ponto de amostragem, excluindo-se o ponto 4 (3ª coleta), nas amostras coletadas de ambientes hospitalares com o amostrador MAS-100.....	50
Figura 14 - Freqüências de heterótrofos totais por ponto de amostragem, nas amostras coletadas de ambientes hospitalares com o amostrador MAS-100.....	51
Figura 15 - Freqüências de heterótrofos totais por ponto de amostragem, excluindo-se o ponto 6 (2ª coleta), nas amostras coletadas de ambientes hospitalares com o amostrador MAS-100	52
Figura 16 - Freqüências de heterótrofos totais por ponto de amostragem, nas amostras coletadas de ambientes hospitalares por exposição de placas.....	52
Figura 17 - Freqüências de bolores e leveduras por ponto de amostragem, nas amostras coletadas de ambientes hospitalares por exposição de placas.....	53

Figura 18 - Perfis de restrição (PFGE), utilizando DNA digerido por <i>SpeI</i> , detectados nas 15 amostras de <i>S. marcescens</i> isoladas de amostras de ar (A ₁ e B) e de pacientes (A ₂ e C).....	62
Figura 19 - Dendograma dos perfis de restrição (PFGE) encontrados nas 15 culturas de <i>Serratia marcescens</i> isoladas de amostras ar (A ₁) e de pacientes (A ₂ , B e C).....	62
Figura 20 - Dendograma dos perfis de restrição (PFGE) encontrados nas 15 culturas de <i>Serratia marcescens</i> isoladas de amostras ar (A ₁) e de pacientes (A ₂ , B e C).....	63
Figura 21 - Dendograma dos perfis de restrição (PFGE) encontrados nas 5 culturas de <i>P. aeruginosa</i> isoladas de amostras de ar e de pacientes.....	63
Figura 22 - Perfis de restrição (PFGE), utilizando DNA digerido por <i>SmaI</i> , detectados nas 15 amostras de <i>S. aureus</i> isoladas de amostras de ar (A) e de pacientes (B, C, D, E, F)	64
Figura 23 - Dendograma dos perfis de eletroforese (PFGE) encontrados nas 6 culturas de <i>S. aureus</i> isoladas de amostras de ar e de pacientes.....	64

SUMÁRIO

1 Introdução	1
1.1 Histórico	1
1.2 As Conseqüências da Má Qualidade do Ar Interno e a Amplitude do Problema	3
1.3 Os Contaminantes	5
1.4 O Controle da Qualidade do Ar Interno	8
1.5 Os Parâmetros Sugeridos e os Aspectos Legais no Brasil	15
1.6 Os Ambientes Especiais e o Ambiente Hospitalar	19
2 Objetivos	26
2.1 Objetivo Geral	26
2.2 Objetivos Específicos	26
3 Metodologia	28
3.1 Avaliação da Qualidade do Ar nos Ambientes Internos	28
3.1.1 Desenho do Estudo	28
3.1.2 Análises Microbiológicas Quantitativas	29
3.1.3 Determinação da Temperatura e da Umidade Relativa do Ar	30
3.2- Verificação do Desempenho dos Amostradores de Ar	30
3.2.1 Avaliação da Influência da Vazão no Desempenho do Amostrador de Ar MAS-100.....	30
3.2.2 Comparação do Desempenho dos Amostradores de Ar MAS-100 e de Andersen	30
3.3 Análise dos Dados Obtidos	31
3.4 Análises Microbiológicas Qualitativas Realizadas nos Ambientes Hospitalares.....	32
3.4.1 Hospital	32
3.4.2 Coleta das Amostras	33

3.4.2.1 De Ar	33
3.4.2.2 Das Amostras das Superfícies Durante o Surto no CTI	33
3.4.3 Coleta e Análise das Amostras de Pacientes	34
3.4.4 Análises Microbiológicas Qualitativas	34
3.4.4.1 Das Amostras de Ar	34
3.4.4.2 Das Amostras de Superfície Coletadas Durante o Surto no CTI	35
3.4.5 Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos	36
3.4.6 Tipagem Molecular	37
3.4.7 Pesquisa de Dados Acessórios	39
4 Resultados	40
5 Discussão	65
6 Conclusões	85
7 Referências Bibliográficas	87
8 Anexos	111
8.1 Anexo 1 - Resolução - RE nº 9, de 16 de janeiro de 2003	111
8.2 Anexo 2 - Consulta pública nº 109, de 11 de dezembro de 2003	125

1 INTRODUÇÃO

1.1 Histórico.

A origem dos problemas relacionados à qualidade do ar de ambientes internos remonta ao crescimento dos centros urbanos, com a construção de prédios cada vez mais elevados e a conseqüente necessidade de gerar condições favoráveis ao desempenho das atividades neles desenvolvidas (Menzies & Bourbeau, 1997; Jones, 1999).

O grande número de horas despendidas pelas pessoas nos ambientes internos (Fisk & Rosenfeld, 1997; Jones, 1999; Sundell, 2004) seguramente justifica a preocupação em criar um ambiente agradável, propício à execução de tarefas muitas vezes exaustivas. Assim, o avanço da tecnologia e o crescimento da indústria, em todas as suas áreas de atuação, propiciaram a automação dos edifícios, alguns hoje qualificados como “inteligentes”, tamanha a quantidade de situações, equipamentos, ou mesmo fatores ambientais automatizados.

O advento dos equipamentos de condicionamento de ar, neste sentido, foi um dos fatores que muito contribuíram para o bem estar humano. A climatização do ar de certo tem como objetivo a melhoria da qualidade de vida, "promovendo o conforto, a saúde e o bem estar dos usuários de prédios" (Hayes et al., 1995). Entretanto, tal sentença, que exprime o conceito de um ambiente interno saudável, na verdade não espelha, sequer de longe, a situação atual dos ambientes confinados. Apesar do benefício alcançado, a climatização trouxe consigo o isolamento do ar interno em relação ao ambiente exterior, promovendo o surgimento de prédios com janelas inoperantes, ou mesmo sem janelas, completamente lacrados, onde a entrada de ar externo era reduzida a níveis mínimos ou mesmo a zero (Spengler & Sexton, 1983; Hayes et al, 1995), além de sistemas de ventilação e condicionamento de ar cada vez mais complexos e elaborados, visando oferecer um clima agradável sem abrir mão da economia de energia (Pitzurra et al., 1997).

A crise de energia dos anos 70 tem sido apontada como o principal fator predisponente dos problemas relacionados à qualidade do ar (Spengler & Sexton,

1983; Hayes et al, 1995; Jones, 1998; Sekhar et al, 2003). A necessidade de economizar energia, que se traduz na economia de capital. Assim, as máquinas de condicionamento de ar trabalham menos e gastam menos energia. No entanto, cabe lembrar que sob tais circunstâncias, os poluentes gerados no ambiente interno não são diluídos por quantidades suficientes de ar externo nem levados para fora do prédio, o que torna sua concentração muito mais elevada no interior dos prédios do que no ambiente externo (Santos et al., 1992; Jones, 1999).

Tal situação tem deixado os ocupantes destes ambientes na total dependência dos serviços de engenharia de manutenção, não somente quanto ao conforto térmico, praticamente impossível de ser alcançado para a totalidade dos usuários, mas também com relação a questões de saúde destes usuários, sabidamente relacionadas à qualidade do ar respirado (Santos et al., 1992).

Neste contexto, há ainda alguns agravantes que devem ser lembrados. Com o passar dos anos, aumentou o número de fontes poluentes nestes ambientes, que podem ser facilmente exemplificadas pelos produtos de limpeza, pesticidas e materiais sintéticos usados na construção dos prédios e na decoração dos interiores (Gupta et al., 1982; Santos et al. 1992; Jones, 1999; Sundell, 2004). O número de pessoas por metro quadrado inicialmente previsto para ocupar estes edifícios nem sempre é respeitado, aumentando assim a carga microbiana advinda dos próprios usuários e a necessidade de introdução de ar externo para diluir os poluentes e contaminantes; as plantas baixas dos prédios muitas vezes são modificadas, compartimentando cada vez mais os espaços físicos com a finalidade de atender à demanda de locais de trabalho para novos ocupantes (Hayes et al., 1995; Siqueira & Dantas, 1999); ou seja, as alterações feitas em ambientes confinados normalmente não respeitam pontos de iluminação, fontes de energia elétrica e difusores de ar, gerando, por vezes, um bolsão de ar não circulante e que, portanto, não é renovado.

Muitas vezes, os agravantes citados estão presentes concomitantemente, promovendo alterações tão intensas no ambiente, que chegam a ser percebidas pelos sentidos humanos (Berg-Munch et al., 1986; Santos et al. 1992). Não raro, alguns ocupantes de determinados prédios experimentam sintomas os mais variados, atribuindo-os tão somente à qualidade do ar inalado. No entanto, a

investigação das causas de tais sintomas, por vezes, revela que o verdadeiro motivo dos efeitos somatizados, na verdade, é o estresse gerado pelos fatores inerentes ao próprio ambiente de trabalho, como por exemplo, a luminosidade inadequada, o excesso de ruídos, os fatores ergonômicos, questões relacionadas à segurança, fatores relativos ao convívio social ou ainda à sobrecarga de trabalho (Fisk & Rosenfeld, 1997; Siqueira & Dantas, 1999). Estes tipos de ocorrências, únicas em seu conjunto de causas e efeitos, tornam complexos os diagnósticos da qualidade do ar climatizado, principalmente nos casos em que as análises laboratoriais são, por si só, inconclusivas.

1.2 As Conseqüências da Má Qualidade do Ar Interno e a Amplitude do Problema.

A conseqüência mais importante da má qualidade do ar em ambientes climatizados seguramente diz respeito à saúde humana. Como é do conhecimento geral, diversas doenças adquiridas por via aérea têm sido associadas à qualidade do ar de ambientes confinados (Lebowitz, 1972; Riley, 1982; Samson, 1985; Sorenson et al., 1987; Wasserman, 1988; Al-Dagal & Fung, 1990; Miller, 1992; Menzies & Bourbeau, 1997).

O crescimento e a industrialização das cidades têm gerado o aumento da prevalência das reações de hipersensibilidade nos centros urbanos (Wahlstrom et al., 1989) ao longo dos últimos 30-40 anos (Lai et al., 1996; Omram & Russel, 1996). Nilsson et al. (2004) comentaram que “as razões para este fato não estão muito claras e, em virtude de estarem ocorrendo com muita rapidez, não podem ser explicadas por alterações genéticas nas populações”. Assim, parecem envolver fatores ambientais, incluindo a qualidade do ar de ambientes internos (Menzies & Bourbeau, 1997; Davies et al., 1998; Kimber, 1998).

Os problemas relativos à saúde humana trazem uma outra conseqüência ainda que indireta, mas extremamente relevante. O número crescente de casos envolvendo pessoas com problemas de saúde, provavelmente originados em seus ambientes de trabalho, tem gerado absenteísmo e, por conseguinte, a queda da produtividade (Teeters et al., 1995; Fisk & Rosenfeld, 1997; Wyon, 2004).

Muitos trabalhadores, no entanto, continuam a executar suas atividades mesmo apresentando sintomas e o efeito observado novamente é queda da produtividade (Morey et al., 1984; Jacobs, 1989; Santos et al., 1992; Menzies & Bourbeau, 1997; Lee & Chang, 1999; Lee & Chang, 2000).

Fisk & Rosenfeld (1997) discutiram minuciosamente sobre as questões econômicas decorrentes da qualidade do ar de interiores. Estes autores relataram que os gastos com o absenteísmo e com o tratamento das doenças respiratórias nos Estados Unidos representavam, em uma estimativa grosseira, um total de US\$ 64 bilhões por ano e que uma redução da ordem de 10 a 30% dos casos de doenças respiratórias corresponderia a uma economia de US\$ 6 a 19 bilhões. Deste modo, concluíram que o controle das variáveis envolvidas na qualidade do ar de ambientes climatizados é um ponto crítico para a redução de gastos com a saúde além do aumento da produtividade.

Hayes et al. (1995) comentaram sobre uma outra consequência da má qualidade do ar em ambientes internos: as questões trabalhistas. Em um litígio entre um funcionário e seu empregador nos Estados Unidos, no ano de 1992, o juiz afirmou que “um edifício é como um produto e qualquer um na cadeia de pessoas relacionadas com o arrendamento, projeto e construção de um prédio poderia ser responsável pelas injúrias sofridas pelos queixosos”.

Assim, movidos também pelas questões econômicas, muitos pesquisadores e órgãos ligados à saúde do trabalhador têm tido sua atenção voltada para o que se convencionou chamar de “Síndrome dos Edifícios Doentes”, expressão que reflete a pouca compreensão do que ocorre no interior dos prédios, onde as pessoas apresentam sintomas vagos, subjetivos e tão diversos que tornam impossível concluir sobre um diagnóstico clínico. A expressão, tão em voga atualmente, significa que o edifício apresenta contaminação em tal nível, que pelo menos 20% de seus ocupantes são freqüentemente afetados, desaparecendo seus sintomas normalmente quando estes se afastam do local de trabalho (Teeters et al., 1995; Menzies & Bourbeau, 1997; Jones, 1999). Tal síndrome, na verdade, parece envolver mais de uma causa, agente ou agravado à saúde dos indivíduos afetados, incluindo fatores psicossociais capazes de alterar as respostas individuais aos agentes contaminantes do ar (Fisk & Rosenfeld,

1997; Lahtinen, 1998). Tais fatores interagem produzindo uma mescla de sintomas e desconforto e, portanto, inviabilizando o diagnóstico (Finnegan et al., 1984; Baker, 1989; Collet & Sterling, 1990; Santos et al., 1992).

Obviamente, a detecção de todos estes tipos de eventos conseqüentes à qualidade deficiente do ar em ambientes confinados tem contribuído cada vez mais para levantar a questão da importância deste tipo de poluição (Spengler & Sexton, 1983; Al-Dagal & Fung, 1990; Chan, 1999; Pino, 1999; Stone, 2000).

1.3 Os Contaminantes.

Uma variedade enorme de contaminantes é encontrada no ar interno das edificações podendo ser introduzidos ou produzidos nestes ambientes (Croft et al., 1986; Platts-Mills et al., 1987; Hunter et al., 1988; Rom et al., 1991; Owen & Ensor, 1992; Loudon et al., 1996; Stone, 2000). Como o número de poluentes e/ou contaminantes do ar é imenso, chegando à ordem de milhares, torna-se evidente a impossibilidade de citar a todos. Por outro lado, estes contaminantes são facilmente distinguíveis quanto à sua natureza, podendo ser classificados como químicos, físicos ou biológicos.

Os poluentes químicos, representados principalmente pelos compostos orgânicos voláteis e semi-voláteis, são normalmente encontrados como componentes de utensílios de decoração (carpetes, mobiliário, tintas e vernizes) ou produtos utilizados na rotina diária, tais como os de limpeza e desinfecção, inseticidas, *toner* de máquinas copiadoras, etc., além dos gases resultantes de combustão, como o monóxido e o dióxido de carbono, ou telúricos, como o radônio. Estes poluentes têm sido estudados desde a década de 70 em todo o mundo e desde a década de 90 no Brasil (Brickus & Neto, 1999), tendo sido relatadas diversas conseqüências da sua presença no ar de interiores, como os fenômenos de irritabilidade direta, hipersensibilidade, carcinogênese (Spengler & Sexton, 1983; Wolkoff et al., 1998; Brickus & Neto, 1999; Stone, 2000; Fang et al., 2004) e sobre o comportamento humano, como evasão do ambiente, alterações faciais e até comportamento criminoso (Rotton & White, 1996). Do mesmo modo,

também já foram sugeridos valores máximos permissíveis para muitas destas substâncias (Spengler & Sexton, 1983; Samet, 1989; Collet & Sterling, 1990).

Os contaminantes físicos, por sua vez, podem ser exemplificados pelas pequenas partículas inaláveis de poeira que, quando presentes em quantidades consideráveis, podem trazer, por si só, conseqüências bem conhecidas aos indivíduos expostos (Samet, 1989; Selikoff & Greenberg, 1991; Samet et al., 1993; Wolkoff et al., 1998), haja visto que parte do material inalado pode ser irreversivelmente depositada no sistema respiratório (Svartengren et al., 1987; Brikus & Neto, 1999). Para ilustrar a gravidade do problema, podemos lembrar que o asbesto, um contaminante físico dos mais conhecidos e estudados devido a seus efeitos carcinogênicos sobre o ser humano, podia ser encontrado em isolamentos acústicos ou térmicos nas instalações prediais na década passada e talvez ainda hoje (Rom et al., 1991; Selikoff & Greenberg, 1991). As conseqüências indiretas da presença destas partículas nos ambientes internos devem também ser ressaltadas, uma vez que podem carrear microrganismos disseminando-os no ambiente ou levá-los ao contato com o hospedeiro (Brikus & Neto, 1999).

Os contaminantes biológicos incluem bactérias, fungos, vírus, artrópodes, pólen, ou substâncias deles derivadas (Solomon, 1976; Al-Dagal & Fung, 1990; Dutkiewicz, 1994; Menzies & Bourbeau, 1997). Muitas das conseqüências normalmente citadas para a saúde humana são similares àquelas descritas para os contaminantes de natureza química, como as irritações da pele e do trato respiratório, as dermatites, rinites, conjuntivites, asma, além de sintomas ou síndromes tais como tosse, dores de cabeça, tonteira e mal estar generalizado.

Deve-se destacar que estas manifestações podem sinalizar respostas de irritação/intoxicação por exposição a agentes irritantes diretos ou ainda, respostas imunológicas a alérgenos em potencial (Spiegelman & Friedman, 1968; Edwards, 1980; Samson, 1985; Croft et al., 1986; Su et al., 1992; Menzies & Bourbeau, 1997), caracterizando a chamada síndrome dos edifícios doentes (Jones, 1999; Handal et al., 2004). Neste contexto, devemos lembrar da existência das exotoxinas bacterianas, dos componentes de parede celular, como os lipopolissacarídeos (LPS) e o peptidoglicano, das toxinas fúngicas, do β -1,3

glucano presente em conídias de fungos e, ainda, dos compostos orgânicos voláteis de origem fúngica (Miller, 1992; Heederik et al., 2000; Young et al., 2003; Nilsson et al., 2004; Douwes, 2005). Estes produtos entram em contato com o organismo humano, a partir do ar, por inalação ou por absorção através da pele e podem produzir efeitos agudos, como as reações inflamatórias no trato respiratório ou em longo prazo, pelas suas propriedades citotóxicas, revelar efeitos mutagênicos ou carcinogênicos. No entanto, o papel de tais substâncias no ar ainda não foi extensivamente estudado (EPA, 1992; Rylander, 2002).

Quanto às doenças infecciosas, muitas delas, causadas por bactérias, fungos ou vírus, estão reconhecidamente relacionadas às edificações (Doebelling & Wenzel, 1987; Miller, 1992; Menzies & Bourbeau, 1997). Entre estas infecções destacam-se, evidentemente, as do trato respiratório. Burge (1990) resumiu as causas desta situação de forma clara e simples quando afirmou que o ambiente interno “confina e protege o aerosol”; contudo, a transmissão de microrganismos através do ar de forma a produzir uma infecção propriamente dita é dependente de uma série de fatores entre os quais são essenciais a existência de uma fonte, normalmente humana, e a presença de um hospedeiro susceptível (EPA, 1992).

Podemos notar, então, que todos esses grupos de contaminantes têm, em comum, a capacidade de trazer conseqüências dos mais variados tipos e graus às pessoas afetadas, dependendo, para tanto, da quantidade e do tipo do contaminante ou da associação de mais de um poluente/contaminante no local, do período de exposição, além de fatores inerentes a cada indivíduo, como, por exemplo, a sensibilidade e a predisposição de cada um (Lacey & Crook, 1988; Collet & Sterling, 1990).

Os estudos realizados na área da aeromicrobiologia, de um modo geral, correlacionam a presença destes poluentes com as doenças ou sintomatologias apresentadas pelos usuários dos ambientes internos sem, contudo, estabelecer outras relações importantes que permitam elucidar questões como a origem, a fonte, ou a quantidade destes no local em estudo, por exemplo (Weiss & Soleymani, 1971; Wahlstrom et al., 1989; Jacobs, 1989), ou ainda encontrar indicadores que, em sendo detectados, permitam acionar medidas preventivas de contenção ou erradicação de contaminantes do ar.

1.4 O Controle da Qualidade do Ar Interno.

A garantia da qualidade do ar de um ambiente interno surgiu, no Brasil, como consequência das atividades das empresas prestadoras de serviços na área de limpeza e manutenção de sistemas de condicionamento de ar. Os profissionais envolvidos na higienização das máquinas de condicionamento de ar e dos dutos por onde circula o ar climatizado, ao sentirem a necessidade de validar seus serviços, buscaram nos laboratórios de análises algum tipo de ensaio que pudesse garantir a qualidade deste trabalho. Assim, poderiam garantir a seus clientes que o ar climatizado e distribuído pelos equipamentos controlados por eles tinha melhor qualidade que aquele anteriormente provido por estas mesmas máquinas e dutos.

Em resposta a esta demanda, os laboratórios buscaram na literatura as possíveis metodologias a serem aplicadas e os principais equipamentos de amostragem e análise de ar. Esta nova área de prestação de serviços em análises laboratoriais levou ao estudo dos dados produzidos no exterior, e a experiência de campo fomentou dúvidas e questionamentos que só poderiam ser dissipados por extensa pesquisa científica.

Não obstante, devemos destacar que a inspeção visual de um sistema de climatização é um critério importante para a determinação da qualidade do ar confinado e, muitas vezes, torna-se suficiente para que se considere um sistema de climatização impróprio para o funcionamento, sugerindo a necessidade de medidas corretivas (Brasil, 1998). Contudo, não deve ser utilizada isoladamente no controle da qualidade do ar, uma vez que as determinações físico-químicas e as análises microbiológicas são necessárias para que se determine a possibilidade da existência de outras causas ou fontes poluidoras não facilmente detectáveis.

Vários parâmetros são necessariamente pesquisados para o controle da qualidade do ar de interiores.

As determinações da temperatura, umidade e velocidade do ar são realizadas rotineiramente, em conjunto, como indicadores de conforto térmico para os usuários (Everett & Kipp, 1991; Hayes et al, 1995). A umidade e a temperatura são também fatores predisponentes do crescimento de

microrganismos (Kethley et al., 1957; Hatch & Dimmick, 1966; Everett & Kipp, 1991; Jones, 1999) além de influenciarem nas emissões químicas a partir de materiais dos prédios (Hayes et al., 1995; Fang et al., 1999).

O teor de gás carbônico é quantificado como indicador de combustão e atividade metabólica servindo, portanto, para constatar se a introdução de ar externo no sistema de climatização é suficiente para diluir e dissipar outros poluentes (Menzies et al, 1993; Hayes et al., 1995; Jones, 1999; Rudnick & Milton, 2003; Sundell, 2004). Este gás pode ser pesquisado igualmente como poluente, já que, em quantidade excessiva, pode produzir dor de cabeça, náusea, dificuldade de respirar, sonolência e sensação de fadiga, conseqüências de sua ação sobre a saúde e que, em adição, contribuem para a perda da produtividade (Hayes et al., 1995; Jones, 1999; Wyon, 2004).

As determinações da temperatura, umidade relativa, velocidade do ar e teor de CO₂ são feitas por equipamentos de leitura direta: termo-higrômetros, anemômetros e medidores de CO e CO₂ (Hayes et al., 1995; Brasil, 2000 e Brasil, 2003). Nas situações onde há suspeita de contaminação por outros compostos, podem ser utilizados sensores acoplados a equipamentos de leitura direta que permitem a detecção de gases, compostos químicos voláteis e semi-voláteis, como, por exemplo, gás sulfídrico, dióxido de enxofre, óxido nítrico, dióxido de nitrogênio, cloreto de amônia e gás cianídrico (Hayes et al., 1995).

A concentração de material particulado total é outra determinação de rotina no controle da qualidade do ar de ambientes climatizados. As partículas sólidas em suspensão têm efeito direto sobre a saúde humana além de carregarem microrganismos e outros contaminantes (Stone, 2000; Zanobetti et al., 2000). Esta análise pode ser feita por método gravimétrico, metodologia de escolha no Brasil (Brasil, 2000; Brasil, 2003), através de bombas de vácuo conectadas a porta-filtros dotados de filtros de nitrocelulose que retêm as partículas em suspensão. Estes são pesados antes e depois da coleta da amostra e o resultado do ensaio é dado pela diferença entre as pesagens. Este método, aparentemente simples na sua execução, apresenta alguns problemas quanto à precisão dos resultados, altamente dependentes da técnica de manuseio dos filtros, da sensibilidade e da exatidão das balanças utilizadas.

A quantificação de microrganismos no ar torna-se necessária pelas conseqüências diretas para a saúde humana e pode ser usada para a detecção de fontes contaminantes. Existem diversas metodologias para a análise quantitativa de microrganismos no ar, contudo; Lee et al. (2004) afirmaram que não há um consenso entre os especialistas sobre qual metodologia deveria ser considerada como padrão.

Os métodos disponíveis para a análise microbiológica do ar incluem: a sedimentação espontânea (ou método gravitacional), a filtração, a precipitação eletrostática, a impactação centrífuga, a impactação em meio líquido e a impactação em meio sólido (Ren & Frank, 1992b; Hayes et al., 1995; Morris et al., 1999).

O método de sedimentação espontânea consiste em expor placas de Petri, contendo os meios de cultura de escolha, no ambiente a ser estudado, de forma que as partículas dispersas no ar sofram sedimentação pela força da gravidade. O tempo de exposição das placas, que certamente é um fator relevante para o sucesso da técnica, não é padronizado e varia muito entre os estudos realizados. Alguns autores utilizaram a exposição de placas por 30 minutos ou menos (Prahl, 1992; Buttner & Stetzenbach, 1993; Dykstra et al, 1997) enquanto outros, por uma, duas, quatro horas ou mais (Spiegelman & Friedman, 1968; Sarubbi et al., 1982 Schmitt et al., 1991; Sherertz et al., 1996; Lima Filho et al., 1998; Mc Donald et al., 1998; Buemi et al., 2000; Bernardo et al., 2005) obtendo relativo sucesso em isolar microrganismos em diferentes ambientes. Mas, há consenso na afirmação de que esta técnica é extremamente limitada porque não permite a quantificação dos microrganismos presentes no ar, ou seja, a determinação do número de unidades formadoras de colônias por metro cúbico de ar (UFC/m³); é altamente dependente da movimentação do ar e do tempo de exposição e não possui sensibilidade para esporos pequenos, os quais não sedimentam prontamente (Kang & Frank, 1989a; Hayes et al., 1995; Dykstra et al, 1997).

No método de filtração, o ar é forçado a passar por um filtro deixando retidas neste as partículas anteriormente dispersas no ar. Os microrganismos assim coletados podem ser suspensos em uma solução aquosa que seria utilizada para a enumeração das partículas viáveis. Normalmente são usados

filtros de policarbonato, nitrocelulose, acetato de celulose, entre outros. Uma opção que reduz as chances de perda de células no próprio filtro é a utilização de membranas de gelatina, que dissolvem na solução aquosa de suspensão, usada posteriormente na etapa de contagem dos microrganismos. Filtros de policarbonato, corados após a coleta com laranja de acridina, são usados alternativamente para permitir a contagem direta das células sob microscopia de fluorescência. As limitações dos métodos de filtração dizem respeito às chances de dessecação das células e a conseqüente perda da viabilidade destas durante a coleta (EPA, 1992; Jansen et al., 1992), fenômeno que parece ser reduzido pela utilização de membranas gelatinosas. Estas membranas, por sua vez, possuem o inconveniente de apresentarem propriedades higroscópicas, o que dificulta a coleta quando a umidade relativa do ar é muito elevada (Kang & Frank, 1989a).

O método da precipitação eletrostática tem sido utilizado para retirar partículas de poeira do ar baseando-se no princípio de que as partículas possuem carga elétrica e podem ser atraídas por um campo elétrico. Diferentes modelos de amostradores que se utilizam deste princípio têm sido descritos. O amostrador de Litton (Berry, 1941), por exemplo, atrai as partículas para um disco giratório de alumínio ou vidro com carga oposta. O disco é recoberto com uma fina camada de líquido que se move por força centrífuga. A solução obtida pode ser usada posteriormente para a contagem de microrganismos (Morris et al, 1999). Estes amostradores são mecanicamente complexos e devem ser manuseados cuidadosamente e talvez por isso sejam pouco utilizados. Outro inconveniente refere-se ao fato de que durante a ionização do amostrador são produzidos óxidos de nitrogênio e ozônio, que podem ser tóxicos para os microrganismos (Kang & Frank, 1989a).

Na impactação centrífuga o amostrador usa o princípio da aceleração centrífuga para propelir as partículas sobre uma superfície coletora. A superfície coletora fica situada em torno do equipamento de forma que as partículas são lançadas em alta velocidade em sua direção. Estes aparelhos não geram alto fluxo de ar durante a coleta, o que gera menor estresse e favorece a viabilidade das células; por outro lado, a força centrífuga gerada pode não ser suficiente para impelir pequenas partículas sobre a superfície de coleta. Este equipamento é

considerado muito prático de ser usado, mas tem o inconveniente de utilizar tiras com meio de cultura fornecidas pelo fabricante, o que impossibilita a livre escolha do meio de cultura a ser empregado na coleta. Matcher & First (1983) estudaram o desempenho de um amostrador deste tipo, conhecido como “Reuter Centrifugal Air Sampler” (RCS, Biotest Diagnostics, Fairfield, NJ) e concluíram que este é eficaz quando as partículas dispersas no ar são maiores que 5 μm . Deste modo, este equipamento seria útil apenas quando se deseja fazer comparação de resultados obtidos apenas com ele. Vários autores compararam o RCS com outros amostradores de ar e concluíram que o RCS retém menos partículas e que a massa das partículas influencia mais na sua retenção do que o seu tamanho (Kang & Frank, 1989b; Lee et al., 2004).

No método de colisão em meio líquido o ar é bombeado para o interior de um frasco de vidro (“All Glass Impinger”, Ace Glass, Inc., Vineland, NJ), passando através de um líquido no qual as partículas ficam suspensas. Este líquido pode, então, sofrer diluições sucessivas para a contagem de bactérias e fungos (May, 1964). Este método é considerado muito conveniente por permitir a pesquisa de diversos microrganismos a partir da mesma amostra utilizando-se diferentes meios seletivos. Entretanto, possui alguns inconvenientes como o fato de ser feito de vidro, devendo ser esterilizado a cada coleta e podendo também facilmente quebrar-se durante o uso (Kang & Frank, 1989a). Além disso, devido à violenta agitação do líquido, as células podem ser destruídas

No método de impactação em meio sólido, que é o mais comumente utilizado (Morris et al., 1999), os equipamentos funcionam aspirando o ar e lançando as partículas nele dispersas diretamente sobre a superfície de meios de cultura em placas de Petri. O cultivo dos microrganismos que entraram em contato com o meio de cultura escolhido permite, então, gerar resultados quantitativos diretamente pela contagem das UFC resultantes (Morris et al, 1999; Kang & Frank, 1989a).

Os diferentes modelos de impactadores são dotados de múltiplos estágios ou de apenas um estágio. Os impactadores de múltiplos estágios são constituídos de uma série de chapas de metal perfuradas e sobrepostas (1, 2, 6 ou 8 placas), com placas de Petri contendo meio de cultura entre cada uma delas. Os orifícios

de cada chapa de metal são idênticos e diminuem de diâmetro gradativamente a cada placa. O ar entra no aparelho por uma abertura na sua parte superior, atravessa os orifícios da primeira placa de metal e as partículas maiores são lançadas na superfície do meio de cultura situado alguns milímetros abaixo. As partículas menores, que não sedimentam no estágio inicial, seguem seu curso ao redor da placa de Petri e sedimentam-se nos estágios seguintes conforme seu tamanho, na medida em que alcançam aceleração suficiente para impactar (Andersen, 1958).

Esta técnica de coleta de amostra simula o sistema respiratório humano, onde a árvore brônquica diminui seu diâmetro gradativamente desde o trato respiratório superior até os alvéolos pulmonares (Quadro 1). Assim, além de permitir a contagem total de partículas viáveis em suspensão no ar, é possível também determinar o número de partículas respiráveis em diferentes partes do sistema respiratório e quantas chegariam aos alvéolos. Tais informações são de máxima importância para o estudo da penetração de poluentes no trato respiratório, determinando seu potencial de infectividade.

Quadro 1 - Correlação entre os estágios do amostrador de Andersen e as regiões do sistema respiratório humano.

Estágio	Tamanho das partículas retidas (μm)	Sistema respiratório
1°	>7	Fossas Nasais
2°	4,7 – 7,0	Faringe
3°	3,3 – 4,7	Brônquios
4°	2,1 – 3,3	Bronquíolos
5°	1,1 – 2,1	Bronquíolos Terminais
6°	0,65 – 1,1	Alvéolos

Outra grande vantagem deste tipo de amostrador deve-se ao fato de que não há perda de células nas paredes do instrumento. Deste modo, torna-se desnecessária a limpeza e a esterilização entre cada procedimento de coleta (Andersen, 1958; May, 1964).

O primeiro instrumento deste tipo a ser projetado foi o amostrador de Andersen (Andersen, 1958). Posteriormente, outros modelos foram produzidos, como o “Ross-Microban” (Ross Industries, Midland, V.A.) e o “Personal Particulate, Dust, Aerosol Collector” (SKC Inc., Eight Four, P.A.).

Os instrumentos de um estágio seguem o mesmo princípio dos amostradores de múltiplos estágios, mas a corrente de ar é direcionada a um orifício simples, como no “Casella Slit Sampler” (C.F. Casella & Co. Ltd, London), ou uma única chapa metálica perfurada cujos orifícios são de diâmetro uniforme e abaixo da qual é colocada uma placa de Petri preenchida com meio de cultura, como o “Surface Air System” (SAS, PBI International, Milão, Itália), o Microban (Ross Industries, Inc, Midland, V.A.) e o MAS-100 (Merck, Germany).

Estes equipamentos começaram a ser comercializados em nosso país apenas ao final da década de 80 com o objetivo de atender às necessidades da indústria farmacêutica, onde as análises microbiológicas do ar nas áreas de produção fazem parte da rotina de controle da qualidade. A demanda criada pelas empresas de manutenção de sistemas de condicionamento de ar, fez com que passassem a ser utilizados também em outros ambientes, dadas as facilidades que oferecem na coleta da amostra de ar e a possibilidade de oferecerem resultados quantitativos, o que não era possível nas técnicas de exposição de placas anteriormente utilizadas (Edmonds, 1972; Kotula et al., 1978; Kang & Frank, 1989a).

Os impactadores de múltiplos estágios têm se mostrado como os mais eficientes em vários estudos realizados (Lundholm, 1982, Ren & Frank, 1992a; Buttner & Stetzenbach, 1993; Dykstra et al., 1997), mas possuem diversas limitações: são acoplados a bombas de vácuo e não possuem bateria interna, o que reduz as possibilidades de coleta em certos tipos de ambientes; utilizam placas de Petri de vidro, padronizadas e de alto custo, que podem quebrar-se durante a coleta. Além disso, na maioria das vezes, a informação necessária é apenas o número total de microrganismos, o que se pode obter com o uso de apenas uma placa, técnica mais simples e de menor custo. Kotula et al. (1978) compararam um impactador de um estágio com outro de seis estágios e concluíram que o instrumento de seis estágios tem maior sensibilidade. No

entanto, como lembraram estes pesquisadores, “isto não deve ser visto como uma vantagem”, pois instrumentos muito sensíveis fornecem resultados muito instáveis e, deste modo, os dados fornecidos por amostradores de um estágio foram considerados mais precisos. Kang & Frank (1989b), em um estudo semelhante, afirmaram ainda que “o amostrador de Andersen oferece resultados mais confiáveis, mas, na prática, seu uso é inviável”.

1.5 Os Parâmetros Sugeridos e os Aspectos Legais no Brasil.

A grande maioria dos padrões e recomendações para microrganismos no ar de ambientes internos enfocam apenas os fungos. Além disso, tais padrões e recomendações estão relacionados a doenças clinicamente definidas e abordam a amostragem, medidas corretivas e manutenção preventiva, sem estabelecer limites para as concentrações totais de bactérias no ar (Rao et al., 1996; Olesen, 2004).

A criação de padrões e recomendações para microrganismos no ar de interiores é altamente dependente de estudos epidemiológicos. Miller (1992) referiu-se aos estudos feitos até então como “piadas, de pequeno porte e capacidade”. Rao et al., em 1996, afirmaram que “os padrões e recomendações emitidos até aquele momento por agências governamentais baseavam-se, primariamente, em dados obtidos sem correlação com os efeitos para a saúde”. Jones (1999) concluiu também: “existe a necessidade de pesquisas de mais alta qualidade que investiguem a relação entre a qualidade do ar de interiores e a saúde”.

Alguns autores têm indicado valores máximos permissíveis para bolores e leveduras muito distintos entre si. Os limites máximos sugeridos variam entre 100 UFC/m³ a 1000 UFC/m³. Miller et al. (1988) admitiram um valor máximo de fungos no ar de 150 UFC/m³, enquanto Morey et al. (1984) sugeriram que níveis de contaminação superiores a 1000 UFC/m³ poderiam representar um risco para os ocupantes de ambientes internos. Ohgke et al. (1987), a partir dos dados coletados em 11 prédios públicos, usaram o valor médio de 100 UFC/m³ como

limite, acima do qual os valores obtidos seriam sugestivos da existência de fontes de fungos que deveriam ser investigadas. Yang et al. (1993) sugeriram um limite máximo de 200 UFC/m³ a partir de uma pesquisa onde coletaram 2000 amostras em edifícios das quais 75% apresentaram resultados menores que 178 UFC/m³. Rao et al., em 1996, comentaram, em uma extensa revisão sobre os padrões e recomendações para fungos no ar de ambientes internos, que “muitos autores basearam suas recomendações em dados obtidos a partir de análises microbiológicas, sem descrever as características destes conjuntos de dados e a metodologia de análise utilizada, enquanto outros fizeram recomendações baseadas em experiências pessoais decorrentes de avaliações de contaminações fúngicas em ambientes internos”.

Rao et al., em 1996, relataram que muitas instituições profissionais nos Estados Unidos têm apresentado sugestões de parâmetros para o controle de ambientes climatizados. Uma delas, a “American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH)” publicou alguns trabalhos sugerindo os seguintes limites máximos para fungos em ambientes internos: <100 UFC/m³ – baixo - para áreas limpas e hospitais; 100 a 1000 UFC/m³ – intermediário - para ambientes internos e externos em geral; >1000 UFC/m³ – elevado – áreas de manipulação de animais Outra instituição que demonstrou interesse nesta área foi a “American Industrial Hygiene Association (AIHA)” que recomendou o valor máximo de 1000 UFC/m³ e indicou a relação entre os resultados de análises em ambiente interno e externo (Relação I/E), quando elevada, como sugestiva da presença de fonte amplificadora no ambiente interno.

Instituições governamentais internacionais também têm trabalhado no sentido de prover padrões quantitativos de fungos no ar de ambientes internos. Entre elas destacaram-se a “United States Occupational Health and Safety Administration (USOSHA)”, que elaborou um manual técnico em 1992 estabelecendo o limite máximo de 1000 UFC/m³ (Rao et al., 1996) e a “Commission of the European Communities (CEC)”, que fixou este valor em 10⁴ UFC/m³ (Rao et al., 1996).

Com relação a parâmetros oficiais, apenas a Federação Russa (Russian Federation, 1993) e o Brasil (Brasil, 2000; Brasil, 2003) apresentaram, até agora,

padrões quantitativos para fungos no ar. A Federação Russa, em 1993, estabeleceu uma faixa entre 10^3 e 10^4 UFC/m³ como limite máximo permitido, dependendo das espécies encontradas; entretanto, estes limites não estão baseados na contagem de microrganismos viáveis presentes no ar, mas na correlação entre as concentrações de proteínas e metabólitos de fungos detectados nas amostras de ar com a quantidade de microrganismos que os originou.

No Brasil, a preocupação com o ar de ambientes internos, como veículo de poluentes e contaminantes em geral, tem assumido tal importância nesses últimos anos, que se refletiu na publicação de uma legislação específica, visando normalizar as ações de operação e manutenção de sistemas de condicionamento de ar, a Portaria GM/MS nº 3523, de 28/08/1998 (Brasil, 1998).

Apesar de sofrer críticas importantes e deixar dúvidas sobre como seria feita a fiscalização deste setor pela falta de pessoal treinado neste assunto, esta Portaria trouxe um grande avanço para área de manutenção e controle dos serviços de climatização do ar.

Torna-se de suma importância lembrar que muitos prédios na cidade do Rio de Janeiro permaneceram por várias décadas, desde a instalação de seus sistemas de climatização, sem passar por qualquer tipo de atividade de limpeza e manutenção de seus equipamentos de condicionamento de ar. A partir da elaboração da referida Portaria, os profissionais da área de manutenção, em geral, mobilizaram-se para a criação do plano de operação, manutenção e controle dos sistemas de condicionamento de ar (PMOC) exigido por este documento.

Este documento teve relevância também por determinar a formação posterior de um grupo de estudos, com o objetivo de elaborar um regulamento técnico com determinações sobre a avaliação da qualidade microbiológica e físico-química do ar de ambientes climatizados, estabelecendo os métodos e parâmetros a serem adotados. Tal ação culminou com a redação da Resolução RE nº 176, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde, de 24 de outubro de 2000 (Brasil, 2000). Esta Resolução foi revisada em 2003, originando a Resolução RE nº 09, de 16 de janeiro de 2003 (Brasil, 2003).

Nestas legislações, ficou estabelecido que a contagem total máxima de bolores e leveduras deve ser 750 UFC/m³ e que a relação entre as contagens de microrganismos no ar interno e no ar externo do prédio não deve ser superior a 1,5 (Relação I/E), mesmo que os dois resultados relacionados sejam inferiores ao limite máximo permitido (750 UFC/m³). Tal parâmetro estaria relacionado ao fato de que valores muito elevados da relação I/E indicam a presença de fontes poluidoras no interior do prédio, que devem ser pesquisadas.

Os parâmetros estabelecidos pela legislação brasileira (Brasil, 1998; Brasil, 2000; Brasil, 2003) estão resumidos no Quadro 2.

Quadro 2 - Parâmetros referenciais de qualidade do ar de interiores em ambientes artificialmente climatizados de uso público e coletivo (Brasil, 2003).

Parâmetros	Valores máximos permitidos
Físico-Químicos	
Dióxido de carbono	≤1000 ppm
Aerodispersóides	≤ 80 g/m ³
Temperatura: Verão Inverno	23 - 26°C 20 - 22°C
Velocidade do ar	0,25 m/s
Umidade relativa: Verão Inverno	40 - 65% 35 - 65%
Taxa de renovação	27 m ³ /h/pessoa
Microbiológicos	
Quantitativo para bolores e leveduras	≤ 750 UFC/m ³
Relação I/E *	≤ 1,5

* - Relação entre a quantidade de fungos no ar interno (I) e no ar externo ao prédio (E).

As referidas Resoluções, no entanto, fomentaram a discussão de pontos como a origem do limite máximo estabelecido (750 UFC/m³) para bolores e leveduras. Isto se deve ao fato de que tal parâmetro foi obtido através de cálculos matemáticos que levaram em conta a quantidade de esporos de *Penicillium sp* capaz de induzir um surto asmático quando inalada (7 x 10⁵/10 m³ de ar), o volume de ar inspirado por um indivíduo adulto em repouso por 24 horas e o número de horas da jornada de trabalho (Kulcsar Neto & Siqueira, 1998). Não

restam dúvidas de que estas assertivas são frágeis em sua base científica.

Entre outros pontos deste documento que geraram discordância, podemos citar a utilização deste mesmo parâmetro para técnicas de amostragem diferentes (com equipamentos de 1, 2 e 6 estágios), a ausência de parâmetros para bactérias e a variedade de meios de cultura aceitos para a análise.

O número de pontos a serem amostrados em cada prédio, andares de prédios ou ambientes em geral, foi um tópico que inicialmente também deixou dúvidas na execução do controle da qualidade do ar de interiores, mas a Resolução RE nº 09, de 16 de janeiro de 2003 (Brasil, 2003), apresentou uma sugestão de números mínimos de pontos a serem amostrados em função do espaço físico, resolvendo, pelo menos em parte, a questão (Anexo 1).

Os ambientes hospitalares foram o foco mais recente da atenção da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que promoveu a redação da Consulta Pública nº 109, de 11 de dezembro de 2003 (Brasil, 2005), que até o presente momento não foi oficializada (Anexo 2). Este documento classificou os ambientes hospitalares em quatro níveis de risco de ocorrência de eventos adversos à saúde e estabeleceu limites máximos para as contagens totais de bactérias e fungos, conforme apresentado no Quadro 3.

Quadro 3 - Parâmetros referenciais microbiológicos de qualidade do ar de interiores, em serviços de saúde, segundo os níveis de risco (Brasil, 2005).

Variáveis e componentes	Nível 0	Nível 1	Nível 2	Nível 3
Partículas biológicas totais no ar ambiental	$\leq 750 \text{ UFC/m}^3$	$= 500 \text{ UFC/m}^3$	$= 200 \text{ UFC/m}^3$	$= 50 \text{ UFC/m}^3$

1.6 Os Ambientes Especiais e o Ambiente Hospitalar.

Alguns locais possuem características muito diferenciadas dos ambientes comuns de trabalho no que se refere à qualidade do ar, seja pelas próprias necessidades do serviço, que requerem ausência total de contaminantes do ar, ou porque as próprias tarefas exercidas geram contaminantes em grande quantidade

(Croft et al., 1986; Platts-Mills et al., 1987; Hunter et al., 1988; Rom et al., 1991; Loudon et al., 1996; Stone, 2000).

No primeiro caso podemos citar, como exemplos, as salas limpas, destinadas à produção de artigos estéreis, onde os contaminantes biológicos têm importância óbvia, e os locais de trabalho com instrumentos eletrônicos, cuja presença de simples partículas físicas pode gerar problemas no funcionamento destes. Em tais circunstâncias, um controle rigoroso da qualidade do ar visando níveis excelentes torna-se notoriamente essencial.

No segundo caso, são exemplos os laboratórios de análises e os consultórios odontológicos, cujas atividades de rotina levam à emissão quase constante de compostos voláteis e semi-voláteis, além de aerossóis que podem carrear contaminantes biológicos (Bernardo et al., 2005). Tais compostos podem permanecer no ar por longos períodos de tempo atingindo os usuários destes ambientes (Menzies & Bourbeau, 1997). Nestas situações torna-se evidente a necessidade de cuidados específicos e intensificados, como o uso de equipamentos de proteção individual, métodos de exaustão e desinfecção apropriados.

Outro tipo de ambiente que merece cuidados e gera preocupação por parte dos profissionais da área da saúde é o hospitalar. As infecções hospitalares bacterianas são a maior causa de morbidade em pacientes hospitalizados, particularmente em unidades de terapia intensiva (Turner et al., 1999).

É consenso entre os especialistas desta área, que este fato se deve basicamente ao amplo uso de antimicrobianos nas últimas décadas, levando à emergência de microrganismos resistentes a tais drogas (Chakrabarti et al. 1992; Shimori et al., 2001).

Uma das principais causas apontadas para o grande número de pacientes acometidos por infecções hospitalares é a transmissão cruzada de patógenos (Ledson et al, 1998; Hoffman et al., 1999; Gardam et al, 2002). No entanto, outros fatores como os equipamentos de terapia respiratória, de biópsia, endoscópios e cateteres inadequadamente esterilizados; o uso de insumos recentemente contaminados por exposição indevida; salas de cirurgia, UTIs e enfermarias mal preparadas ou mal higienizadas; a falta de um controle de circulação e de

precauções sobre áreas que manuseiam procedimentos sujos e expurgo de materiais; a utilização indiscriminada de antimicrobianos, além do uso de antissépticos impróprios nas mãos da equipe médica ou de enfermagem, também contribuem amplamente para o surgimento e a disseminação destas infecções (Siqueira, 2000; Rampling et al., 2001; Berquó et al., 2004; Harakeh et al., 2005).

As fontes ambientais de microrganismos implicados em infecções hospitalares também têm sido valorizadas há algum tempo, o que se faz notar pelas recomendações usuais de limpeza e higienização dos ambientes hospitalares. A dispersão de microrganismos patogênicos no ar tem sido demonstrada ao longo dos anos. Já em 1971, Lowbury et al. sugeriram que ***Staphylococcus aureus*** poderia ser transmitido por ambas as vias, contato e aspersão no ar, e Hambraeus (1973) demonstrou a dispersão de ***S. aureus*** em pacientes queimados portadores de extensas lesões. Porém, este último pesquisador não demonstrou que o ***S. aureus*** encontrado no ar era oriundo das lesões de outros pacientes.

MacMillan et al. (1973), ao contrário, não encontraram evidências da transmissão de bastonetes Gram negativos pelo ar ambiental, entre os pacientes de uma unidade de queimados, mas Wenzel et al. (1976) sugeriram que uma cepa de ***Providencia stuartii*** fora transmitida entre seus pacientes através do ar em um surto ocorrido também em uma unidade de queimados.

Lentino et al. (1982) relataram dez casos de pacientes contaminados por ***Aspergillus sp*** cuja fonte foi atribuída ao aparelho de ar condicionado. Schaal (1991), de forma enérgica, afirmou que as medidas preventivas das infecções hospitalares concentravam-se em microrganismos não usualmente transmitidos por via aérea, como as bactérias Gram-negativas e que, deste modo, a possibilidade de transmissão de patógenos hospitalares pelo ar tem sido subestimada.

Recentemente, alguns pesquisadores concentraram seus esforços em isolar microrganismos de importância médica a partir do ar de ambientes hospitalares. Anderson et al. (1996) atribuíram grande importância à pesquisa de fungos do gênero ***Aspergillus*** associados a surtos de infecções hospitalares nos mais diferentes locais. McDonald et al. (1998) isolaram ***Acinetobacter sp*** do ar

ambiental de um hospital onde ocorriam surtos de infecção causados por esta bactéria, utilizando a antiga técnica de exposição de placas. Os dados assim obtidos permitiram-lhes sugerir que o ar da enfermaria teria sido uma via importante na disseminação do microrganismo.

Lima Filho et al. (1998) afirmaram que 20% das contaminações em salas cirúrgicas, utilizadas em cirurgias oftalmológicas, eram oriundas do ar. Harteman (1998), por outro lado, pôs em discussão este assunto, declarando não haver um consenso sobre os riscos de infecção por via aérea e citando ainda a necessidade da elaboração de normas e padrões para os métodos de controle de biocontaminação, enquanto Hoffman et al. (1999), não obstante, voltaram a questionar a importância do controle dos sistemas de ventilação nas unidades hospitalares para a contenção da disseminação de patógenos por via aérea.

Shiomori et al. (2001) enfocaram as rotinas diárias dos hospitais como capazes de alterar, mesmo que momentaneamente, as características do ar ambiental. Estes pesquisadores isolaram e quantificaram ***Staphylococcus aureus*** resistentes à metilina a partir do ar de uma unidade de cirurgia, no momento da troca das roupas de cama dos pacientes e em período de repouso. Neste estudo, foram encontrados, de forma surpreendente, cerca de 50 vezes mais estafilococos na primeira situação do que na segunda. Estes autores mostraram também, através de tipagem fenotípica e genotípica, que os ***S. aureus*** isolados dos pacientes, das superfícies inanimadas e da equipe médica eram idênticos, indicando, assim, a possibilidade destes microrganismos circularem no ambiente e entre os indivíduos hospitalizados através do ar.

Contudo, Rampling et al. (2001) declararam que tem sido difícil comprovar que a contaminação ambiental, principalmente no que tange ao ar climatizado, represente um risco considerável para os pacientes hospitalizados.

De fato, os sistemas de ar condicionado têm sido implicados em surtos de infecções nosocomiais através da produção de bioaerossóis, pela veiculação de matéria particulada originada de filtros freqüentemente saturados e/ou colonizados, pelo pequeno (ou inexistente) percentual de renovação e exaustão de ar ou ainda pelas bandejas de condensação, onde com freqüência se formam biofilmes capazes de sustentar o crescimento de patógenos em potencial (Lentino

et al.,1982; Ayliffe, 1991; Eickhort, 1994; Anderson et al., 1996; McDonald et al.,1998). Por outro lado, seria um equívoco relacionar a possibilidade de transmissão de patógenos, por via aérea, em um ambiente hospitalar, unicamente com os sistemas de climatização.

Embora os dutos que conduzem o ar climatizado possam disseminar microrganismos, as fontes desses contaminantes podem, por vezes, estar presentes na própria unidade hospitalar associadas a utensílios, a instrumentos hospitalares ou às atividades de rotina, como as de limpeza, que dispersam os microrganismos no ar (Anderson et al., 1996), sem envolver, a princípio, os sistemas de climatização. Assim, as discussões sobre a importância do controle do ar de interiores não se atêm apenas ao ar insuflado pelos equipamentos de condicionamento de ar, mas também ao ar circulante do ambiente interno e às fontes ambientais de partículas capazes de sustentar microrganismos, como os aerossóis de sujidades do chão e da mobília, entre outros (Ayliffe, 1991; Eickhort, 1994).

É evidente que não há ainda um consenso sobre o verdadeiro papel do ambiente na transmissão de microrganismos patogênicos em áreas hospitalares, assim como não há, também, sobre as metodologias de análise mais adequadas à averiguação destas questões. Outrossim, muitos laboratórios de microbiologia, diretamente ligados à prevenção e ao controle das infecções hospitalares em nosso meio, dispõem apenas de métodos microbiológicos de análise demorados e pouco sensíveis para a identificação, tipagem ou verificação de marcadores de patogenicidade dos microrganismos implicados nos surtos, tornando limitadas as informações obtidas em grande parte dos trabalhos realizados.

Neste sentido, a utilização cada vez mais difundida de métodos moleculares de análise, rápidos, de alta sensibilidade e especificidade, tem gerado informações que implicam na maior eficácia do controle destas infecções (Girlich et al.,2001; Baraniak et al., 2002; Gardam et al., 2002; Orman et al., 2002; Poirel et al., 2002). Tais métodos moleculares aplicados à epidemiologia nosocomial podem ser agrupados em três categorias, segundo a sua utilidade: a) métodos para identificar agentes infecciosos - normalmente baseiam-se na análise de DNA ou RNA e requerem um curto espaço de tempo para a identificação de

microrganismos, além de permitir a identificação de microrganismos dificilmente cultiváveis; b) métodos para tipar agentes infecciosos - podem se basear na análise de diferentes moléculas, como ácidos graxos, ácidos nucleicos, proteínas e polissacarídeos. Nem todos estão disponíveis na rotina laboratorial e podem não ter sido testados para todas as espécies de microrganismos, mas alguns deles possuem reprodutibilidade e alto poder discriminatório; c) métodos de detecção de marcadores epidemiológicos e de virulência - primariamente basearam-se na análise de ácidos nucleicos e, posteriormente, esta tecnologia evoluiu para a análise dos níveis de expressão de milhares de genes em um único experimento, considerando o fato de que estes genes foram transcritos para o mRNA (Poutanen, 2003). Tal tecnologia, contudo, não se encontra ainda disponível em laboratórios de rotina clínica.

A eletroforese de fragmentos de DNA cromossômico, obtidos pela ação de enzimas de restrição, submetidos a corrente em campo pulsado (PFGE), possui um alto poder discriminatório, boa reprodutibilidade, e permite facilmente a comparação entre os perfis obtidos de diferentes amostras, sendo, por isso, considerada um método muito apropriado para estudos epidemiológicos em infecções hospitalares. Esta técnica permite a obtenção de informações válidas para a elucidação de rotas de transmissão, o estabelecimento da variabilidade genética e da distância filogenética entre amostras (Ledson et al., 1998; Loureiro et al., 2002a). Deve-se ressaltar, ainda, que a citada agilidade na obtenção de dados tem propiciado também a utilização destes na tomada de decisões relativas às ações de contenção da infecção hospitalar.

Rampling et al. (2001) acompanharam um surto de ***Staphylococcus aureus*** resistente à metilina (MRSA) utilizando a técnica de PGFE e concluíram que a cepa isolada dos pacientes era a mesma encontrada em superfícies de mobília, piso e outras superfícies, de modo que a alteração da rotina de limpeza, que anteriormente não envolvia a aspiração de pó nem a desinfecção ambiental, resultou na contenção desta bactéria.

Gardam et al. (2002) pesquisaram a presença de enterobactérias multirresistentes a antimicrobianos em pacientes admitidos para transplante de órgão, no momento de sua admissão e durante sua estada no hospital. Este grupo

de pesquisa, após um vasto estudo epidemiológico, não encontrou evidências de transmissão do agente infeccioso de paciente para paciente, o que tornaria desnecessário o isolamento do paciente, como é feito normalmente. Além disso, estes autores afirmaram que as cepas multirresistentes isoladas de cada paciente eram provenientes de suas próprias microbiotas normais, tornando-se multirresistentes pela pressão seletiva dos antimicrobianos a eles administrados.

Pseudomonas aeruginosa é outro importante patógeno envolvido em infecções nosocomiais, cuja múltipla resistência aos antimicrobianos constitui um dos maiores problemas para a sua contenção. Loureiro et al. (2002 a) isolaram e tiparam bactérias desta espécie pela técnica de PFGE, associada a marcadores fenotípicos, com o objetivo de relatar as características demográficas de neonatos infectados por esta bactéria. Entretanto, neste trabalho não se atentou para a correlação dos dados obtidos com as prováveis fontes ambientais deste microrganismo.

De fato, dos aspectos ambientais já priorizados em publicações científicas, o ar climatizado talvez seja um dos que mais carecem de estudos. Certamente, não dispomos de dados, principalmente em nosso meio, que ofereçam embasamento científico para a elaboração de normas ou padrões para o controle da qualidade do ar, quer seja no que se refere às questões ocupacionais, quer em ambientes especiais, como o hospitalar. Neste último, em particular, torna-se notória a necessidade de estudos que enfoquem, simultaneamente, o paciente e o ambiente com o qual ele interage.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral.

Avaliar a qualidade microbiológica do ar em ambientes internos de diferentes locais da cidade do Rio de Janeiro, visando contribuir para a definição de métodos e parâmetros relacionadas à qualidade do ar nestes ambientes e, conseqüentemente para a saúde de seus ocupantes.

2.2 Objetivos Específicos.

- Comparar o desempenho dos amostradores de ar MAS-100 (Merck, Germany) e de Andersen (Andersen Instruments, Inc., Atlanta, Ga.) na coleta de amostras de ar para análises microbiológicas quantitativas além de avaliar a influência da vazão no desempenho do amostrador de ar MAS-100.

- Estudar o comportamento de ambientes diversos, como escritórios, *shopping centers*, indústrias e hospitais, verificando as possíveis diferenças entre estes locais, no que se refere aos níveis de contaminação bacteriana e fúngica.

- Avaliar a situação desses ambientes, no que se refere à qualidade microbiológica do ar climatizado, frente aos parâmetros adotados na legislação em vigor (Brasil, 2003).

- Avaliar a influência de variáveis ambientais – temperatura e umidade relativa do ar - nos níveis de contaminação microbiana do ar confinado, através da técnica multivariada de análise por componentes principais (APC).

- Avaliar possíveis variações sazonais nos níveis de contaminação microbiana em ambientes de escritório.

- Estudar os níveis de contaminação bacteriana e fúngica do ar de ambientes hospitalares - centros cirúrgicos, CTIs, berçário e enfermaria correlacionando as possíveis variações observadas com as atividades de rotina desenvolvidas ou outros fatores predisponentes destes locais.

- Pesquisar a presença de espécies patogênicas pertencentes ao gênero ***Aspergillus*** no ar de ambientes hospitalares.

- Pesquisar a presença de ***Staphylococcus aureus***, ***Pseudomonas aeruginosa*** e enterobactérias no ar de ambientes hospitalares avaliando os perfis de resistência a antimicrobianos do genoma total, considerando a possibilidade de envolvimento destes microrganismos em infecções nosocomiais.

- Estudar a distribuição das cepas de mesmo perfil genético oriundas de amostras de ar de diferentes ambientes hospitalares e relacioná-las com aquelas isoladas de pacientes, de modo a avaliar a importância do ar como via de disseminação de patógenos nosocomiais.

3 METODOLOGIA

3.1 Avaliação da Qualidade do Ar de Ambientes Internos.

3.1.1 Desenho do Estudo.

Foram pesquisadas, entre os anos de 1998 e 2002, a frequência de distribuição de bactérias e de bolores e leveduras no ar de 3060 pontos de coleta, escolhidos aleatoriamente, na cidade do Rio de Janeiro, RJ.

Do total de pontos estudados, 622 foram da linha de produção de indústrias farmacêuticas e de insumos hospitalares, 2066 de escritórios, 201 de *shopping centers*, e 171 de hospitais. Todos os locais avaliados eram dotados de sistemas de condicionamento central de ar.

A análise dos resultados quantitativos obtidos nestes ensaios (contagem de heterótrofos totais, contagem de bolores e leveduras, temperatura ambiental e umidade relativa do ar) foi feita pela utilização da técnica multivariada de análise por componentes principais - ACP (Massart et al, 1997; Miller & Miller, 2000; Montgomery, 2001). As amostras dos diferentes ambientes, isto é, de escritórios, indústrias, shoppings e hospitais, foram avaliadas isoladamente.

Como os dados de escritórios foram muito mais numerosos que os demais nos anos de 1998 a 2002, a análise destes locais foi feita em relação a cada um destes anos em separado. Assim, para indústrias, hospitais e shoppings, a análise foi feita com o conjunto de dados dos diferentes anos.

A análise dos dados obtidos neste estudo foi realizada também em gráficos de colunas para cada tipo de ambiente estudado. Estes dados foram avaliados, ainda, em função da sazonalidade e em relação à legislação pertinente.

Tendo em vista que o amostrador de ar utilizado neste estudo (MAS-100) era dotado de vazão diferente daquela preconizada pela legislação, publicada após o início deste trabalho, foi verificado o desempenho deste amostrador (MAS-100) com sua vazão comercial (100 L/min), com a vazão recomendada pela legislação (28,3 L/min) e também em relação a um equipamento dotado da vazão oficialmente especificada (amostrador de Andersen).

Apenas o ambiente hospitalar foi escolhido para a pesquisa qualitativa de microrganismos a partir de amostras do ar climatizado com o objetivo de isolar espécies do gênero *Aspergillus*, bem como de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e enterobactérias, comparando as culturas de bactérias isoladas, através de métodos fenotípicos e genotípicos, com as culturas destas mesmas espécies isoladas previamente a partir de material clínico de pacientes.

Além disso, cerca de 6 meses após o início deste trabalho, fomos contactados por funcionários da unidade hospitalar em estudo para realizar análises microbiológicas do ar do CTI de adultos deste hospital, onde estava ocorrendo um surto de *Pseudomonas aeruginosa*. Foram coletadas e analisadas, então, amostras de ar, da poeira do duto do sistema de condicionamento de ar e de superfície das pias deste CTI. As culturas bacterianas obtidas nesta ocasião foram estudadas em conjunto com aquelas isoladas anteriormente, a partir das coletas programadas.

3.1.2 Análises Microbiológicas Quantitativas.

Foram coletados 100 L de ar de cada ponto de amostragem de escritórios, indústrias e *shopping centers* e 500 L de ar nos ambientes de hospitais, utilizando-se o amostrador de ar MAS-100 (MERCK, Germany). O amostrador de ar foi colocado sobre a superfície de uma mesa, ou item similar da mobília, a cerca de 1,5 m de altura do piso.

Os meios de cultura empregados foram o agar padrão para contagem (PCA, Difco) e o agar extrato de malte (AEM, Difco) para a enumeração de heterótrofos totais e de bolores e leveduras, respectivamente. As placas de PCA e AEM foram encaminhadas ao laboratório para a realização da análise microbiológica imediatamente após a coleta. As placas de PCA foram incubadas a 35°C durante 48 horas e as de AEM, a 25°C por 3 a 5 dias. Após o período de incubação, foi realizada a enumeração das unidades formadoras de colônias (UFC), segundo a metodologia preconizada pela Resolução RE nº 09 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde, de 16/01/2003 (Brasil, 2003). O número de UFC enumeradas foi calculado com relação aos dados

obtidos com cada equipamento, de modo a oferecer resultados em UFC/m³ de ar coletado.

3.1.3 Determinação da Temperatura e da Umidade Relativa do Ar.

As medições de temperatura e umidade relativa do ar foram feitas com o auxílio de um termo-higrômetro digital, marca Instrutherm HT210. O aparelho foi acionado a cerca de 50 cm de distância do amostrador de ar e a leitura dos valores determinados foi feita ao final da coleta de cada amostra de ar.

3.2 Verificação do Desempenho dos Amostradores de Ar.

3.2.1 Avaliação da Influência da Vazão no Desempenho do Amostrador de Ar MAS-100.

Neste teste, foi utilizado um amostrador de Andersen de um estágio, com vazão de 28,3 L/min (preconizada pela legislação em vigor) e dois equipamentos de amostragem de ar modelo MAS-100 (Merck, Germany), sendo um dotado da vazão original, de 100 L/min, e outro com vazão alterada para 28,3 L/min. Estes três aparelhos foram colocados a 1 metro de distância um do outro e a aproximadamente 1,5 m do piso, em um ambiente climatizado de escritório localizado na região central da cidade do Rio de Janeiro - RJ. Procederam-se, então, 20 coletas (10 para heterótrofos totais e 10 para bolores e leveduras) de 100 L de ar com cada equipamento, sucessivamente.

Os meios de cultura empregados foram o agar padrão para contagem (PCA, Difco) e o agar extrato de malte (AEM, Difco) para a enumeração de heterótrofos totais e de bolores e leveduras, respectivamente. As placas foram incubadas e submetidas à contagem de colônias segundo a metodologia descrita em 3.1.2.

3.2.2 Comparação do Desempenho dos Amostradores de Ar MAS-100 e de Andersen.

Para a avaliação do desempenho dos amostradores de ar foram coletadas 50 amostras (25 para heterótrofos totais e 25 para bolores e leveduras), sucessivamente, ao longo de uma jornada de trabalho de 8 horas, no mesmo local descrito em 3.2.1.

Os amostradores de ar MAS-100 (Merck, Germany), com vazão de 100 L/min, e o amostrador de Andersen de um estágio (Andersen Instruments, Inc., Atlanta, Ga.), com vazão de 28,3 L/min, foram utilizados simultaneamente, sendo coletados 100 L de ar com o amostrador MAS-100, enquanto que o amostrador de Andersen, permitiu a coleta de aproximadamente 141,5 L de ar em 5 min. Os equipamentos foram colocados a 1 metro de distância um do outro e a aproximadamente 1,5 m do piso.

Os meios de cultura empregados, as condições de incubação e de determinação do número de UFC foram aquelas descritas no item 3.1.2.

3.3 Análise dos Dados Obtidos.

A técnica de ACP (Massart et al., 1997; Miller & Miller, 2000; Montgomery, 2001) foi utilizada neste trabalho devido à existência do enorme conjunto de dados obtidos. Usualmente, estes dados são colocados em tabelas com **n** linhas e **m** colunas, onde as linhas representam as amostras e as colunas representam as variáveis estudadas. Isto gera uma matriz de dados (**n x m**). Para facilitar a visualização dos resultados de tabelas, são utilizados, geralmente, gráficos. Entretanto, quando o número de variáveis é muito grande, o gráfico gerado tem um número muito grande de dimensões. Como não é possível desenhar um gráfico em mais de três dimensões, isto é, em um hiperplano, é necessário reduzir este número. Para isto, usamos a técnica ACP, que reduz o número de variáveis pela combinação linear das variáveis originais, projetando-as em novos eixos, chamados componentes principais (CP).

A direção do primeiro componente principal (CP1) é aquela que apresenta maior variância entre os dados da tabela original e de onde podemos tirar maiores informações sobre o conjunto de dados estudado. Os resíduos são expressos

num segundo eixo, ortogonal ao CP1, chamado segundo componente principal (CP2). Fazendo CP1 x CP2 obtemos um gráfico de duas dimensões de um conjunto de dados de m variáveis. O número máximo de CPs é igual ao *rank* da matriz ($n \times m$).

A projeção das amostras no plano definido por dois CPs, por exemplo, CP1 e CP2, pode ser observada num gráfico chamado *score plot*, muito usado quando há necessidade de determinar as diferenças no comportamento das amostras (objetos), no caso de um grande número de variáveis.

Sendo assim, a variável mais importante é aquela com maior *loading* no CP1. As informações nos *loadings* também podem ser colocadas em gráficos, chamados *loading plots*. A interpretação é baseada na direção em que as variáveis se apresentam neste gráfico.

A junção do gráfico de escores com o gráfico de *loadings* gera um *biplot*. Neste gráfico podemos observar as informações dos dois outros, além de verificar a influência das variáveis sobre as amostras.

Como é possível em duas dimensões visualizar combinações lineares de todas as variáveis, diz-se que esta técnica permite reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados, facilitando a obtenção de informações.

A técnica de análise por componentes principais (ACP) foi executada através do programa “Unscrambler, version 8.0, 2003”.

A sazonalidade e o perfil de cada ambiente, quanto aos resultados das análises microbiológicas, foram estudados pela confecção de gráficos através do programa Microsoft Office Excell, version 7.0, 1997.

3.4 Análises Microbiológicas Qualitativas Realizadas nos Ambientes Hospitalares.

3.4.1 Hospital.

Para este estudo foi escolhido um hospital público federal, de grande porte, compreendendo 5 unidades de terapia intensiva (neonatal, pediátrica, coronariana, centro de terapia intensiva de adultos e unidade intermediária de adultos), serviço de hemodiálise e unidade de transplante renal e hepático. Foram

feitas 4 coletas consecutivas de amostras com o intervalo de uma semana, em 12 pontos distintos, sendo: 2 no centro cirúrgico, 2 no berçário, 2 no centro de terapia intensiva (CTI) de adultos, 2 na enfermaria da nefrologia, 1 no CTI cardíaco, 1 na unidade intensiva (UI) da emergência, 1 no CTI pediátrico e 1 no CTI neonatal.

3.4.2 Coleta das Amostras.

3.4.2.1 De Ar.

Foram analisados 500 L de ar de cada ponto de coleta utilizando-se as técnicas de coleta por impactação, com o auxílio do amostrador de ar MAS-100 (MERCK, Germany), com o mesmo procedimento adotado para as análises quantitativas (3.1.2), e por sedimentação espontânea, com a exposição de placas de Petri pelo período de uma hora.

Durante o estudo do surto ocorrido no CTI deste hospital foram coletadas 8 amostras de ar, a cerca de 1 m de distância dos leitos dos pacientes, utilizando-se a mesma metodologia adotada nas coletas programadas que se realizaram anteriormente.

Os meios de cultura utilizados em todas as coletas foram: agar padrão para contagem (PCA, Difco), agar extrato de malte (AEM, Difco), agar infusão de cérebro e coração (BHI, Difco) adicionado de 5% de sangue de carneiro, agar cetrimide (AC, Merck) e agar manitol salgado (AMS, Merck).

3.4.2.2 Das Superfícies Durante o Surto no CTI.

Foram coletadas uma amostra da poeira do duto do sistema de ar condicionado central e 4 amostras das pias existentes na unidade, sendo duas amostras das torneiras e duas dos ralos destas pias.

A amostra da poeira do duto foi coletada com auxílio de uma espátula, retirando-se toda a sujeira encontrada junto à grelha de fechamento do duto de ar climatizado. O material colhido foi depositado em uma placa de Petri estéril que foi lacrada e, a seguir, levada ao laboratório.

As amostras das 2 pias da unidade foram coletadas com auxílio de suabes, os quais foram friccionados na superfície das torneiras e dos ralos, sendo

introduzidos logo a seguir em frascos contendo 10 mL do caldo de infusão de coração e cérebro (BHI, Difco).

3.4.3 Coleta e Análise das Amostras de Pacientes.

As amostras de material clínico dos pacientes foram coletadas segundo a rotina do hospital, de acordo com a norma interna do hospital em estudo sobre coleta e transporte de material para investigação bacteriológica.

Estas amostras foram encaminhadas para o laboratório do hospital em estudo, onde foram realizadas a identificação e o teste de sensibilidade a antimicrobianos das culturas isoladas. Estas culturas multirresistentes identificadas foram encaminhadas, posteriormente, ao Laboratório de Enterobactérias do Departamento de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/FIOCRUZ), visando a tipagem molecular pela técnica de PFGE.

3.4.4 Análises Microbiológicas Qualitativas.

3.4.4.1 Das Amostras de Ar.

As colônias isoladas em PCA, agar BHI com sangue de carneiro, agar cetrimide e agar manitol salgado foram selecionadas com base na sua morfologia, tamanho e pigmentação e, a seguir, transferidas para caldo BHI e incubadas a 35°C por 24 horas. Os crescimentos obtidos foram analisados morfo-tintorialmente pela coloração de Gram.

Culturas caracterizadas como bastonetes Gram negativos foram semeadas em agar Mac Conkey e agar cetrimide a fim de verificar a capacidade de crescimento de tais microrganismos bem como suas características morfológicas nestes meios, e em agar BHI. Após incubação a 35°C por 24 horas, os crescimentos obtidos em agar BHI foram testados pela prova de oxidação/fermentação (O/F) da glicose, mediante inoculação no meio de Hugh-Leifson (Difco) acrescido de 1% do carboidrato e submetidas ao teste de oxidase (Bactident Oxidase, Merck). As culturas que se apresentaram como fermentadoras da glicose e oxidase negativas foram então submetidas a provas bioquímicas complementares para a identificação das espécies, considerando-se os métodos convencionais de identificação e a nomenclatura descrita por

Koneman et al. (1997), Mac Faddin (2000) e Murray et al (2003). Foram também utilizados os sistemas miniaturizados Bac Tray I e II (Laborclin).

As colônias crescidas em agar Mac Conkey e agar cetrimide com morfologia colonial compatível com o gênero *Pseudomonas* foram triadas pelas provas de oxidação e fermentação (O/F) da glicose e prova da oxidase, conforme Koneman et al. (1997), Mac Faddin (2000) e Murray et al (2003). As culturas que se apresentaram como Gram negativas, não fermentadoras da glicose e oxidase positivas foram submetidas ao sistema Bac Tray III (Laborclin) para identificação das espécies.

As colônias selecionadas a partir dos meios de cultura primários, com morfologia semelhante a *S. aureus* e que se apresentaram como cocos Gram positivos foram testadas, preliminarmente, pelas provas de oxidação e fermentação (O/F) da glicose, da catalase e resistência à bacitracina (0,04U). As culturas fermentadoras da glicose, catalase positivas e resistentes à bacitracina foram, então, submetidas às provas de coagulase e DNase de acordo com as técnicas descritas por Koneman et al. (1997), Mac Faddin (2000) e Murray et al. (2003), além do teste de aglutinação em látex (Staphclin, Laborclin).

As colônias de bolores e de leveduras crescidas nas placas com o meio de cultura primário, AEM, foram encaminhadas ao Setor de Fungos de Referência do Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde - INCQS (Fiocruz), onde foram isoladas em tubos de AEM e agar Czapeck Dox (Difco) acrescido de extrato de levedura (Difco). As culturas de fungos isoladas foram identificadas com base nos aspectos da sua morfologia colonial e através dos métodos convencionais de microscopia ótica, considerando-se a nomenclatura descrita por Barron (1997), Klich & Pitt (1998) e Klich (2002).

3.4.4.2 Das Amostras de Superfície Coletadas Durante o Surto no CTI.

A poeira do duto do sistema de ar climatizado foi incorporada a 50 mL de caldo BHI e incubada a 35°C por 24 horas, juntamente com os tubos de caldo BHI originários da coleta de amostras da superfície das pias. Após o período de incubação, o crescimento microbiano obtido foi semeado nos mesmos meios de cultura utilizados nas coletas de amostras de ar para análise quantitativa (3.4.2.1),

os quais foram incubados a 35°C por 24 horas. As colônias obtidas nestes meios de cultura foram isoladas e identificadas segundo a mesma metodologia descrita para as amostras de ar em 3.4.4.1.

3.4.5 Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos.

Os testes de suscetibilidade a antimicrobianos foram realizados pelo método de difusão em agar, de acordo com as normas estabelecidas pelo “National Committee for Clinical Laboratory Standards” (NCCLS, 2003), atualmente denominado “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI). Para o controle dos testes foram utilizadas cepas padrão de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27953) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

Foram utilizadas placas de Petri de 150 mm de diâmetro, contendo agar Mueller-Hinton (Difco) em quantidade suficiente para a obtenção de uma camada de 4 mm de espessura. Estas placas foram deixadas entreabertas na câmara de fluxo laminar, por 5 minutos, para a completa eliminação da umidade residual.

A partir do cultivo das amostras em agar nutriente por 24 horas a 35°C, foram colhidas 3 a 5 colônias para a realização de suspensão em solução salina (0,85%). Alíquotas das suspensões obtidas foram ajustadas por espectrofotometria de modo a obter a densidade ótica recomendada de 0,08 a 0,1 no comprimento de 625 nm, correspondente ao tubo de 0,5 da escala de McFarland. As suspensões foram então espalhadas de modo uniforme, em três direções, com o auxílio de suabes, sobre a superfície do meio. Até 15 minutos após a semeadura, os discos de antimicrobianos foram colocados, com auxílio de pinça estéril, sobre o meio de cultura, incubando-se as placas a seguir, a 35°C pelo período de 18 horas.

Os antimicrobianos utilizados (Cefar Diagnóstica Ltda) e as respectivas concentrações, para cada espécie bacteriana, foram:

Para *Pseudomonas aeruginosa*: amicacina (30 µg), cefepima (30 µg), ceftazidima (30 µg), piperacilina/tazobactam (100/10 µg), ticarcilina/ácido clavulânico (75/10 µg), imipenema (10 µg), piperacilina (100 µg), gentamicina

(10µg), ciprofloxacina (5 µg), levofloxacina (5 µg), aztreonama (30 µg), cefoxitina (30 µg), cefalotina (30 µg), tobramicina (10 µg).

Para ***Serratia marcescens***: ampicilina (10 µg), ampicilina/sulbactam (10/10 µg), amoxicilina/ácido clavulânico (20/10 µg), piperacilina/tazobactam (100/10 µg), ticarcilina/ácido clavulânico (75/10 µg), cefuroxina sódica (30 µg), cefepima (30 µg), cefoxitina (30 µg), ceftriaxona (30 µg), imipenema (10 µg), gentamicina (10 µg), tobramicina (10 µg), trimetoprima/sulfametoxazol (1.25/23.75 µg), ciprofloxacina (5 µg), aztreonama (30 µg), piperacilina (100 µg), gatifloxacina (5 µg), amicacina (30 µg), ceftazidima (30 µg), levofloxacina (5 µg), cefotaxima (30 µg).

Para ***S. aureus***: amoxicilina/ácido clavulânico (20/10 µg), ampicilina (10 µg), ceftriaxona (30 µg), gentamicina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), trimetoprima/sulfametoxazol (1.25/23.75 µg), gatifloxacina (5 µg), cefazolina (30 µg), clindamicina (2 µg), eritromicina (15 µg), oxacilina (1µg), penicilina (10 UI), rifampicina (5 µg), levofloxacina (5 µg), vancomicina (30 µg), linezolida (30 µg) e tetraciclina (30 µg).

Para os estafilococos coagulase negativos: amoxicilina/ácido clavulânico (20/10 µg), ampicilina/sulbactam (10/10 µg), ampicilina (10 µg), ceftriaxona (30 µg), gentamicina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), trimetoprima/sulfametoxazol (1.25/23.75 µg), gatifloxacina (5 µg), cefazolina (30 µg), clindamicina (2 µg), eritromicina (15 µg), oxacilina (1µg), penicilina (10 UI), rifampicina (5 µg), levofloxacina (5 µg), vancomicina (30 µg), linezolida (30 µg) e tetraciclina (30 µg).

3.4.6 Tipagem Molecular.

As culturas de fontes diferentes, que apresentaram perfil de multirresistência a antimicrobianos, foram caracterizadas através da técnica de eletroforese de campo pulsado (PFGE). Estas análises foram realizadas no Laboratório de Enterobactérias do Departamento de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz, onde também foram analisadas as culturas originárias de pacientes (item 3.4.4).

Todos os ensaios de eletroforese foram feitos duas vezes a fim de se verificar a reprodutibilidade dos testes.

As amostras foram cultivadas em agar tripticase soja (TSA, Difco) e incubadas por 18 horas a 35°C. Com o crescimento microbiano assim obtido foi preparada uma suspensão em 500 µL de solução tampão (NaCl 1M; Tris-HCl 10 mM, pH 7,6) cuja turbidez foi ajustada ao tubo 3 da escala de McFarland. Esta suspensão foi adicionada a igual volume de agarose (SeaKem) a 2% e, após homogeneização, distribuída em moldes e deixada solidificar a 4°C por cerca de 15 minutos. Os blocos de agarose foram colocados em 1,0mL de solução de lise (Tris-HCl 6 mM, pH 7,6; NaCl 1M; EDTA 100 mM, pH 7,5; 0,5% de Brij 58; 0,5% de lauril sulfato de sódio e 1 mg de lisozima por mL) e incubados nessa solução por 2 horas a 37°C sob agitação suave. Após esse período, a solução de lise foi substituída por 1,0 mL de solução ESP (EDTA 0,5 M, pH 9,0 - 9,5; 1% de lauril sulfato de sódio e 0,1 mg de proteinase K por mL) e foi efetuada nova incubação por 18 horas a 50°C. A suspensão ESP foi então substituída por outra e incubada novamente nas mesmas condições.

Para a digestão do ácido nucleico cromossômico foi utilizada a enzima de restrição *Sma*I (Gibco) para *S. aureus*, *Spe*I (Gibco) para *P. aeruginosa* e *Serratia marcescens*. Para isto, os blocos foram lavados por cinco vezes com 3,5 mL de solução tampão TE (Tris-HCl 10 mM, pH 7,5 e EDTA 0,1) e incubados sob agitação leve a 37°C. As primeiras três lavagens foram de cerca de 20 a 30 minutos cada uma e as duas últimas lavagens, de 2 horas. Logo após, os blocos foram incubados por 30 minutos à temperatura de aproximadamente 25°C em uma solução contendo 200 µL de tampão de enzima (1 x). A seguir, o tampão de enzima foi removido e substituído por outro igual acrescido da enzima de restrição (10 U) por 3 horas a 30°C para *Sma*I e 37°C para *Spe*I. Posteriormente, esta solução foi removida, os blocos foram fundidos a 72°C e, finalmente, aplicados nos reservatórios de géis preparados com 1% de agarose em tampão TBE 0,5 x (Tris 0,89 M; EDTA 0,025 M e ácido bórico 0,89 M).

Os fragmentos de restrição foram separados em sistema de eletroforese de campo pulsado CHEF III (Bio Rad, USA). As condições de corrida para *P. aeruginosa* e *Serratia marcescens* consistiram de duas rampas em seqüência

(rampas **A** e **B**). A rampa **A** utilizou um tempo de pulso crescente de 0,5 a 25 segundos em um tempo de corrida de 20 horas e a rampa **B** utilizou um tempo de pulso crescente de 30 a 60 segundos em um tempo de corrida de 4 horas. Para **S. aureus** utilizaram-se 1 a 50 segundos por 23 horas. A voltagem foi de 6 V/cm e a temperatura foi mantida constante a 13°C. Os géis com os fragmentos de restrição obtidos foram corados com brometo de etídio durante 30 minutos. A seguir, foram descorados com água destilada por 1 a 2 horas.

As imagens obtidas nos géis foram visualizadas com auxílio de um transiluminador e fotografados sob luz ultravioleta e a interpretação destas imagens foi realizada por inspeção visual, seguindo os critérios de Tenover et al. (1995), apresentados no Quadro 4.

Os padrões das imagens obtidas foram analisados utilizando-se o programa “GelCompar II, version 1,50, 2000”.

Quadro 4 - Proposta de interpretação para as variações nos perfis dos fragmentos de DNA obtidos através de PFGE (Tenover et al.,1995).

Interpretação baseada nos resultados de tipagem	Nº de diferenças genéticas comparadas com o padrão da amostra predominante	Nº de fragmentos diferentes comparados com o padrão da amostra predominante
Indistinguíveis	0	0
Estreitamente relacionadas	1	2 - 3
Possivelmente relacionadas	2	4 - 6
Diferentes	3	> 7

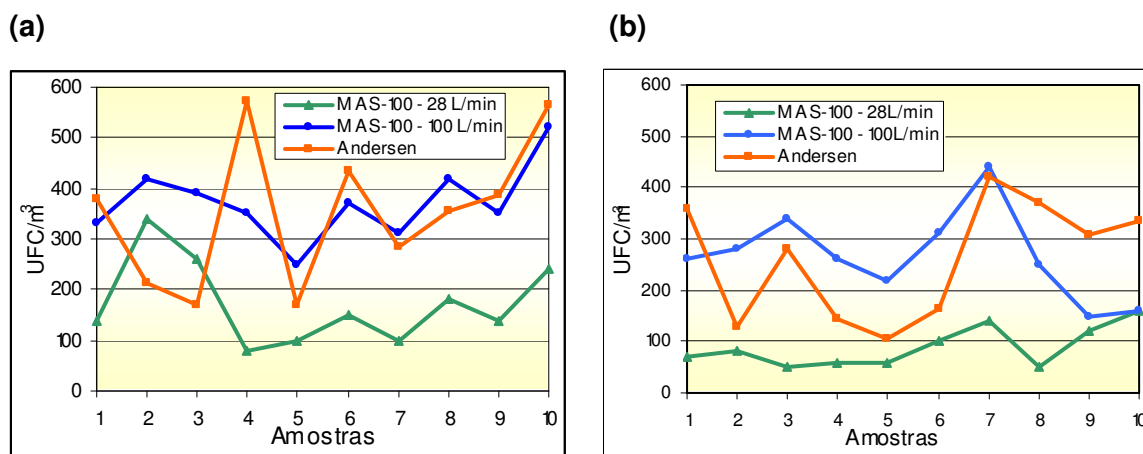
3.4.7 Pesquisa de Dados Acessórios.

Estes dados foram coletados retrospectivamente através de busca junto à Comissão de Controle de Infecção Hospitalar do hospital em estudo (data da coleta da amostra, material encaminhado para análise, setor do hospital onde foi coletada a amostra; resultado do teste de sensibilidade a antimicrobianos das culturas isoladas do material clínico, locais onde o paciente esteve internado).

4 RESULTADOS

A avaliação da influência da vazão (100 L/min e 28,3 L/min) no desempenho do amostrador de ar MAS-100 (Fig. 1) demonstrou que o amostrador MAS-100 teve melhor desempenho quando a vazão adotada foi a de 100 L/min, tanto para a contagem de heterótrofos totais quanto para a de bolores e leveduras.

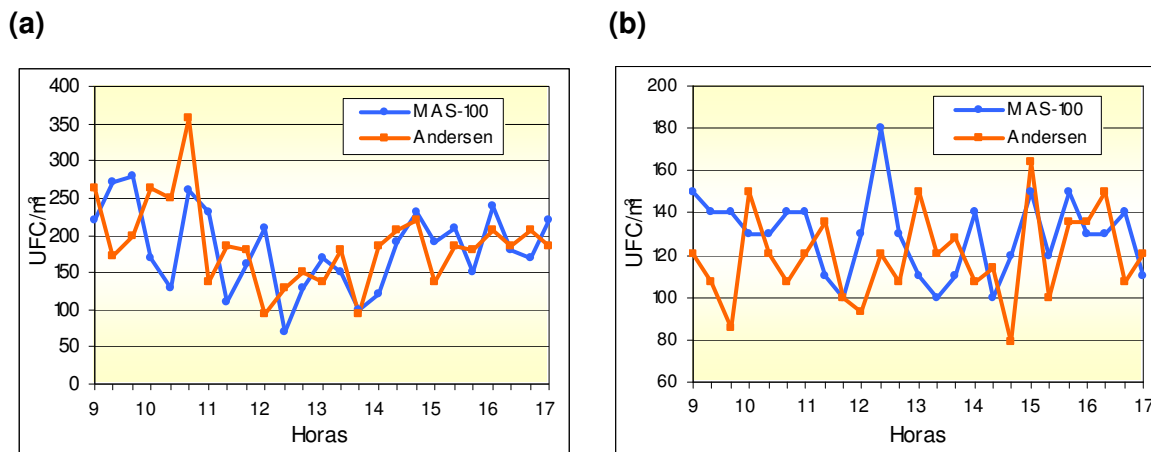
Figura 1 - Resultados obtidos para as amostras coletadas simultaneamente com os equipamentos MAS-100, MAS-100 com vazão alterada e de Andersen, quanto à enumeração de heterótrofos totais (a), e de bolores e leveduras (b).



Os dados obtidos nos testes com os dois equipamentos de amostragem (MAS-100, com a vazão original, e de Andersen) estão descritos na Fig. 2. Pode-se notar nesta Figura que, apesar dos resultados não serem pontualmente iguais, de um modo geral, os valores encontrados flutuaram na mesma faixa de variação durante todo o período de amostragem. Os resultados obtidos para os heterótrofos totais (Fig. 2a) com ambos os aparelhos, apresentaram a mesma tendência demonstrada nas contagens de bolores e leveduras (Fig. 2b).

Deste modo, considerando que a diferença de vazão entre os equipamentos não afetou os resultados dos testes, os dados obtidos puderam ser avaliados em relação ao padrão estabelecido pela legislação.

Figura 2 - Resultados obtidos para as amostras coletadas simultaneamente com os equipamentos de coleta de amostras de ar MAS-100 e de Andersen, quanto à enumeração de heterótrofos totais (a) e de bolores e leveduras (b).



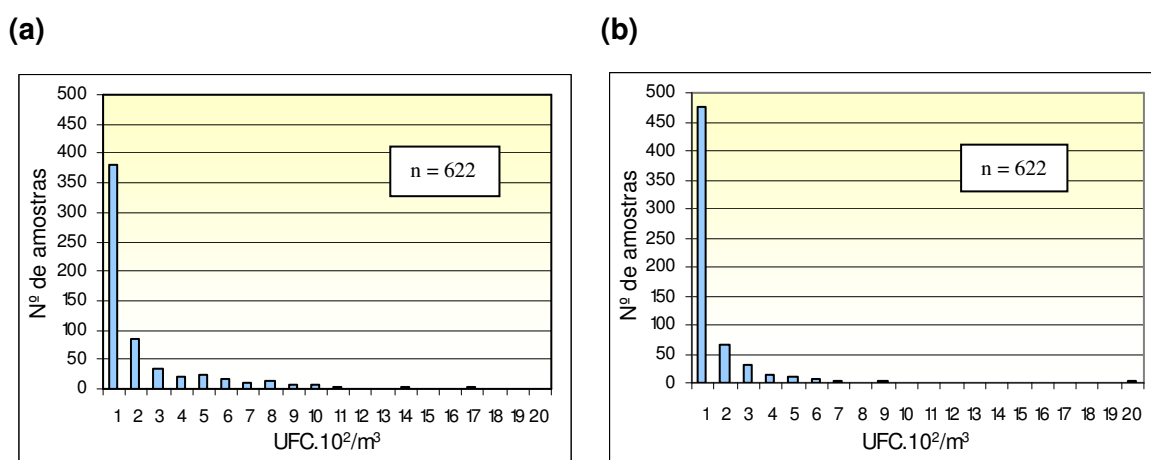
Ainda com relação a este teste, observou-se que os resultados das contagens de fungos flutuaram na mesma faixa de variação durante toda a jornada de trabalho (Fig. 2b).

Entretanto, notou-se a diminuição gradativa do número de heterótrofos totais durante o período da manhã, chegando a valores mínimos em torno do horário de almoço. Este número voltou a elevar-se gradativamente no período da tarde atingindo o seu máximo ao final do horário de expediente (Fig. 2a).

A distribuição da quantidade de resultados obtidos em classes de 100 UFC deu origem aos gráficos apresentados nas Figuras 3 a 6. Estes gráficos permitem observar perfis de comportamento diferenciados entre os diversos ambientes estudados. É possível detectar também nestas Figuras, diferenças entre os resultados obtidos para heterótrofos totais e para bolores e leveduras em um mesmo tipo de ambiente.

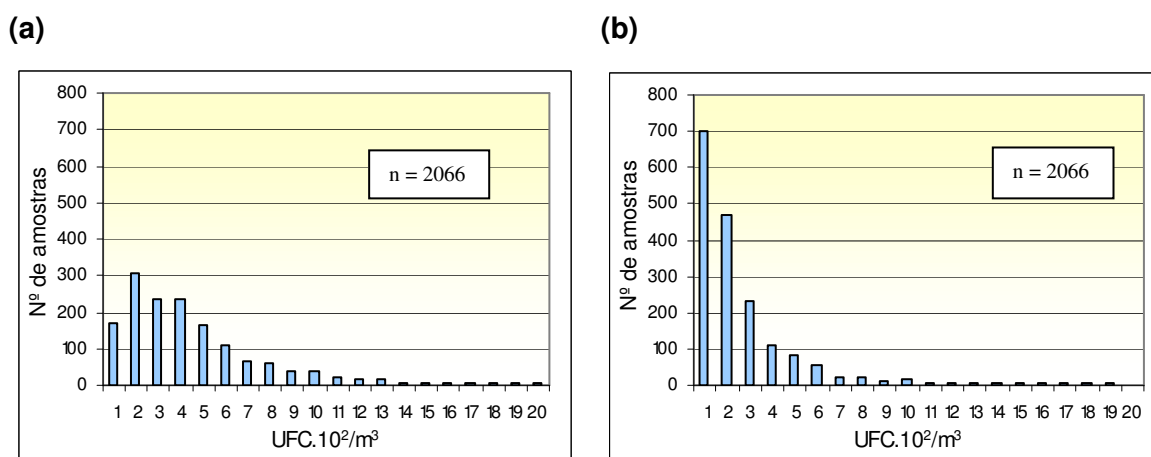
Os ambientes de indústrias (Fig. 3a e 3b) foram os que revelaram menores índices de contaminação, o que se percebe pelo fato de que a maioria das amostras teve resultados entre zero e 100 UFC/m³.

Figura 3 - Frequência de distribuição de heterótrofos totais **(a)** e de bolores e leveduras **(b)** em amostras de ambientes de indústrias (classes de 100 UFC/m³).



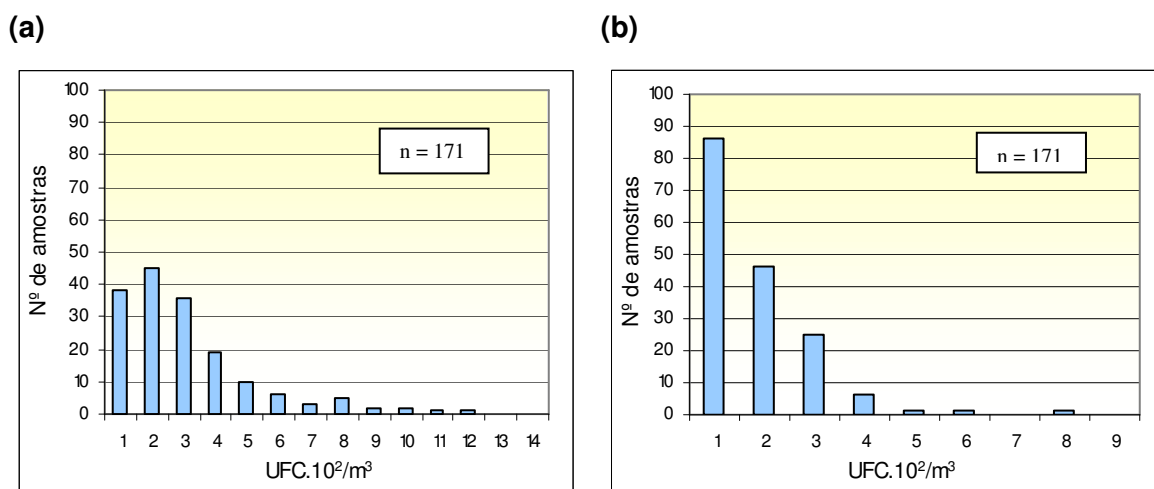
Nos gráficos dos ambientes de escritórios (Fig. 4a e 4b), pode-se notar uma maior distribuição das amostras entre as classes dos gráficos, principalmente com relação aos heterótrofos totais, com as médias dos resultados em torno de 300 UFC/m³.

Figura 4 - Frequência de distribuição de heterótrofos totais **(a)** e de bolores e leveduras **(b)** em amostras de ambientes de escritórios (classes de 100 UFC/m³).



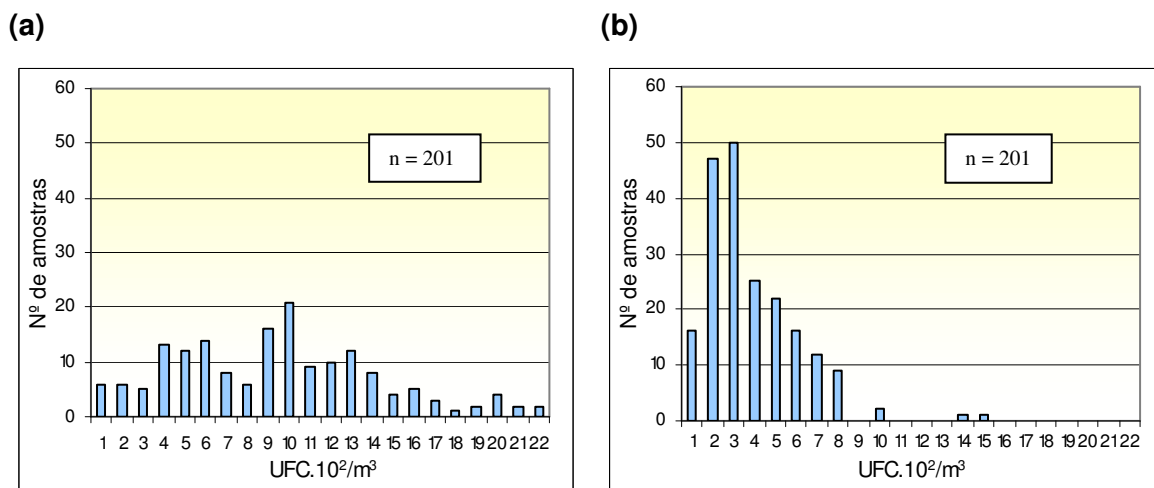
Este comportamento se repete nos hospitais (Fig. 5a e 5b), com as médias dos resultados em torno de 200 UFC/m³.

Figura 5 - Frequência de distribuição de heterótrofos totais **(a)** e de bolores e leveduras **(b)** em ambientes de hospitais (classes de 100 UFC/m³).



Quanto aos ambientes de *shopping centers* (Fig. 6) a distribuição dos bolores e leveduras apresentou uma tendência de aproximar-se da normal, com as médias dos resultados novamente em torno de 300 UFC/m³ (Fig. 6b). No que tange aos heterótrofos totais, entretanto, pode-se verificar que as amostras estudadas encontram-se muito mais distribuídas pelas classes do gráfico do que nos demais tipos de ambientes anteriormente citados, com a média dos resultados em torno de 1000 UFC/m³ (Fig. 6a).

Figura 6 - Frequência de distribuição de heterótrofos totais **(a)** e de bolores e leveduras **(b)** em ambientes de *shopping centers* (classes de 100 UFC/m³).



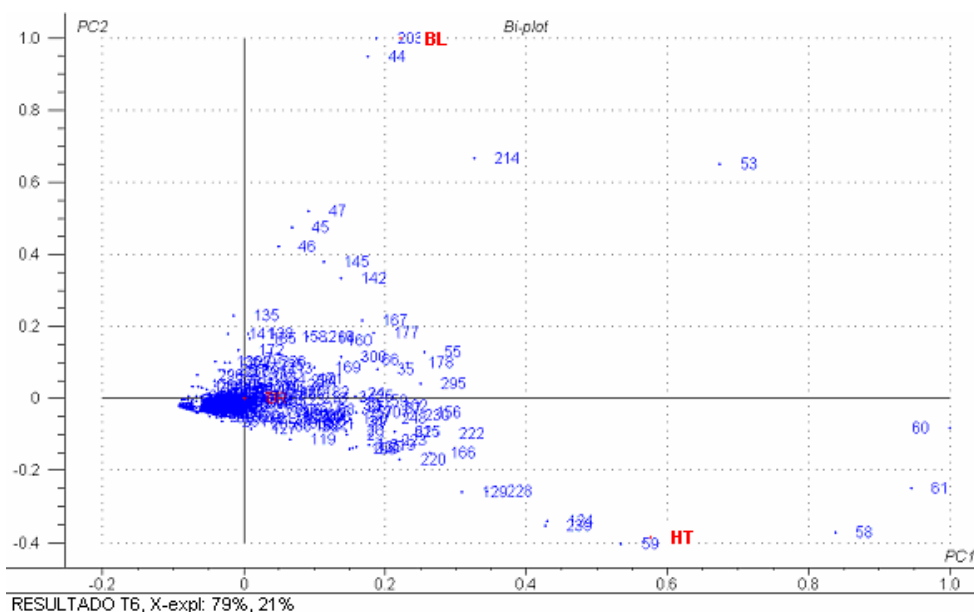
Por outro lado, os gráficos obtidos pela técnica de ACP (Fig. 7) permitem observar a distribuição das amostras em espaço bidimensional e puderam demonstrar que tal distribuição, em todos os ambientes estudados, é bastante homogênea.

Nos gráficos obtidos (Fig. 7) foi possível observar, ainda, que as amostras se distribuem basicamente segundo 3 padrões: amostras com alta concentração de heterótrofos totais e baixa concentração de fungos; amostras com alta concentração de fungos e baixa concentração de heterótrofos totais e amostras com baixas concentrações de heterótrofos totais e de fungos.

Observaram-se poucas amostras para as quais as concentrações de heterótrofos totais e de bolores e leveduras foram elevadas ao mesmo tempo, não chegando a constituir um quarto padrão.

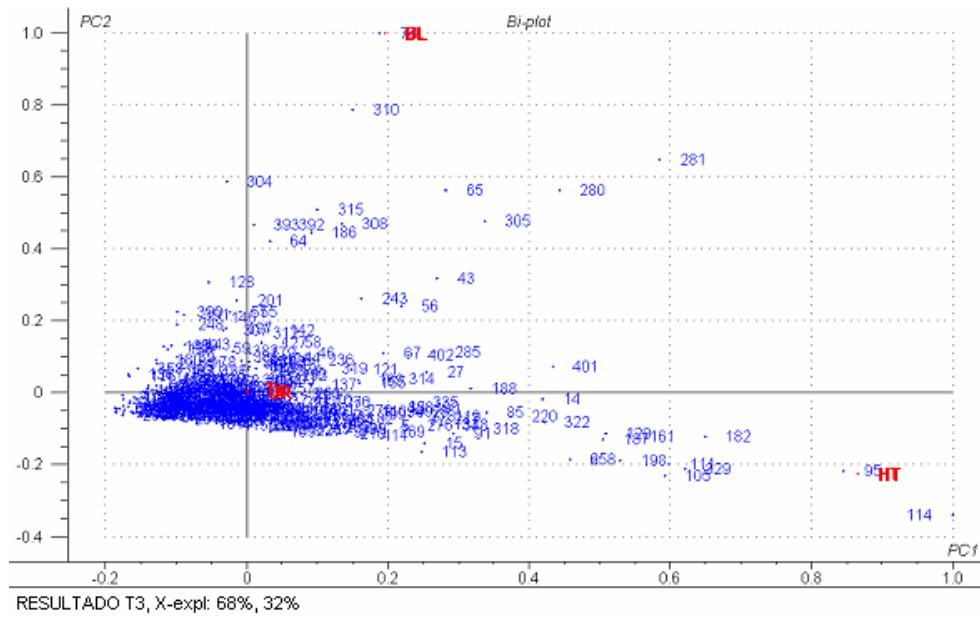
Figura 7 - Gráficos de ACP para cada tipo de ambiente estudado (escritórios, indústrias, hospitais e *shopping centers*), em função das variáveis bolores e leveduras, heterótrofos totais, temperatura e umidade relativa.

Indústrias – CP1 x CP2



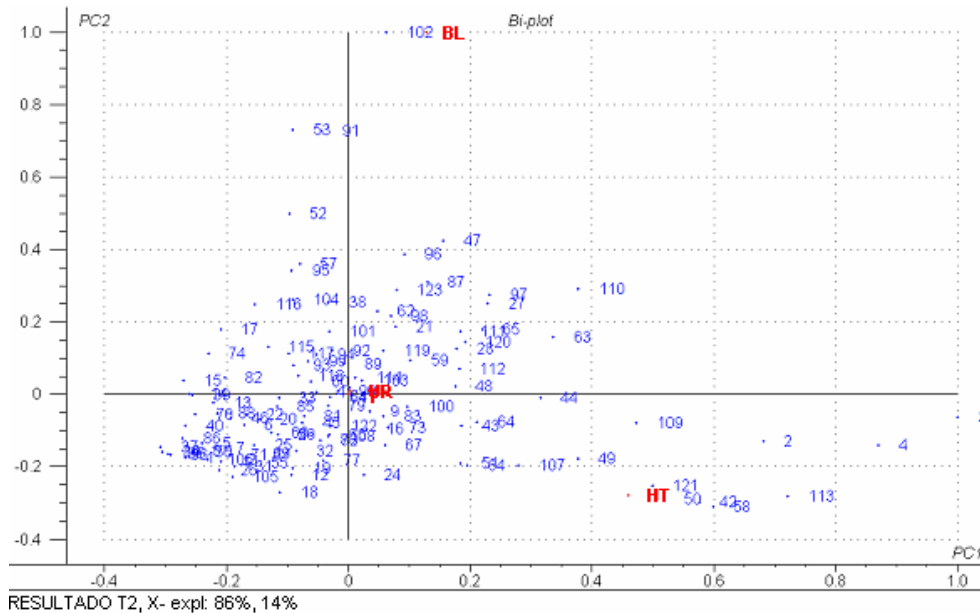
T: temperatura; UR: umidade relativa; BL: bolores e leveduras; HT: heterótrofos totais.

Escritórios – CP1 x CP2



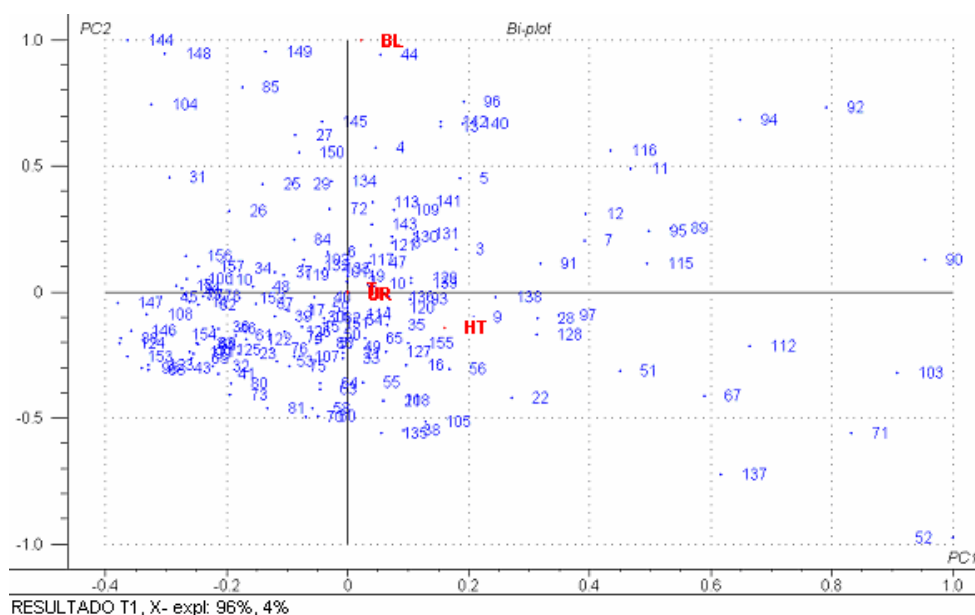
T: temperatura; UR: umidade relativa; BL: bolores e leveduras; HT: heterótrofos totais.

Hospitais – CP1 x CP2



T: temperatura; UR: umidade relativa; BL: bolores e leveduras; HT: heterótrofos totais.

Shoppings centers – CP1 x CP2



T: temperatura; UR: umidade relativa; BL: bolores e leveduras; HT: heterótrofos totais.

Algumas destas amostras estão citadas no Quadro 5 e podem ser encontradas nos gráficos da Fig. 7 sempre distanciadas dos fatores estudados, que se apresentam também projetados nos gráficos (heterótrofos totais, bolores e leveduras, temperatura e umidade relativa).

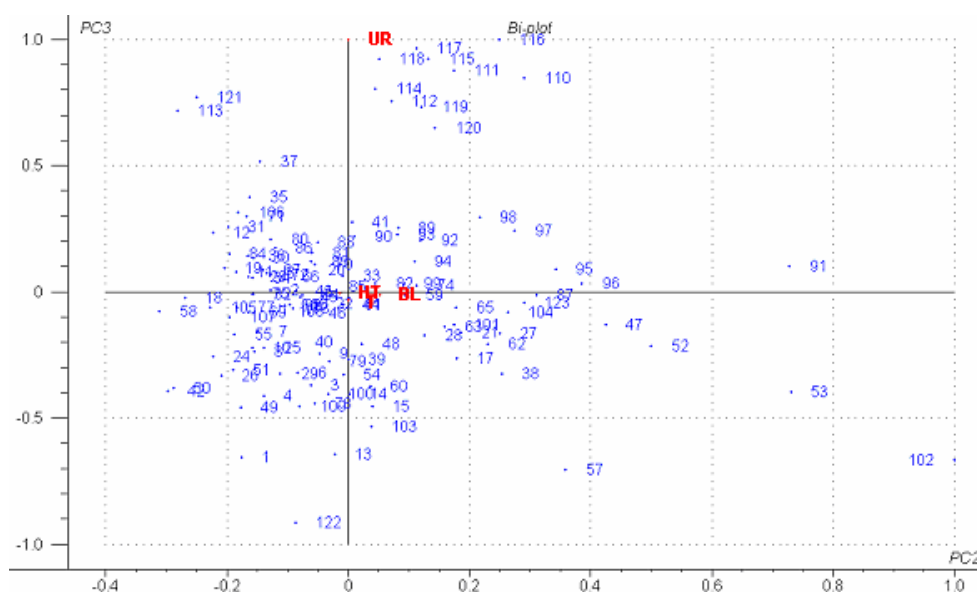
Quadro 5 - Exemplos de amostras segundo os padrões de distribuição nos gráficos de APC para os diferentes ambientes estudados (Figura 7: CP1 x CP2).

Padrões de distribuição	Indústrias	Escritórios	Hospitais	Shopping Centers
HT ↑ e BL ↓	58, 59, 60, 61	105, 1314	2, 3, 4, 113	52, 71, 90, 103
HT ↓ e BL ↑	44, 203, 214	195, 378	53, 91, 102	44, 144, 148, 149
HT ↓ e BL ↓	119, 169	296, 571	16, 89	10, 47, 117, 120
HT ↑ e BL ↑	53	197	—	11, 92, 94, 116

HT- Heterótrofos totais, BL – Bolores e leveduras; ↑ - Valor elevado; ↓ - Valor baixo.

A técnica de APC revelou ainda que, nas amostras estudadas, a temperatura e a umidade relativa do ar não demonstraram influência sobre as contagens de microrganismos, exceto para poucas amostras de ambientes hospitalares, conforme pode ser visto na parte central e superior da Fig. 8 (amostras n^{os}: 110, 111, 112, 114, 115, 117, 118, 119 e 120).

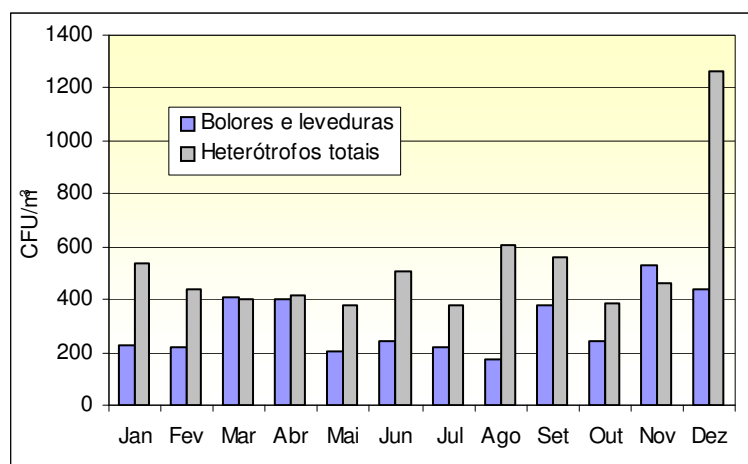
Figura 8 - Influência da temperatura e da umidade sobre as amostras n^{os}: 110 a 112 e 114 a 120, de ambientes hospitalares: (CP2 x CP3).



T: temperatura; UR: umidade relativa; BL: bolores e leveduras; HT: heterótrofos totais.

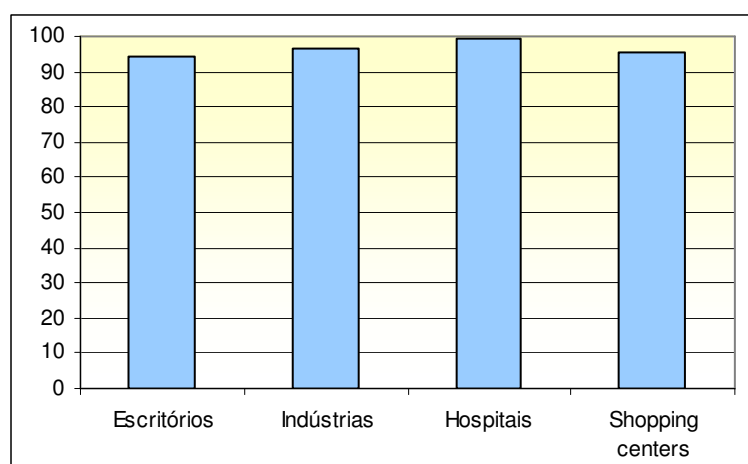
Com relação aos gráficos obtidos pela distribuição das médias dos números de heterótrofos totais e de bolores e leveduras referentes aos ambientes de escritório, nos anos de 1998, 1999 e 2000, ao longo dos meses (Fig. 9), foi possível notar valores mais elevados no mês de dezembro, para os heterótrofos totais e nos meses de março, abril, setembro, novembro e dezembro, para os bolores e leveduras.

Figura 9 - Médias mensais das contagens de heterótrofos totais e de bolores e de leveduras entre os anos de 1998-2000.



No entanto, considerando-se a legislação em vigor, os percentuais de amostras aprovadas ou reprovadas nos ambientes de escritórios, indústrias, hospitais e de *shopping centers* estão descritos na Fig. 10. Os resultados mostraram que 94,3%, 96,5%, 99,4% e 95,2% das amostras analisadas, respectivamente, apresentaram valores abaixo do limite máximo estabelecido, pela legislação em vigor (750 UFC/m³).

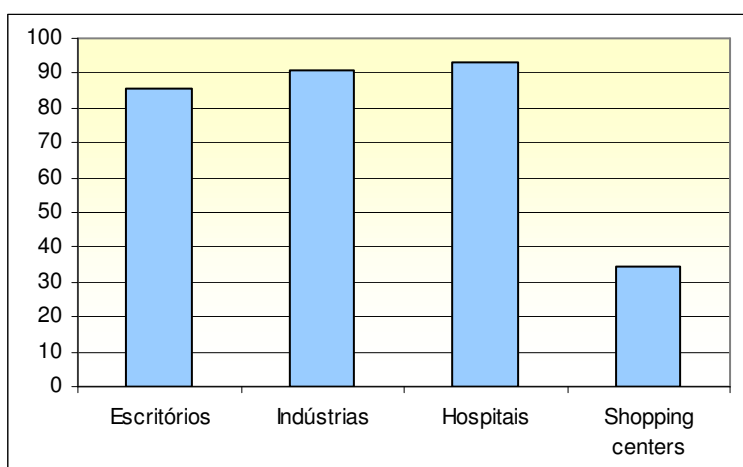
Figura 10 - Percentual de amostras aprovadas, por tipo de ambiente, segundo a legislação vigente no Brasil.



Caso este parâmetro fosse válido também para o número de heterótrofos totais, poder-se-ia dizer então que 85,6% dos ambientes de escritórios, 90,8% das

amostras obtidas em ambientes de indústria e 93,1% das amostras de hospitais estariam de acordo com a legislação. Entretanto, apenas 34,4% dos locais avaliados em *shoppings* estariam de acordo com o padrão originalmente estabelecido para bolores e leveduras (Fig. 11).

Figura 11 - Percentual de amostras aprovadas, por tipo de ambiente, caso o parâmetro adotado pela legislação vigente no Brasil fosse válido também para heterótrofos totais.

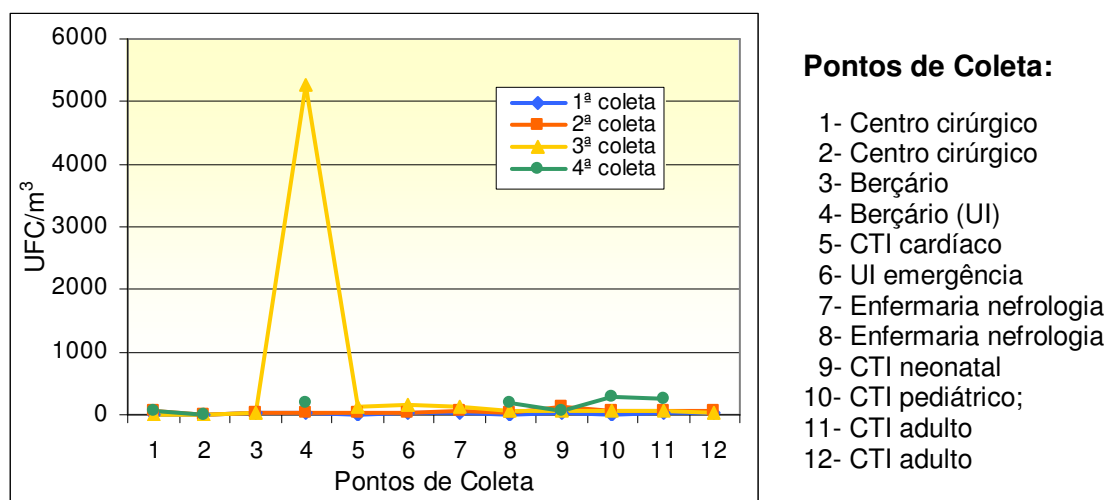


No que se refere ao hospital escolhido para a pesquisa de patógenos no ar climatizado, a Fig. 12 apresenta as freqüências de bolores e leveduras nas quatro coletas realizadas, em cada um dos 12 pontos amostrados, utilizando-se o amostrador de ar MAS-100. Nesta Figura pode-se notar que as freqüências de bolores e de leveduras demonstraram-se muito uniformes, exceto em 5 culturas (uma da 3ª coleta e quatro da 4ª coleta) com contagens discrepantes, nas quais obtivemos valores $\geq 5 \times 10^3$ UFC/m³, todas as demais culturas apresentaram resultados muito baixos.

Convém relatar que, em algumas placas de Petri da quarta semana de coleta, houve crescimento excessivo de fungos filamentosos que tomaram toda a superfície das placas, impedindo, assim, a contagem das colônias.

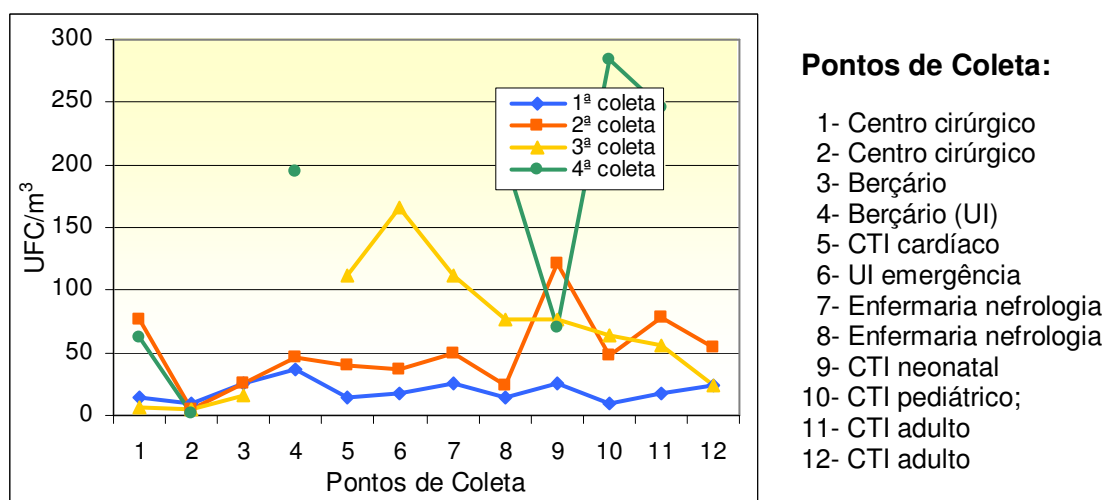
Deste modo, a Fig. 12 apresenta a freqüência de bolores e leveduras por ponto de amostragem nas 4 semanas consecutivas, com exceção dos pontos da quarta semana para os quais não houve contagem (pontos: 3, 5, 6, 7 e 12).

Figura 12 - Frequências de bolores e leveduras por ponto de amostragem nas amostras de ambientes hospitalares coletadas com o amostrador MAS-100.



Excluindo-se, ainda, o resultado discrepante da terceira semana de coleta que apresentou 800 UFC/m³ (ponto 4: UI do berçário), torna-se possível avaliar melhor os demais resultados, conforme apresentado na Fig. 13.

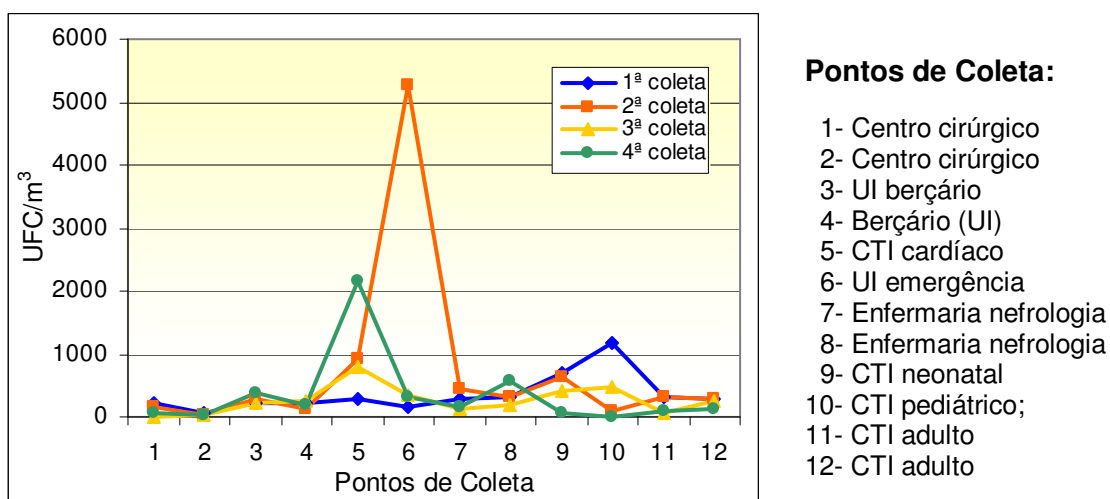
Figura 13 - Frequências de bolores e leveduras por ponto de amostragem, excluindo-se o ponto 4 (3ª coleta), nas amostras coletadas de ambientes hospitalares com o amostrador MAS-100.



Neste gráfico foi possível evidenciar que, de um modo geral, as contagens de bolores e leveduras apresentaram números baixos. Apenas alguns locais apresentaram valores elevados em relação aos demais, como na 2ª coleta, pontos 1, 9 e 11, e na 3ª coleta, pontos 5 a 11.

A Fig. 14 permite evidenciar a tendência de se encontrar contagens mais elevadas de heterótrofos totais do que de bolores e leveduras. De fato, os heterótrofos totais apresentaram números superiores aos de bolores e leveduras em 37 das 48 amostras coletadas, ou seja, em aproximadamente 77% das amostras.

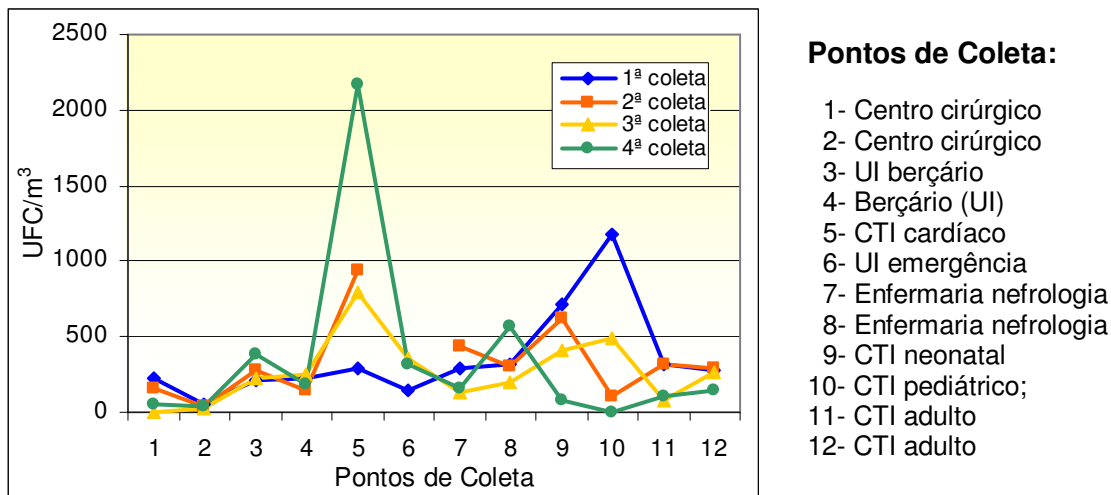
Figura 14 - Frequências de heterótrofos totais por ponto de amostragem, nas amostras coletadas de ambientes hospitalares com o amostrador MAS-100.



Pode-se, ainda, verificar alguns picos de contagens de microrganismos, sendo três deles no CTI cardíaco (2ª, 3ª e 4ª coletas), um na unidade intensiva da emergência (2ª coleta) e um no CTI pediátrico (1ª coleta).

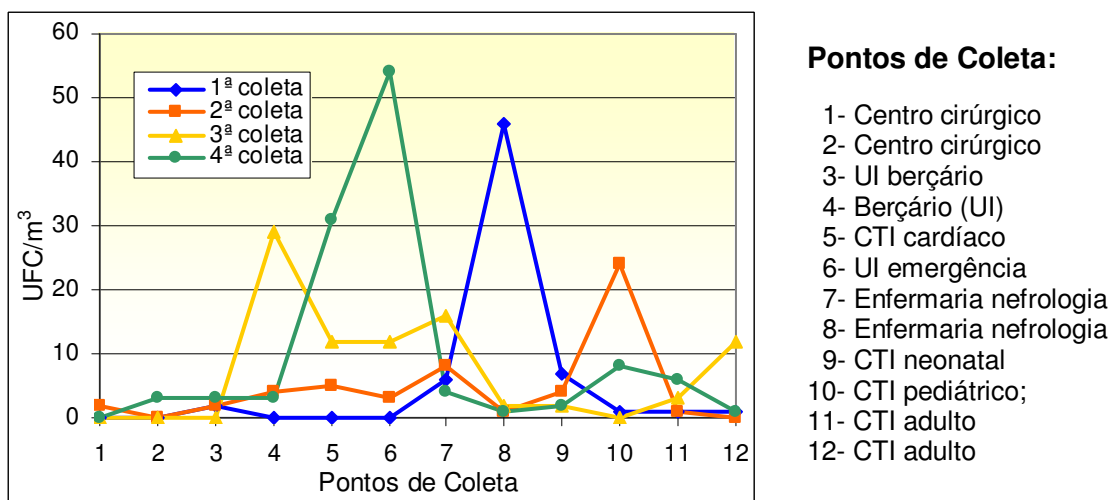
Retirando-se a amostra discrepante da segunda coleta, que equivale ao ponto 6 (centro cirúrgico), torna-se possível visualizar melhor a variação dos resultados das contagens de heterótrofos totais além de evidenciar outros picos expressivos, como nos pontos 8, da 4ª coleta, 9 e 10, da 2ª coleta (Fig. 15).

Figura 15 - Freqüências de heterótrofos totais por ponto de amostragem, excluindo-se o ponto 6 (2ª coleta), nas amostras coletadas de ambientes hospitalares com o amostrador MAS-100.



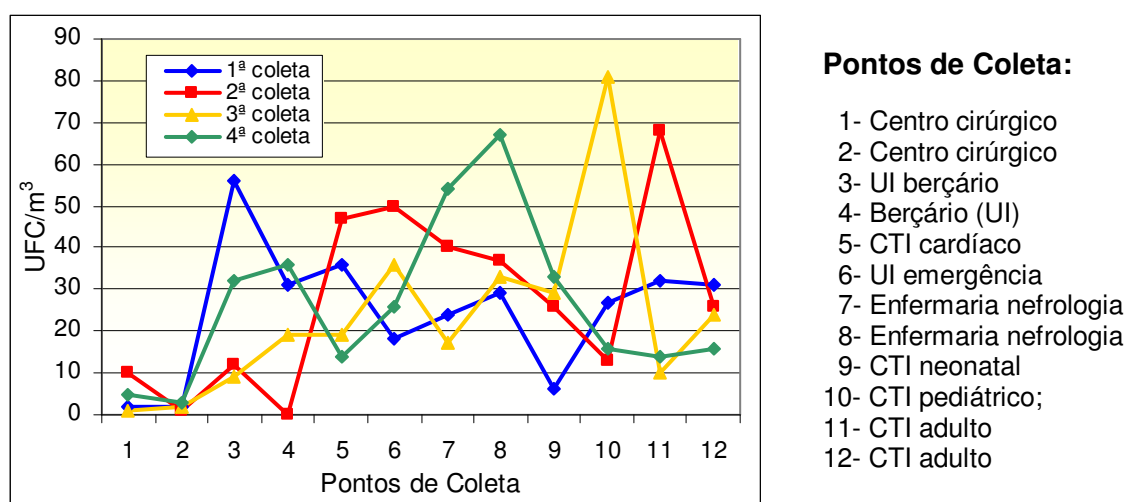
Com relação à coleta de amostras pela técnica de exposição de placas, apesar desta não ter sido usada com o propósito de análise quantitativa, permitiu-nos verificar que os números por ela gerados são, de um modo geral, muito inferiores aos obtidos com o uso do amostrador de ar, tanto para bolores e leveduras (Fig. 16) como para heterótrofos totais (Fig. 17).

Figura 16 - Freqüências de bolores e leveduras por ponto de amostragem, nas amostras coletadas de ambientes hospitalares por exposição de placas.



Notou-se ainda uma grande variação nos resultados de maneira similar ao observado na técnica de coleta com o uso de amostrador de ar ou ainda nos resultados dos testes de comparação do desempenho dos amostradores de ar.

Figura 17 - Frequências de heterótrofos totais por ponto de amostragem, nas amostras coletadas de ambientes hospitalares por exposição de placas.



Das 48 amostras de ar coletadas, 24 foram positivas para espécies do gênero *Aspergillus*, (50% das amostras). No entanto, torna-se necessário destacar que a 4ª coleta teve seus resultados prejudicados pelo crescimento excessivo de um fungo, o que impediu a avaliação adequada destas amostras.

O Quadro 6 apresenta as espécies do gênero *Aspergillus* segundo o local de isolamento e a semana de coleta correspondente. Como pode ser observado neste Quadro, não foram detectados fungos do gênero *Aspergillus* na UI da emergência.

A análise qualitativa das amostras de ar, visando o isolamento de fungos do gênero *Aspergillus*, permitiu o isolamento de 67 culturas do gênero *Aspergillus*, classificadas em 10 tipos morfológicos diferentes. Destas culturas, 8 foram classificadas posteriormente nas seguintes espécies: *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. terreus*, *A. versicolor*, *A. tamaritii*, *A. carneus* e *A. sidowii*. Duas culturas morfológicamente distintas não foram passíveis de

enquadrar em qualquer das espécies conhecidas, sendo citadas como ***Aspergillus sp.***

Quadro 6 - Espécies de fungos do gênero ***Aspergillus*** isoladas conforme o ponto de amostragem na unidade hospitalar em estudo.

Origem	Espécies isoladas			
	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta	4ª coleta
Centro cirúrgico 1	<i>A. fumigatus</i>	<i>A. niger</i> <i>A. flavus</i> <i>A. carneus</i>	ND	<i>A. niger</i>
Centro cirúrgico 2	ND	<i>A. flavus</i>	<i>A. fumigatus</i>	ND
Berçário 1	<i>A. versicolor</i>	ND	<i>A. niger</i>	ND
Berçário 2 (UI)	<i>A. tamarii</i> <i>A. flavus</i> <i>A. fumigatus</i>	<i>A. niger</i> <i>Aspergillus spp.</i>	<i>A. tamarii</i> <i>A. versicolor</i> <i>A. sidowii</i>	ND
CTI cardíaco	<i>A. fumigatus</i> <i>Aspergillus spp.</i>	<i>A. fumigatus</i> <i>A. sidowii</i>	ND	ND
UI da emergência	ND	ND	ND	ND
Enfermaria da nefrologia 1	<i>A. niger</i>	<i>A. niger</i>	ND	ND
Enfermaria da nefrologia 2	ND	<i>A. niger</i> <i>A. fumigatus</i>	<i>A. niger</i> <i>A. sidowii</i>	ND
CTI neonatal	<i>Aspergillus spp.</i>	<i>A. niger</i>	<i>A. niger</i> <i>A. carneus</i>	ND
CTI pediátrico	<i>A. fumigatus</i> <i>A. sidowii</i>	ND	ND	ND
CTI adultos 1	<i>A. niger</i>	ND	<i>A. niger</i> <i>Aspergillus spp.</i>	ND
CTI adultos 2	<i>A. terreus</i>	<i>A. niger</i>	<i>A. niger</i>	<i>A. niger</i>

UI - unidade intermediária; CTI - centro de terapia intensiva de adultos; ND - não detectado.

Das 67 culturas de ***Aspergillus***, 60 foram isoladas pela técnica de amostragem por impactação, ou seja, pelo uso do amostrador de ar. Assim, apenas 7 destas culturas foram isoladas pela técnica de exposição de placas demonstrando que, ao contrário do que foi reportado para a detecção de espécies de bactérias, a técnica de sedimentação espontânea não tem bom desempenho para a pesquisa de diferentes espécies de fungos.

Foram identificadas ainda 3 culturas da espécie ***Candida parapsylosis***, a partir das amostras do ar do CTI cardíaco, da enfermaria da nefrologia e do centro cirúrgico.

Com relação às espécies bacterianas, foram isoladas 5 culturas de ***Staphylococcus aureus***, 5 culturas de ***Pseudomonas aeruginosa*** e 27 culturas de ***Serratia marcescens***.

Os locais de isolamento, as coletas correspondentes e o perfil de sensibilidade a antimicrobianos das culturas de ***S. marcescens***, ***P. aeruginosa*** e ***S. aureus*** estão descritos nos Quadros 7, 8 e 9, respectivamente.

Com relação às culturas de ***S. marcescens*** isoladas de amostras de ar, foram escolhidas 12 cepas para serem submetidas à tipagem pela técnica de PFGE, com base nos perfis de resistência aos antimicrobianos, juntamente com 5 cepas de origem humana (n^{os} 1P a 5P), com o objetivo de determinar o grau de similaridade genética com as amostras oriundas dos pacientes do hospital em estudo.

Algumas informações sobre as culturas isoladas de pacientes, selecionadas para serem submetidas à tipagem pela técnica de PFGE em função dos agentes encontrados nas amostras de ar, estão apresentadas no Quadro 7.

Quadro 7 - Características das culturas provenientes de material clínico.

Cultura	Data da coleta	Local	Material clínico	Identificação do agente
1P	07. 02. 2003	UC	Sangue	<i>S. marcescens</i>
2P	25. 03. 2003	CTI de Adultos	Urina	<i>S. marcescens</i>
3P	NE	NE	NE	<i>S. marcescens</i>
4P	03. 12. 2003	Enferm. CM	Secreção de pele	<i>S. marcescens</i>
5P	24. 12. 2003	CTI de Adultos	Secreção traqueal	<i>S. marcescens</i>
6P	23. 02. 2003	Enferm. Clín. Médica	Urina	<i>P. aeruginosa</i>
7P	20. 03. 2003	UI Emerg.	Urina	<i>P. aeruginosa</i>
8P	26. 02. 2003	CTI de Adultos	Sangue	<i>S. aureus</i>
9P	11. 02. 2003	Ambulatório	Urina	<i>S. aureus</i>
10P	NE	Hemodiálise	NE	<i>S. aureus</i>
11P	26.05.2003	UTR	Secreção de ferida	<i>S. aureus</i>

CTI - centro de terapia intensiva; UC - unidade coronariana; UI - unidade intermediária; CM - clínica médica; UTR - unidade de transplantes renais; NE - não especificado.

No Quadro 8, o teste de sensibilidade a antimicrobianos das culturas de **S. marcescens** permitiu observar que culturas de perfis de resistência muito similares foram encontradas em diferentes locais do hospital e também em períodos diferentes como, por exemplo: na 2ª coleta – as culturas de n^{os} 115, 146, isoladas do centro cirúrgico e da unidade intermediária da emergência são idênticas; na 4ª coleta – as culturas de n^{os} 396 (unidade intermediária do berçário) e 411 (centro cirúrgico), são idênticas, enquanto o perfil de resistência da cultura de n^o 366 (centro cirúrgico) difere das outras duas na resposta a apenas um antimicrobiano.

Outro exemplo importante refere-se às amostras de n^{os} 4s, 7s, 9s, 14s, 1s isoladas a partir das coletas de amostras de ar realizadas durante o surto ocorrido no hospital. Neste caso, as culturas de n^{os} 4s e 7s, isoladas nas proximidades dos leitos 2 e 3 do CTI, respectivamente, possuem perfis de resistência a antimicrobianos muito semelhantes. Do mesmo modo, as culturas 9s, 14s e 1s, isoladas das proximidades dos leitos 1, 3 e 2 do CTI, respectivamente, apresentam perfis de resistência similares, diferindo apenas na resposta a dois antimicrobianos.

Das culturas de **P. aeruginosa** isoladas (Quadro 9), duas, originárias da unidade intermediária da emergência e do CTI de adultos (n^{os} 49 e 54) apresentaram perfis de multirresistência aos antimicrobianos testados. Estas duas culturas, assim como a cultura n^o 55, também isolada do CTI de adulto, foram selecionadas para serem submetidas à técnica de tipagem molecular, juntamente com as duas isoladas de pacientes apresentadas no Quadro 7 (n^{os} 6P e 7P).

Quanto às culturas de **S. aureus** isoladas (Quadro 10), apenas a de n^o 10, do CTI de adultos, apresentou significativa resistência aos antimicrobianos testados e por isso foi submetida a tipagem molecular pela técnica de PFGE, juntamente com a cultura de n^o 221, isolada do CTI pediátrico, e quatro culturas de origem humana (Quadro 7, n^{os} 8P a 11P).

Foram isoladas ainda 128 cepas de estafilococos coagulase negativos entre as quais 7 tiveram suas espécies identificadas durante a pesquisa e identificação das culturas de **S. aureus**. Estas cepas de estafilococos coagulase negativas foram identificadas como pertencentes às espécies **S. haemolyticus** (2

cepas), **S. sciuri** (2 cepas), **S. cohnii** (2 cepas) e **S. capitis** (1 cepa). Com exceção apenas da cepa de **S. capitis**, todas as demais se apresentaram como multirresistentes (Quadro 11).

No que se refere à tipagem molecular pela técnica de PFGE, foram encontrados 3 perfis diferentes para as cepas de **S. marcescens**, conforme demonstrado na Fig. 18.

Quando comparamos os perfis genéticos obtidos para **S. marcescens** isoladas de amostras de ar com aqueles encontrados nas amostras procedentes de pacientes através de dendogramas, verificamos similaridade total entre as 11 cepas de amostras de ar e 4 cepas de origem humana, apresentadas nos perfis A₁ e A₂, conforme a Fig. 19. Os dois outros perfis apresentados nesta Figura (perfis B e C) estão representados pelas cepas nº 20s, isolada do ar, e 5P, de origem humana, respectivamente, e foram classificados como diferentes.

A tipagem molecular das culturas de **P. aeruginosa** encontra-se apresentada na Fig. 20. Nesta Figura podemos observar dois perfis distintos: o perfil A, referente à cepas isoladas de amostras de ar, e o perfil B, que engloba 2 culturas de pacientes.

Assim, no dendograma produzido a partir deste gel (Fig. 21), a comparação dos perfis A e B permitiu confirmar que as 3 cepas isoladas a partir das amostras de ar (perfis A₁, A₂ e A₃) apresentaram similaridade total entre si (perfil A) enquanto o perfil das cepas de origem humana (perfil B), com três fragmentos diferentes, pode ser classificado como estreitamente relacionado ao perfil A.

As cepas de **S. aureus** submetidas à tipagem molecular pela técnica de PFGE revelaram 6 perfis de eletroforese, discriminados de A a F, conforme apresentado na Fig. 22.

No dendograma correspondente (Fig. 23), podemos evidenciar que os perfis A (cultura nº 10) e C (cultura 8P) originários de amostras de ar e de paciente, respectivamente, apresentaram 3 fragmentos diferentes e portanto foram considerados como estreitamente relacionados. Os demais perfis (B, D, E e F), referentes a culturas isoladas de pacientes, foram classificados como diferentes por apresentarem mais de 7 fragmentos distintos .

Quadro 8 - Locais de isolamento, coletas e perfil de sensibilidade a antimicrobianos das amostras de *S. marcescens* isoladas de pacientes e de amostras de ar.

Cultura	1P ⁽¹⁾	2P	4P	5P	43	97	145	115	146	366	396	411	4S	7S	9S	14S	1S	47	143	147	174	2S	15S	124	83	20S	21S	23S	25S	27S	28S			
Origem	UC	CTI L1	Enf CM	CTI L8	CTI	CTI Ped	UI Em	C Cir	UI Em	C Cir	UI Ber	C Cir	CTI	CTI	CTI	CTI	CTI	CTI	UI Em	UI Em	UI Em	CTI	CTI	UI Ber	Ber	CTI	CTI	CTI Pó	CTI Sb	CTI Sb	CTI Sb			
Coleta	07/02 ⁽²⁾	25/03	03/12	24/12	1ª	1ª	2ª	2ª	2ª	4ª	4ª	4ª	Su	Su	Su	Su	Su	1ª	2ª	2ª	2ª	Su	Su	2ª	1ª	Su	Su	Su	Su	Su	Su			
A N T I M I C R O B I A N O S	Amicacina	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
	Amoxicilina/ Ac. Clavulânico	-	-	R	R	-	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	R	R	R	R	R	-	I	R	R	-	R	-	R	-		
	Ampicilina/ Sulbactam	R	R	R	R	R	R	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	R	R	R	R	R	-	S	S	R	-	S	-	R	-		
	Ampicilina	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	-	S	I	I	I	S	R	R	R	S	
	Aztreonam	R	R	R	S	I	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	
	Cefepima	R	R	R	R	R	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
	Cefotaxima	R	R	R	I	R	R	R	I	I	I	I	I	I	I	S	I	I	I	S	I	I	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
	Cefoxitina	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	-	R	R	R	I	S	I	R	S		
	Ceftazidima	R	R	R	I	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	
	Cefuroxima	R	R	-	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	I	-	I	-	S	
	Ceftriaxona	R	R	R	I	R	R	R	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	S	S	R	I	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
	Ciprofloxacina	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	I	I	I	I	S	I	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
	Gentamicina	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	Piperacilina	R	R	R	R	R	R	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	R	R	R	R	R	R	S	S	S	-	S	-	S	-		
	Ticarcilina/ Ac. Clavulânico	-	-	R	R	-	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	I	I	R	I	I	R	S	S	S	-	S	-	S	-		
	Tobramicina	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
	Levofloxacina	-	-	I	R	-	S	-	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S		
	Piperacilina/ Tazobactam	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S		
	Trimetoprima/ Sulfametoxazol	-	-	S	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S		
	Imipenem	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
Gatifloxacina	-	-	S	R	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	S	S	S	S	-	S	S	S	-	S	-	S	-			

R - resistente; S - sensível; I - intermediário; Su - surto; CTI - centro de terapia intensiva de adultos; CTI Ped - centro de terapia intensiva pediátrico; UI Em - unidade intermediária da emergência; C Cir - centro cirúrgico; Ber - berçário; UI Ber - unidade intermediária do berçário; UC - unidade coronariana; L1 - leito 1; L8 - leito 8; Pó - poeira do duto de ar climatizado; Sb - suabe da superfície das torneiras; Ac. - ácido; (1) - Não foram encontradas as fichas com os dados da cepa 3P; (2) - As amostras de origem clínica (1P, 2P, 4P e 5P) foram coletadas no ano de 2003 e as amostras de ar foram obtidas em 4 coletas semanais, em fevereiro de 2003.

Quadro 9 - Locais de isolamento, coletas e perfis de sensibilidade a antimicrobianos das culturas de *P. aeruginosa* isoladas das amostras de pacientes e de ar.

Cultura		6P	7P	49	54	55	98	176
Origem		Enfermaria CM	UI emergência	UI emergência	CTI	CTI	CTI pediátrico	UI emergência
Coleta		23.02.2003	19.03.2003	1ª ⁽¹⁾	1ª	1ª	1ª	2ª
A N T I M I C R O B I A N O S	Amicacina	R	R	I	I	S	I	I
	Aztreonama	-	-	R		I	R	I
	Cefepima	-	-	R	R	I	I	I
	Cefotaxima	-	-	R	R	R	R	R
	Ceftazidima	R	R	R	R	R	S	S
	Ceftriaxona	R	R	R	R	R	R	I
	Ciprofloxacina	R	R	R	R	R	S	S
	Gentamicina	R	R	R	R	R	R	R
	Piperacilina	R	R	R	R	S	S	S
	Ticarcilina / Ac. Clavulânico	-	-	R	-	R	S	-
	Tobramicina	R	R	R	R	R	R	S
	Levofloxacina	-	-	R	R	R	-	-
Piperacilina / Tazobactam	-	-	R	R	R	S	S	
Imipenema	-	-	R	R	S	-	S	

R - resistente; S - sensível; I - intermediário; UI - unidade intermediária; CM - clínica médica; CTI - centro de terapia intensiva de adultos; (1) - as amostras de ar foram obtidas em 4 coletas semanais, em fevereiro de 2003.

Quadro 10 - Locais de isolamento, coletas e perfis de sensibilidade a antimicrobianos das culturas de *S. aureus* isoladas de amostras de pacientes e de ar.

Cultura		8P	9P	10P	11P	10	185	221	249	05	
Origem		CTI L2	Amb.	Hemod.	UTR	CTI	Centro cirúrgico	CTI Ped	CTI	Enfermaria nefrologia	
Coleta		26.02 ⁽¹⁾	11.02	NE	26.05	2 ^a (1)	2 ^a	2 ^a	2 ^a	1 ^a	
ANTIMICROBIANOS	Amoxicilina/ Ác. Clavulânico	R	R	R	R	S	S	S	S	S	
	Ampicilina	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R	R*	
	Cefazolina	R	R	R	R	-	S	S	-	S	
	Ceftriaxona	-	-	-	-	-	S	S	-	S	
	Ciprofloxacina	R	R	R	R	R	S	R	S	S	
	Clindamicina	R	R	R	R	R	S	S	S	I	
	Eritromicina	R	R	R	R	R	R	I	R	S	
	Gentamicina	R	R	R	R	R	S	S	S	S	
	Oxacilina	R	R	R	R	R	S	S	S	S	
	Penicilina	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R	R*
	Rifampicina	S	S	S	S	R	S	-	S	S	
	Tetraciclina	R	R	R	R	I	S	-	S	S	
	Levofloxacina	R	I	R	R	R	S	R	S	S	
	Vancomicina	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
	Trimetoprima/ Sulfametoxazol	R	R	S	R	R	S	S	S	S	
Gatifloxacima	-	-	-	-	-	S	I	-	S		
Linezolida	-	-	-	-	-	S	S	-	S		

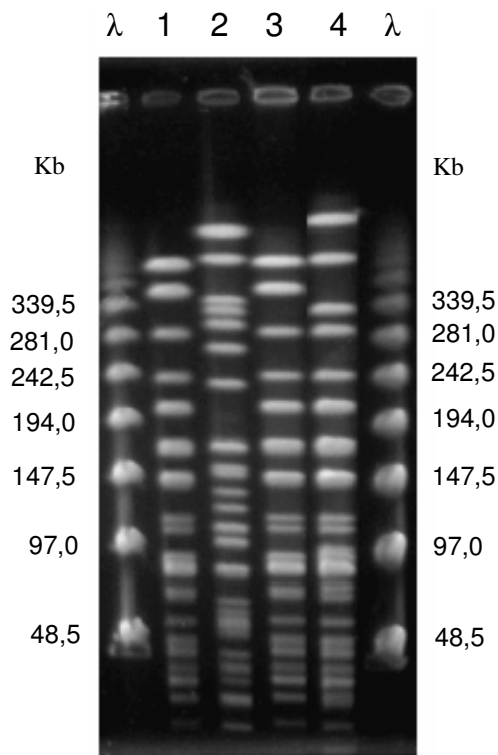
R - resistente; R* - resistente, produtora de β -lactamase; S - sensível; I - intermediário; CTI - centro de terapia intensiva de adultos; L2 - leito 2; Amb. - ambulatório; Hemod.- hemodiálise; UTR - unidade de transplantes renais; CTI Ped - centro de terapia intensiva pediátrico; NE - não especificado; (1) - As amostras de origem clínica (8P, 9P, 10P e 11P) foram coletadas no ano de 2003 e as amostras de ar foram obtidas em 4 coletas semanais, em fevereiro de 2003.

Quadro 11 - Locais de isolamento, coletas e perfil de sensibilidade a antimicrobianos das culturas de estafilococos coagulase negativos isoladas das amostras de ar.

Cultura		12	35	439	331	456	68	390
Origem		CTI	Enfermaria da nefrologia	UI berçário	Enfermaria da nefrologia	CTI pediátrico	CTI neonatal	CTI neonatal
Espécie		<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. sciuri</i>	<i>S. sciuri</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. cohnii</i>	<i>S. capitis</i>
Coleta		1 ^a (1)	1 ^a	4 ^a	3 ^a	4 ^a	1 ^a	4 ^a
A N T I M I C R O B I A N O S	Amoxicilina / Ác.Clavulânico	R	R	R	R	R	R	S
	Ampicilina / Sulbactam	R	R	R	R	R	R	S
	Ampicilina	R*	R*	R*	R*	R*	R*	S
	Cefazolina	R	R	R	R	R	R	S
	Ceftriaxona	R	R	R	R	R	R	S
	Ciprofloxacina	R	S	S	S	S	S	S
	Clindamicina	R	I	I	S	S	I	S
	Eritromicina	R	S	S	I	S	S	S
	Gentamicina	R	S	S	S	R	S	S
	Oxacilina	R	R	R	R	R	R	S
	Penicilina	R*	R*	R*	R*	R*	R*	S
	Rifampicina	I	S	S	S	S	S	S
	Tetraciclina	S	S	S	S	R	S	S
	Levofloxacina	R	S	S	S	S	S	S
	Vancomicina	S	S	S	S	S	S	S
Trimetoprima / Sulfametoxol	S	S	S	S	S	S	S	
Gatifloxacima	I	S	S	S	S	S	S	
Linezolid	S	S	S	S	S	S	S	

R - resistente; R* - resistente, produtora de β -lactamase; S - sensível; I - intermediário; UI - unidade intermediária; CTI - centro de terapia intensiva de adultos; (1) - as amostras de ar foram obtidas em 4 coletas semanais, em fevereiro de 2003.

Figura 18 - Perfis de restrição (PFGE), utilizando DNA digerido por *SpeI*, detectados nas 17 cepas de *S. marcescens* isoladas de amostras de ar (A₁ e B) e de pacientes (A₂ e C).



λ - marcador da eletroforese de campo pulsado (de 50 a 1000 Kb); 1- A₁: 9 cepas;
2- B: 1 cepa; 3- A₂: 4 cepas; 4- C: 1 cepa.

Figura 19 - Dendograma dos perfis de restrição (PFGE) encontrados nas 17 cepas de *S. marcescens* isoladas de amostras ar (A₁) e de pacientes (A₂, B e C).

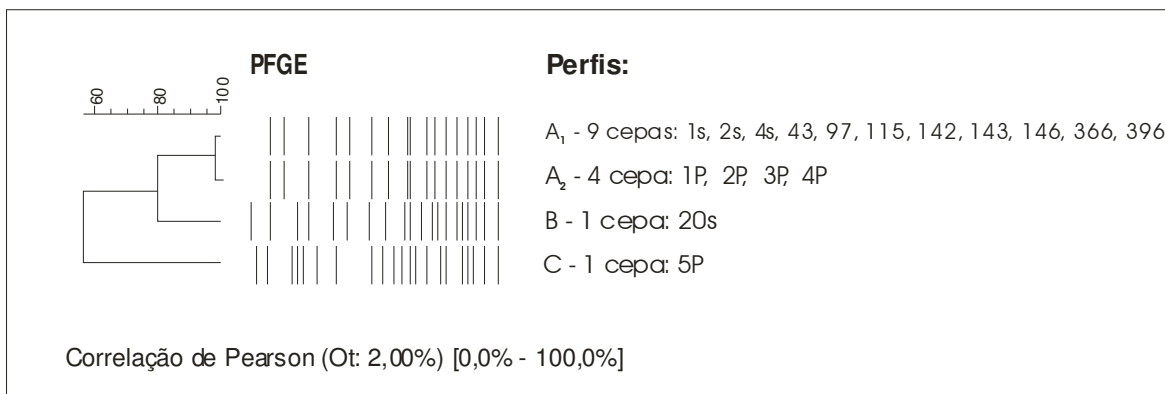
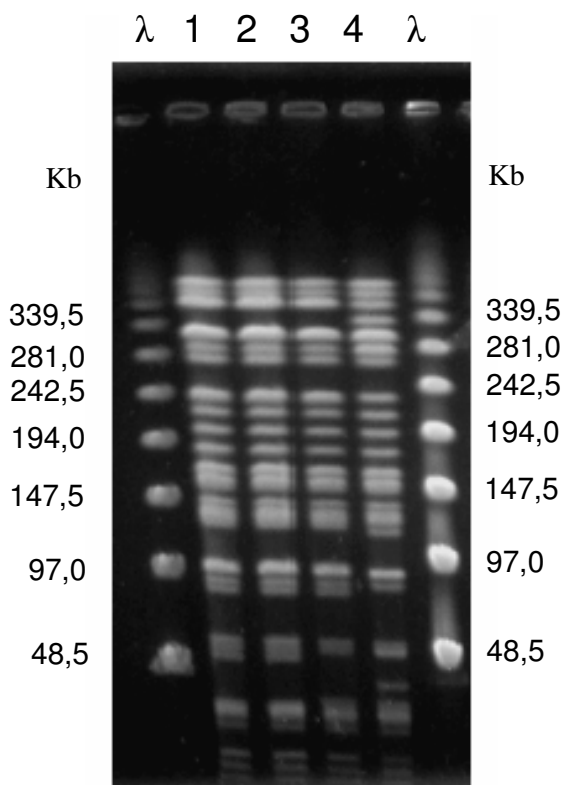


Figura 20 - Dendograma dos perfis de restrição (PFGE) utilizando DNA digerido por *Sma*I, encontrados nas 5 cepas de *P. aeruginosa* isoladas de amostras ar (A₁) e de pacientes (A₂, B)



λ - marcador da eletroforese de campo pulsado (de 50 a 1000 Kb); 1- A₁: 1 cepa; 2- A₂: 1 cepa; 3- A₃: 1 cepa; 4- B: 2 cepas.

Figura 21 - Dendograma dos perfis de restrição (PFGE) encontrados nas 5 cepas de *P. aeruginosa* isoladas de amostras de ar e de pacientes.

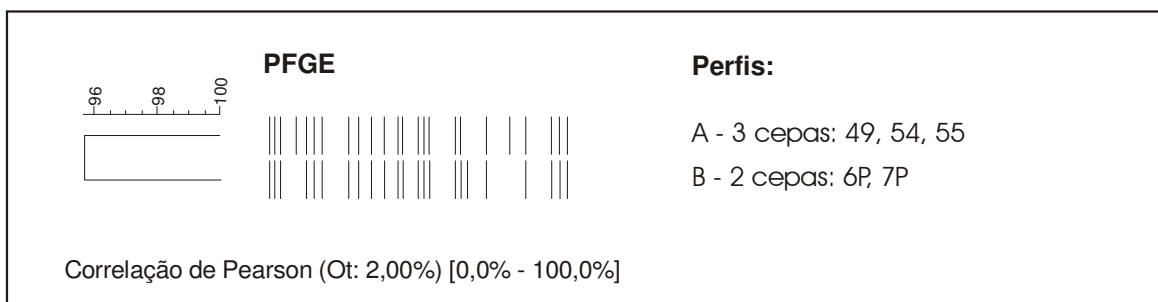
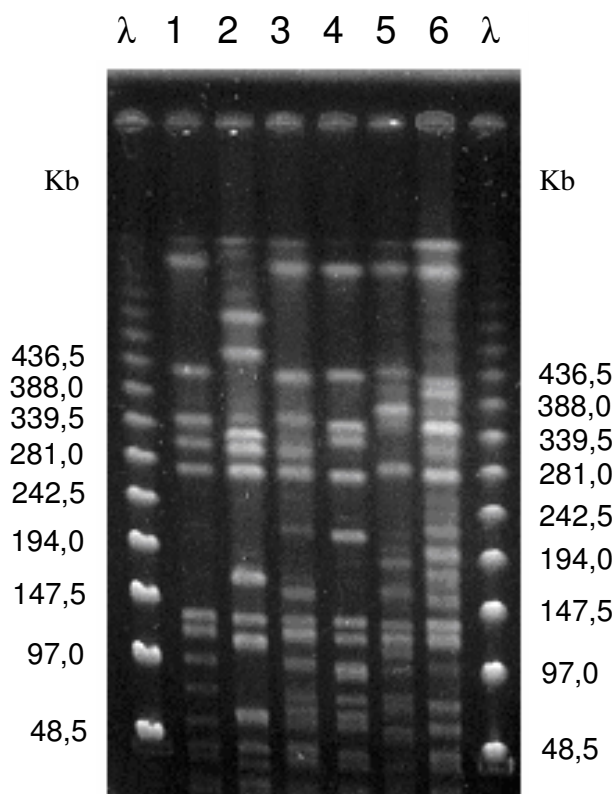
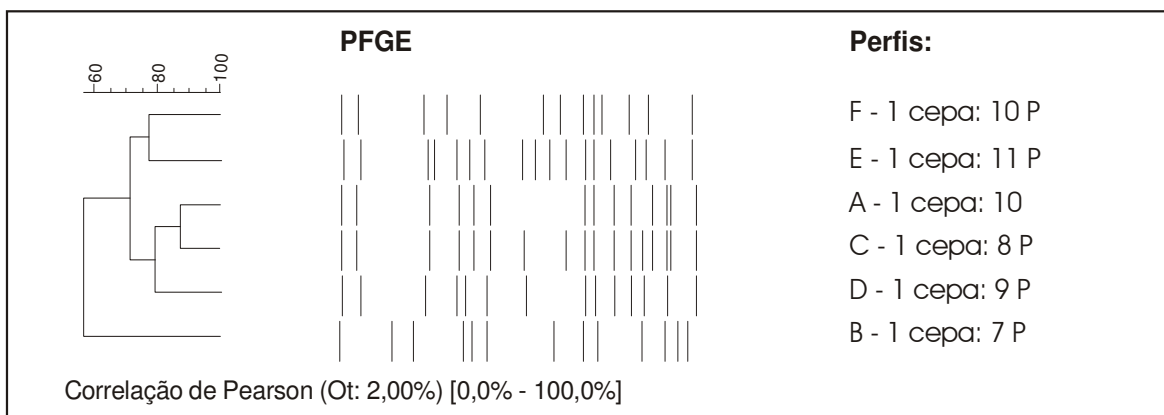


Figura 22 - Perfis de restrição (PFGE), utilizando DNA digerido por *Sma*I, detectados nas 6 cepas de *S. aureus* isoladas de amostras de ar (A) e de pacientes (B, C, D, E, F).



λ - marcador da eletroforese de campo pulsado (de 50 a 1000 Kb); **1- A**: 1 cepa; **2- B**: 1 cepa; **3- C**: 1 cepa; **4- D**: 1 cepa; **5- E**: 1 cepa ; **6- F**: 1 cepa

Figura 23 - Dendograma dos perfis de eletroforese (PFGE) encontrados nas 6 cepas de *S. aureus* isoladas de amostras de ar e de pacientes.



5 DISCUSSÃO

Até o momento, nenhuma metodologia padrão foi definida para o controle da qualidade microbiológica do ar de ambientes internos. A variedade de métodos disponíveis hoje para a coleta e enumeração de microrganismos do ar, cada um com características peculiares, dificulta a elaboração ou a escolha de uma metodologia padronizada.

Nardell (1999), de uma forma bastante rigorosa, criticou as técnicas de amostragem de ar para detecção de micobactérias, enfatizando a importância da utilização de métodos que contassem partículas viáveis e qualificando os demais como limitados. Este autor declarou ainda que a única determinação de interesse, certamente em sua área de atuação, seria a de infectividade das partículas coletadas.

Lee et al. (2004) afirmaram que as comparações do desempenho de instrumentos amostradores de ar são necessárias, porque os resultados de análises resultantes de diferentes métodos de amostragem poderiam então ser comparados, caso pudessem ser estabelecidas relações consistentes entre estes métodos.

Assim, os testes de comparação dos amostradores de ar MAS-100 e de Andersen, nos pareceram muito proveitosos porque permitiram tecer alguns comentários sobre a importância da vazão no bom desempenho destes instrumentos.

Quanto à diferença observada na eficácia do amostrador MAS-100 na sua vazão comercial (100 L/min), quando comparado com sua versão modificada, cuja vazão foi mudada para torná-lo similar ao amostrador de Andersen (28,3 L/min), provavelmente está associada ao fato do projeto e o desenvolvimento do modelo do aparelho terem necessitado de ajustes em sua vazão para a obtenção da sua eficiência máxima. Isto pode indicar que a vazão recomendada pela legislação em vigor, seguramente, não é um parâmetro crucial a ser observado na determinação do instrumento a ser utilizado nas coletas de amostras de ar.

Do mesmo modo, os testes comparativos do desempenho dos dois equipamentos de amostragem de ar, MAS-100 e amostrador de Andersen,

também confirmaram esta possibilidade, uma vez que permitiram a verificação de desempenho similar em relação aos dois equipamentos. A grande flutuação nos resultados das análises realizadas com os dois equipamentos, por sua vez, também parece descartar a possibilidade de diferenças na eficiência destes.

Rath & Ansorg (1997), estudando a participação do ambiente na aquisição de infecções nosocomiais, realizaram 200 quantificações de esporos de *Aspergillus spp* em amostras de ar do ambiente hospitalar e uma de suas conclusões foi que “a contaminação do ar se altera dramaticamente entre cada medição”.

Apesar dos equipamentos de múltiplos estágios serem, sem dúvida, mais interessantes do ponto de vista da qualidade dos dados fornecidos, separando pelo tamanho as partículas depositadas no meio de cultura (May, 1964), cabe lembrar que tais equipamentos tornam a metodologia de análise extremamente mais complicada, demorada e dispendiosa.

Segundo Kotula et al. (1978) o uso de equipamentos de um estágio traria vantagens técnicas e operacionais caso estes pudessem permitir a enumeração de microrganismos de forma tão acurada quanto os de seis estágios. Estes autores também compararam a eficácia de aparelhos para coleta de amostras, dotados de um e de múltiplos estágios e concluíram que as magnitudes das diferenças eram muito pequenas e seriam de importância questionável.

Desta forma, quando a legislação em vigor estabelece uma vazão para a escolha do equipamento de coleta de amostras de ar pode estar excluindo a possibilidade do uso de diferentes impactadores, cujo manuseio é simplificado e seu custo, mais acessível. Assim, se considerarmos, ainda, a importância de se comparar os resultados das análises de múltiplos locais, realizados em diferentes laboratórios, a utilização de amostradores de ar portáteis, de fácil manuseio e com resultados similares aos do equipamento com vazão proposta pela legislação vigente em nosso país, poderia ser de grande praticidade, permitindo a execução e a correta interpretação dessas análises por um maior número de laboratórios.

Outro aspecto que deveria ser mais estudado refere-se aos meios de cultura adotados nas análises microbiológicas de ar. A metodologia descrita na legislação em vigor permite o uso do agar extrato de malte, agar sabouraud

dextrose a 4% e do agar batata dextrose, como se estes meios fossem absolutamente equivalentes e cita, ainda, a possibilidade do uso de qualquer meio de cultura, desde que validado. Burge et al. (1977) compararam a performance de oito meios de cultura e encontraram diferenças importantes do desempenho de cada um deles.

Nossa experiência tem mostrado que a utilização do agar extrato de malte, nas análises quantitativas, tem gerado valores mais elevados do que outros meios anteriormente utilizados, como por exemplo o agar sabouraud dextrose (dados não apresentados). Assim, a validação dos meios com culturas padronizadas, a princípio, pode parecer uma solução para a possibilidade de uso de outros meios de cultura; no entanto, a enorme variedade de espécies microbianas passíveis de serem encontradas no ar, provavelmente influenciaria nos resultados alcançados pelos diferentes laboratórios, permanecendo a dificuldade de comparação dos dados gerados por estes. Deste modo, acreditamos que o estudo aprimorado deste assunto seria necessário para a obtenção de uma padronização mais rigorosa das técnicas de coleta e cultivo das amostras de ar.

No que se refere aos resultados apresentados na Fig. 2, a flutuação constante dos números obtidos nas contagens de fungos em uma mesma faixa de variação, poderia ser esperada uma vez que a contaminação do ar por este grupo de microrganismos é supostamente advinda do mobiliário, utensílios e materiais contidos no próprio ambiente. No entanto, a redução do número de heterótrofos totais no horário em que há menos pessoas no ambiente interno sugere que possa haver uma relação entre o número de ocupantes presentes no ambiente e o número de heterótrofos totais dispersos no ar confinado. Tomando em conta que as pessoas são importantes fontes de bactérias do ar de interiores (Goh et al., 2000) e que as atividades humanas acarretam a ressuspensão de partículas (Janssen et al., 2000; Luoma & Batterman, 2001), esta observação nos conduz à consideração de que o número de bactérias pode representar um indicador do excesso de ocupantes por metro quadrado ou da insuficiência de renovação do ar interno, por exemplo.

Do mesmo modo, associando-se os resultados referentes aos ambientes de *shoppings centers* (Fig. 6), nota-se que o perfil observado com relação aos

fungos é similar àquele relatado anteriormente para escritórios e hospitais. Contudo, estes ambientes revelaram grande número de amostras com resultados elevados de heterótrofos totais, o que pode ser relacionado ao grande trânsito de pessoas nestes locais, fato não característico dos demais grupos de ambientes em estudo. Se considerarmos a presença destas bactérias no ar como possivelmente oriundas, em sua maioria, da própria microbiota normal dos transeuntes destes prédios, poderíamos dizer, então, que o número de heterótrofos totais tende a se tornar elevado quando há grande circulação, ou mesmo um excesso de pessoas, em um determinado ambiente interno. Tais considerações nos remetem novamente à possibilidade de utilizarmos os heterótrofos totais, do mesmo modo que os bolores e leveduras, como indicadores de situações adversas para a qualidade do ar climatizado.

Assim sendo, os diferentes comportamentos observados nos ambientes estudados, quanto aos níveis de contaminação detectados nas amostras analisadas (Fig. 3 a 6), possivelmente refletem as diferentes atividades desenvolvidas em cada tipo de ambiente. Deste modo, pode-se inferir que a quantidade de microrganismos presentes no ar destes lugares varia em função de fatores inerentes a cada local e não apenas à quantidade de sujeira acumulada em dutos de sistemas de condicionamento de ar, como decorrência do passar do tempo, ou advindos do meio externo pela abertura de portas ou através de pontos de captação indevidamente sem filtros.

No caso dos ambientes de indústrias, por exemplo, os resultados com baixos números de microrganismos foram predominantes e houve maior similaridade quando se compararam as distribuições dos resultados das amostras para heterótrofos totais e para bolores e leveduras. Esta observação certamente está relacionada com as medidas sistemáticas de limpeza e higienização dos locais de produção, bem como da manutenção rigorosa dos sistemas de climatização do ar, as quais são notadas muito mais nestas empresas do que nos demais tipos de ambientes avaliados, o que certamente se deve à necessidade de se prevenir a contaminação dos produtos, sejam por sujeiras ou por microrganismos.

Por outro lado, nos ambientes de hospitais, embora o número de amostras coletadas seja bem menor que o dos demais tipos de ambientes estudados, pode-se perceber uma distribuição das amostras similar à observada em relação aos escritórios. No entanto, devido ao tipo de atividade desenvolvida nestes locais, poder-se-ia esperar valores muito menores para as médias dos resultados das amostras analisadas. Este comportamento provavelmente deriva de regras muito flexíveis quanto ao trânsito de visitantes, pacientes, ou mesmo funcionários, além da prática de hábitos característicos de outros tipos de locais de trabalho ou mesmo de ambientes domiciliares, como a presença de visitantes, não raro consumindo alimentos.

Poucos autores têm relatado resultados de análises quantitativas de microrganismos em ambientes internos e os estudos realizados geralmente o fazem em condições diferentes daquelas utilizadas neste trabalho (Spiegelman & Friedman, 1968; Buttner et al., 1993 e Stewart et al. 1995), o que dificulta a comparação com os dados aqui obtidos. Macher et al. (1991) estudaram um ambiente residencial, recém construído, ocupado apenas por uma pessoa, durante o período de dois anos que se seguiram à sua ocupação, e encontraram valores relativamente baixos quando comparados aos nossos (98 UFC/m³ para bactérias e 198 UFC/m³ para fungos); contudo, isto poderia ser esperado para aquele tipo de ambiente, onde a taxa de ocupação e as conseqüentes atividades realizadas eram muito baixas. Leite et al. (2004) analisaram amostras de 312 pontos em ambientes distintos e, apesar de terem adotado uma metodologia de coleta diferente da empregada neste trabalho, encontraram valores similares aos nossos, ou seja, 88,78% das amostras analisadas foram consideradas aceitáveis em relação à contagem de bolores e leveduras (≤ 750 UFC/m³).

A avaliação dos resultados das contagens de microrganismos pela técnica de APC, por outro lado demonstrou que as amostras de ar analisadas são semelhantes, formando um só grupo. As poucas amostras que se distanciaram deste grupo correspondem a casos isolados, com níveis de contaminação microbiana mais elevados do que as demais amostras. Porém, estas não chegam a formar um subgrupo em relação ao grupo maior (Fig. 7).

No entanto, a falta de influência das variáveis ambientais (temperatura e umidade relativa do ar) sobre as amostras estudadas, demonstrada pela técnica de ACP, contrasta com os dados de autores (Kethley et al., 1957; Pasanen et al., 1991) que mencionaram a temperatura e a umidade relativa do ar como fatores extremamente importantes para o desenvolvimento de bactérias e fungos. Contudo, talvez as variações na temperatura e na umidade relativa nos pontos amostrados dos escritórios, indústrias, hospitais e *shopping centers*, em nosso estudo, não tenham sido suficientemente intensas para provocar tais variações. Pode haver, ainda, a possibilidade de que tais variáveis estejam associadas a outras, não enfocadas aqui, e que poderiam estar influenciando na dispersão ou mesmo na eliminação de microrganismos, em alguns casos, o que resultaria na obtenção de dados não associáveis. Neste sentido, Zoberi (1961) afirmou que a redução da umidade relativa, ao contrário do que normalmente se espera, “pode levar ao aumento dos valores das contagens de bolores e leveduras no ar apenas por acelerar a liberação dos esporos dos fungos”.

Pelo fato dos ambientes internos serem considerados confinados, poderíamos esperar que as variações climáticas, ocasionadas pelas mudanças das estações do ano, não se fizessem notar no interior dos prédios nem afetassem o número de microrganismos presentes no ar. Além disso, é comum no Brasil, e especialmente no Rio de Janeiro, a existência de períodos de calor durante todo o ano, com pouca distinção entre as estações do ano.

No entanto, os gráficos da distribuição dos níveis de bactérias e de fungos ao longo dos anos de 1998 a 2000 estão em consonância com a influência da temperatura e da umidade relativa nos índices de microrganismos encontrados, já que os meses onde foram observados números mais elevados de microrganismos foram também aqueles do período de primavera-verão no Brasil, nos quais a temperatura e a umidade relativa do ar normalmente se elevam no ambiente externo.

Este fato talvez possa estar relacionado à formação de um ambiente ideal para o crescimento de heterótrofos totais e de bolores e leveduras no ambiente externo. Os microrganismos poderiam, então, ser carregados para o interior das edificações através dos pontos de entrada de ar externo dos prédios, situação

esta plausível, se considerarmos que a ausência de filtros nos prédios é prática comum em nosso meio. Leenders et al. (1999) estudaram a variação do número de conídias no ar em relação ao ambiente externo e encontraram números mais elevados também no verão, da mesma forma que Li & Kendrick (1995). Certamente, os dados apresentados por estes autores foram obtidos em condições díspares, não apenas por se tratar de ar externo, mas também porque os países de origem desses estudos apresentam condições climáticas muito diferentes das encontradas aqui. No entanto, acreditamos que vale mencionar tal coincidência.

Cabe ponderar, ainda, que o relativo aumento dos números de bolores e leveduras nos meses de março e abril, na estação do outono, foi influenciada por valores elevados apenas no ano de 2000. Estes dados talvez estejam relacionados a variações de outros fatores ambientais ocorridas apenas neste ano, como a umidade relativa, a velocidade dos ventos, a luminosidade, entre outros, de modo que seriam necessários estudos mais aprofundados para correlacioná-los.

Apesar de tais variações nas quantidades de microrganismos presentes no ar de escritórios em alguns meses, o percentual de amostras aprovadas por tipo de ambiente, conforme a legislação vigente no Brasil (Fig. 10), sugere que os prédios, em geral, no que tange à qualidade microbiológica, encontravam-se em condições propícias à habitação. No entanto, é apenas sugestivo afirmar que um ambiente interno com mais de 750 UFC/m³, ou qualquer outro valor determinado, possa acometer a saúde de seus ocupantes, uma vez que não existem estudos epidemiológicos que forneçam dados capazes de referendar tais parâmetros (Rao et al., 1996).

Tal questão nos remete ao problema da baixa credibilidade, por parte dos ocupantes dos prédios em geral, na aparente boa qualidade do ar dos ambientes internos climatizados. Um aspecto que contribui amplamente para a perda da confiança na qualidade do ar climatizado de ambientes internos refere-se aos poucos estudos relativos à detecção e à quantificação de poluentes químicos destes ambientes no Brasil. Assim, um local cuja qualidade do ar é considerada apropriada, do ponto de vista microbiológico, poderia ter altos índices de

contaminação química. Neste sentido, seria viável, até mesmo, conceber que os contaminantes químicos, quando em níveis elevados, talvez fossem capazes de inibir o estabelecimento e o crescimento de certas espécies microbianas nos ambientes internos, contribuindo para que estes locais fossem considerados adequados do ponto de vista microbiológico. Seguindo este raciocínio, poderíamos concluir que o controle da qualidade do ar de ambientes internos não deve estar embasado em apenas um ou outro tipo de parâmetro isoladamente, mas sempre em um conjunto de dados capazes de refletir a situação de cada ambiente avaliado.

A observação feita em relação aos heterótrofos totais em ambientes de *shopping centers* serve para enfatizar esta afirmação. Apesar de não haver informações sobre qualquer consequência negativa do aumento do número de heterótrofos totais sobre a saúde dos transeuntes de *shoppings*, estes dados poderiam ser úteis na detecção da sobrecarga dos sistemas de climatização ou, ainda, quanto à insuficiência do número de trocas de ar com o meio externo.

Outrossim, considerando que, como foi dito anteriormente, os resultados de análises microbiológicas de ar são flutuantes, provavelmente em função de inúmeros fatores ambientais de grande variabilidade, os altos percentuais de amostras aprovadas, segundo a legislação em vigor, não descartam a necessidade de uma vigilância contínua, mantida através de análises periódicas, de modo a permitir a criação de um banco de dados que viabilize a detecção e o controle das fontes poluentes de cada local.

Em relação aos ambientes hospitalares, no entanto, torna-se relevante lembrar que devido à própria natureza das atividades realizadas nestes locais, onde encontramos indivíduos com a saúde alterada, debilitados ou imunodeprimidos, a identificação das espécies de microrganismos mostrou-se tão importante quanto a determinação da quantidade destes no ar, em concordância com McDonald et al. (1998) e Schaal (1991).

Do mesmo modo, os dados obtidos neste estudo novamente demonstram a importância da análise quantitativa de heterótrofos totais, além da quantificação de bolores e de leveduras. Tal afirmativa pode ser demonstrada pela observação de que em alguns locais, onde os números de fungos apresentaram-se

relativamente baixos, foi possível o isolamento de culturas pertencentes a espécies reconhecidamente patogênicas e com perfil de multirresistência a antimicrobianos. No entanto, os valores obtidos nas quantificações de heterótrofos totais, nestes mesmos locais, de um modo geral foram elevados. Por exemplo: as culturas de ***S. marcescens*** de n^{os} 43, 97 e 145 (Quadro 8), provenientes de locais que apresentaram contagens de 18, 10 e 40 UFC/m³ de bolores e leveduras (Fig. 13) e de 312, 1172 e $\geq 5 \times 10^3$ UFC/m³ de heterótrofos totais (Fig. 15), respectivamente; do mesmo modo, as culturas de ***P. aeruginosa*** n^{os} 49 e 54 (Quadro 9) foram isoladas em locais, coincidentemente, com 18 UFC/m³ de bolores e leveduras (Fig. 13) enquanto as contagens de heterótrofos totais nestes ambientes foram de 146 e 312 UFC/m³ (Fig. 15), respectivamente.

Notou-se, ainda, uma grande variação nos resultados de maneira similar ao observado na técnica de coleta com o uso de amostrador de ar ou ainda nos resultados dos testes de comparação do desempenho dos amostradores de ar.

Assim, outro aspecto a se destacar, consoante com as observações relatadas, refere-se à detecção de variações mais intensas nas quantidades de heterótrofos totais do que de bolores e levedura. Este fato pode estar relacionado à higienização constante das superfícies, que parece controlar mais os fungos, cujas fontes estariam normalmente afixadas a superfícies inanimadas, do que os heterótrofos. Estes últimos, conforme discutido anteriormente em relação aos ambientes de *shoppings centers*, são normalmente originários da microbiota humana e seriam levados ao ar pelas atividades dos ocupantes destes locais e, mesmo não permanecendo no ar por longos períodos de tempo, poderiam ser detectados pelas análises microbiológicas.

Do mesmo modo, os picos de contagens microbianas detectados nos diferentes setores do hospital em estudo (Fig. 13 a 17), foram, na sua maioria, coincidentes com atividades de limpeza do piso das respectivas unidades, manuseio de pacientes ou grande número de pessoas no local da unidade hospitalar no momento da tomada da amostra de ar, que poderiam portanto ser a causa da elevação do número de microrganismos no ar. Contudo, não podemos descartar a possibilidade da ocorrência de eventos de importância previamente ao

momento da coleta, sem o conhecimento da equipe responsável pela amostragem.

Esta observação denota a importância do controle destas atividades neste tipo de ambiente. Não apenas porque resultem no aumento do número de microrganismos no ar, mas porque o movimento excessivo do ar poderia dispersar partículas de um ponto a outro do setor hospitalar permitindo a disseminação de microrganismos patogênicos. Shiomori et al. (2001), como citado anteriormente, demonstraram que estas atividades de rotina podem contribuir amplamente para o aumento do número de microrganismos patogênicos no ar.

Neste ponto, devemos lembrar, contudo, a ocorrência de alguns picos de crescimento microbiano sem que tenha sido detectada alguma variação ou atividade diferenciada na rotina. No entanto, o fato de não se notar algum fato correlacionado no instante da coleta, como citado anteriormente, não descarta a possibilidade desta ocorrência sem que a equipe responsável pela amostragem tenha tomado conhecimento.

Outro problema que deve ser considerado, no que diz respeito ao controle da qualidade do ar de ambientes nosocomiais, decorre da existência de microrganismos viáveis mas não cultiváveis no ar, como apontado por Colwell et al. (1996) e Heidelberg et al. (1997). Estes autores alertaram para o fato de que os números de microrganismos detectados no ar nem sempre refletem a realidade dos ambientes, devido à ocorrência de células incapazes de gerar colônias nos meios de cultura, mas que permanecem viáveis, mantendo sua patogenicidade.

A inexistência de estudos referentes à determinação quantitativa da contaminação microbiana em ambientes climatizados de hospitais, que nos permitam comparar os números obtidos nas análises quantitativas, dificulta a avaliação dos dados obtidos. Contudo, os números relativamente elevados encontrados nas análises quantitativas, em função dos valores referenciais tomados com parâmetros de comparação, podem estar relacionados às conclusões encontradas nos estudos de Overberger et al. (1995) e Morawska et al. (1998). Estes últimos afirmaram "que o desempenho dos sistemas de filtração/ventilação é o parâmetro mais crítico para a redução da concentração

geral de materiais particulados naqueles setores hospitalares onde os procedimentos médicos podem resultar na produção de aerossóis potencialmente perigosos”. Assim, estes números elevados podem ser devidos a um sistema de condicionamento de ar ineficiente, incapaz de suprir os locais estudados com ar satisfatoriamente livre de partículas.

Como não existem parâmetros oficiais para os resultados de contagens de microrganismos em ambientes hospitalares torna-se impossível classificá-los do ponto de vista quantitativo. Contudo, se aplicássemos a legislação proposta pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para ambientes hospitalares (Brasil, 2005), considerando os locais escolhidos para a tomada de amostras como pertencentes aos níveis de risco 2 (“área onde existem fortes evidências de risco de ocorrência de eventos adversos relacionados à qualidade do ar de seus ocupantes e de seus pacientes que utilizarão produtos manipulados nestas áreas, baseadas em estudos experimentais, clínicos ou epidemiológicos bem delineados”) e risco 3 (“área onde existem fortes evidências de alto risco de ocorrência de eventos adversos relacionados à qualidade do ar de seus ocupantes e de seus pacientes que utilizarão produtos manipulados nestas áreas, baseadas em estudos experimentais, clínicos ou epidemiológicos bem delineados”), conforme especificado no referido documento da ANVISA (Anexo 2), apenas o centro cirúrgico (ponto de coleta nº 2) poderia ser classificado como dentro dos padrões.

Do mesmo modo, a legislação brasileira não propõe limites máximos para bactérias, como já exposto, em nenhum tipo de ambiente climatizado. Entretanto, o Manual de Vigilância Microbiológica Ambiental em Estabelecimentos de Saúde, publicado em 2002 pelo governo francês (Surveillance, 2002), propõe parâmetros bastante rigorosos para a quantidade de bactérias nas unidades hospitalares: 5 UFC/m³ nos locais onde o ar é tratado sob fluxo laminar, 20 UFC/m³ nos locais onde o ar é tratado em fluxo normal de turbulência, e 100 UFC/m³, para os demais locais. Caso fosse adotada tal referência, todos os 12 locais avaliados no hospital em estudo seriam classificados como fora dos padrões.

Não obstante, Leenders et al. (1999) detectaram a contagem média de fungos no ar do hospital universitário de Rotterdam de apenas 32 UFC/m³, de 7

UFC/m³ no setor de hematologia deste mesmo hospital, e de apenas 2 UFC/m³ em setores onde o ar passava por um sistema de filtração de alta eficiência. Estes pesquisadores destacaram que os baixos valores encontrados no setor de hematologia ou nos setores providos de sistemas de filtração do ar climatizado estariam relacionados ao isolamento desta unidade e à presença de filtros HEPA (high-efficiency particulate air) nos pontos de insuflamento de ar.

Uma outra observação de interesse, em nosso estudo, decorre do método de amostragem adotado no ambiente hospitalar para as análises qualitativas, no qual foi utilizada a técnica de exposição de placas associada à coleta por impactação. Este método permitiu confirmar a impossibilidade do uso da técnica de exposição de placas para o controle quantitativo da qualidade do ar de ambientes internos. Entretanto, deve-se destacar que nos dois conjuntos de placas, originados de cada uma das técnicas de coleta, foram detectadas colônias bacterianas de mesma morfologia e, por conseguinte, foram isolados patógenos de diferentes espécies a partir de ambas as técnicas aplicadas. Tal fato sugere, por exemplo, o uso da técnica de sedimentação espontânea em pesquisas de cunho epidemiológico onde que não estejam disponíveis instrumentos de coleta de amostras. Deve-se lembrar que, neste caso, no entanto, haveria a necessidade da escolha de uma rigorosa metodologia de amostragem.

Neste sentido, ainda hoje a técnica de exposição de placas é utilizada para o isolamento de patógenos. Bernardo et al., em 2005, utilizaram a técnica de sedimentação espontânea em consultórios odontológicos, em horário de atividade periódica intensa. Estes autores fizeram 24 coletas por exposição de placas durante duas horas, utilizando meios seletivos, e conseguiram isolar 44 culturas de ***S. aureus*** resistentes à ampicilina.

Todavia, em contraste com os resultados obtidos para o patógenos bacterianos, o baixo índice de isolamento de culturas de fungos do gênero ***Aspergillus*** pela técnica de exposição de placas, confirma mais uma vez a impossibilidade do seu uso nas análises quantitativas e qualitativas de bolores e de leveduras. Este fato deve-se, primordialmente, ao pequeno diâmetro das conídias de certas espécies de fungos, como ***Aspergillus***, que possuem uma velocidade de sedimentação média de 1 metro por hora, podendo ser prolongada

por correntes de ar capazes de mantê-las em suspensão por um intervalo de tempo indeterminado (VandenBergh et al., 1999).

De maneira geral, os resultados das análises microbiológicas qualitativas do ar dos ambientes hospitalares foram bastante expressivos e inquietantes. A detecção de diferentes espécies de fungos e bactérias sabidamente patogênicas em vários setores da unidade hospitalar estudada reflete uma situação que, provavelmente, pode estar ocorrendo em outras unidades hospitalares, mas sobre as quais não temos informações consistentes, até porque, não existem também procedimentos de diagnóstico implantados como rotina.

O encontro de espécies de ***Aspergillus*** em 50% das amostras analisadas pode ser fruto da influência do ar externo sobre os ambientes internos deste hospital, ou, ainda, da ocorrência de obras ou reformas em áreas próximas às amostradas, de forma pouco controlada, o que, sabidamente, promove o aumento da carga fúngica em ambientes internos (Lentino et al., 1982; Overberger et al., 1995; Cornet et al., 1999; Oren et al., 2001). Cornet et al.(1999) estudaram a contaminação por ***Aspergillus*** no ar e em superfícies de um hospital pelo período de 2 anos, com um total de 1047 amostras coletadas. Neste trabalho, 27% das amostras de ar analisadas foram positivas para espécies de ***Aspergillus*** e apenas 6% das superfícies apresentaram conídias deste fungo.

Entre as espécies de fungos isoladas nos setores hospitalares estudados figuram algumas reconhecidamente envolvidas em processos infecciosos, como ***A. fumigatus***, ***A. flavus*** e ***A. terreus*** (Klich & Pitt, 1998 e Klich 2002). Tais espécies são de tal relevância que se tornaram foco da maioria dos estudos referentes a infecções nosocomiais produzidas por fungos (VandenBergh et al., 1999).

Aspergillus fumigatus tem sido apontado como o patógeno mais encontrado em pacientes imunocomprometidos (Cornet et al., 1999; Hoffman et al., 1999; Perfect et al., 2001; Cooper et al, 2003) e Oren et al. (2001) citaram a aspergilose pulmonar invasiva produzida por ***A. fumigatus*** como a manifestação mais comum entre pacientes imunodeprimidos. Estes autores mencionaram o diagnóstico insatisfatório e o tratamento tardio, como fatores agravantes desta circunstância, que resultariam em uma taxa de mortalidade de 50%. Para os

pacientes submetidos a transplante de medula óssea, no entanto, tal estudo citou a surpreendente taxa de mortalidade de 95%.

Aspergillus flavus foi apontado por Yavo et al. (2004) como a causa mais freqüente de otomicose em Abdiyan (Ivory Coast) e de casos raros de aspergilose, como a aspergilose cutânea disseminada relatada por La Nasa et al. (2004). Heinemann et al. (2004) descreveram também um surto de aspergilose em ferimentos cirúrgicos causado por ***Aspergillus flavus*** onde foram estudadas amostras de ar e de superfícies ambientais e conseguiram demonstrar, por meio de técnicas de tipagem de DNA que todas as culturas isoladas de ar, superfícies e de materiais clínicos tinham uma fonte comum.

Por sua vez, ***Aspergillus terreus*** é a segunda espécie mais freqüente deste gênero como agente de aspergilose invasiva (Hachem et al., 2004). É considerado também como causa mais comum de aspergilose em pacientes com leucemia, além de apresentar a maior taxa de mortalidade em casos de aspergilose pulmonar invasiva (Perfect et al., 2001; Steinbach et al., 2004b).

Hachem et al. (2004) estudaram 300 pacientes de um hospital do Texas, entre os quais 90 apresentaram aspergilose invasiva por ***A. fumigatus*** e 70 por ***A. terreus*** e relataram a emergência de resistência a anfotericina B nestas duas espécies, principalmente em ***A. terreus***. Steinbach et al. (2004a) também estudaram 83 casos de aspergilose invasiva produzidas por ***A. terreus*** resistentes a anfotericina B entre 1997 e 2002 e registraram uma taxa de mortalidade de 66% dos casos.

Sarubbi et al. (1982) afirmaram que, desde a década de 70, a aspergilose invasiva “estava associada a pacientes hospitalizados, com uma alta taxa de mortalidade (50 a 100%) e devendo-se, principalmente, a sistemas de ventilação mantidos de forma imprópria ou inadequada”. A importância dada ao ar e aos sistemas de ventilação, com relação a estas espécies de fungos é motivada pelo fato de que suas conídias, de diâmetro inferior a 5 µm, têm a inalação como principal via de infecção podendo facilmente atingir o trato respiratório inferior (Klich & Pitt, 1998 e Klich, 2002).

O encontro destas espécies no ar de vários setores do hospital em estudo pode estar relacionado não somente à facilidade com que estes microrganismos

penetram nos prédios, mas também a sistemas de ventilação pouco eficazes, no que diz respeito à sua capacidade de filtração de partículas. Conseqüentemente, considerando os resultados de Leenders et al. (1999) no hospital universitário de Rotterdam, citados anteriormente, a utilização de sistemas eficientes no suprimento de ar, com uma quantidade mínima de bioaerossóis, além do isolamento do meio interno em relação ao exterior do prédio, poderiam contribuir enormemente para a redução do risco de infecções fúngicas nos ambientes nosocomiais.

Com relação aos resultados das análises qualitativas de bactérias, o número de culturas de ***S. marcescens*** isoladas, permitiu demonstrar que cepas multirresistentes destas bactérias estavam distribuídas entre os diferentes ambientes do hospital estudado.

Serratia marcescens é um patógeno oportunista que tem sido citado com freqüência cada vez maior como agente determinante de surtos e infecções hospitalares (Krisnan et al., 1991; Chokephaibulkit et al., 2002; Rastogi et al., 2002; Alfizah, et al., 2004; Sarvikivi et al., 2004). A importância da presença desta espécie no ar destes locais recai, principalmente, sobre o fato de que estes microrganismos apresentaram altos níveis de resistência a antimicrobianos, além de ser um gênero microbiano classicamente descrito como resistente a diferentes condições ambientais adversas, podendo se manter em ambientes úmidos por longos períodos de tempo (Alfizah et al., 2004; Sarvikivi et al., 2004). Uduman et al. (2002) estudaram um surto que envolveu 36 crianças em uma unidade de terapia intensiva para bebês, com uma taxa de mortalidade de 14%. Estes pesquisadores encontraram cepas de ***S. marcescens*** no interior dos dutos do sistema de condicionamento de ar e caracterizaram este local como reservatório primário. Entretanto, estes autores não utilizaram técnicas de tipagem molecular, o que inviabilizou a determinação dos clones envolvidos e da participação das cepas de origem ambiental em tal surto.

No Brasil, Brito et al. (1999) estudaram um surto de ***S. marcescens*** produtora de β -lactamase de espectro estendido, que envolveu 53 crianças em uma unidade neonatal, na cidade de Uberlândia, mas não conseguiram identificar possíveis reservatórios ambientais deste microrganismo. Do mesmo modo,

Loureiro et al. (2002 b), em uma pesquisa realizada em um hospital da cidade do Rio de Janeiro, concluíram que ***S. marcescens*** multirresistente era o terceiro agente mais comum nos casos de septicemia de recém-natos estudados.

Em nosso estudo, a detecção de cepas do gênero ***Serratia***, multirresistentes, idênticas em relação aos perfis de restrição, em semanas subseqüentes e também com um intervalo de 6 meses, no ar de diferentes setores da unidade hospitalar, pode significar que estas cepas circulam por dias, semanas ou meses, ou então, que estão sendo lançadas ao ar ininterruptamente. Deve-se ressaltar que esta dispersão poderia permitir sua deposição em superfícies muito próximas de outros pacientes. Entretanto, não foi possível determinar qual o exato papel do ar neste evento, já que a transmissão pelas mãos da equipe médica não pode ser descartada.

No entanto, o perfil das diversas culturas de ***S. marcescens*** isoladas no ar, multirresistentes e idênticas em relação ao perfil de restrição (11 cepas), confirma a possibilidade deste microrganismo ter estado envolvido em casos de infecção hospitalar e ser carregado de um a outro ponto dos ambientes.

Outro fato importante está relacionado às cepas oriundas de pacientes. Dos 4 pacientes que deram origem às 4 cepas cujo perfil de restrição mostrou-se idêntico ao das culturas isoladas do ar, apenas um não esteve internado em um dos setores do hospital de onde foram isoladas as cepas de ***S. marcescens*** a partir de amostras de ar. Mesmo assim, existe a possibilidade deste microrganismo ter sido levado pelas mãos da equipe médica ao setor onde esteve este paciente (clínica médica). Deve-se ressaltar, entretanto, que o material clínico deste mesmo paciente foi coletado 6 meses após a ocorrência de isolamento de culturas de ***S. marcescens*** genotipicamente idênticas oriundas de amostras de ar.

Por outro lado, os perfis de sensibilidade a antimicrobianos encontrados nas culturas isoladas de poeira dos dutos do sistema de climatização (Quadro 8, nº 23s) ou da superfície das torneiras das pias (Quadro 8, nºs 25s e 28s), muito diferenciados das culturas isoladas das amostras de ar, sugere que estas culturas podem ter uma origem diferente, predominantemente ambiental, e, portanto, sem a pressão seletiva dos antimicrobianos, normalmente exercida sobre as cepas de

origem hospitalar que provêm de pacientes infectados e/ou dos profissionais da saúde. No entanto, o encontro de uma cultura de ***S. marcescens*** (Quadro 8, nº 27s) na pia do CTI, com perfil de resistência a 5 antimicrobianos, sugere que esta cultura possa ter tido alguma relação com aquelas isoladas a partir de pacientes dos setores concernentes.

Como não foi detectada a presença de microrganismos patogênicos com perfil molecular ou de multirresistência a antimicrobianos a partir da poeira do duto do sistema de condicionamento de ar, não foi possível, neste momento, determinar a participação deste como veiculador de patógenos.

Deste modo, esta espécie mostrou-se como um bom modelo para os estudos epidemiológicos de infecções nosocomiais. Isto talvez se deva à sua maior resistência às condições ambientais, o que permitiria sua recuperação nas técnicas de amostragem de ar ou então, como não podemos deixar de supor, apenas pelo fato de que esta bactéria estivesse ocorrendo em grande quantidade no hospital em estudo.

O cumprimento da proposta de detecção das bactérias patogênicas (***P. aeruginosa*** e ***S. aureus***) no ar dos ambientes hospitalares, conforme os objetivos deste trabalho, apesar do êxito obtido, gera também razoável apreensão, pois, como foi dito anteriormente, não existem normas oficiais, nem mesmo práticas não padronizadas, sendo adotadas como rotina no controle da qualidade do ar de ambientes hospitalares.

Resultados do programa SENTRY de vigilância a antimicrobianos, realizado entre os anos de 1997 e 2000 em países da América Latina, incluindo 4 cidades brasileiras (Gales et al., 2002), revelaram que ***P. aeruginosa*** e ***S. aureus***, nesta ordem, figuraram como as duas espécies mais freqüentes entre os isolados bacterianos coletados de pacientes hospitalizados com suspeita de pneumonia. A pneumonia, como infecção hospitalar, tem sido associada a altas taxas de mortalidade e, a despeito desta evolução para o óbito, esta infecção “pode prolongar a hospitalização por 4 a 9 dias, aumentando os custos de estada no hospital”, como asseguraram Leu et al., em 1989.

O mesmo tipo de estudo realizado na América do Norte em 1998 (Mathai et al., 2001) apresentou dados similares, entre os quais ***S. aureus*** e ***P. aeruginosa***

novamente surgem como as espécies mais freqüentes entre os isolados bacterianos coletados de pacientes hospitalizados, sendo que, neste caso, **S. aureus** aparece como a espécie prevalente.

A multirresistência demonstrada pelas estirpes de **P. aeruginosa** aos antimicrobianos testados, da mesma forma como observado para **S. marcescens**, sugere que estas cepas possam ter estado envolvidas em processos infecciosos recentes. Neste sentido, outro achado importante diz respeito ao fato de que 2 das cepas isoladas no ar da unidade intensiva da emergência (cepa nº 49) e do CTI (cepa nº 54) do hospital em estudo, apresentaram resistência a carbepenemas, fato que é citado em outro estudo do programa SENTRY (Sader et al., 2005) como um problema terapêutico crítico em nível mundial.

O fato destas cepas terem sido consideradas como estreitamente relacionadas com aquelas isoladas de material clínico de dois pacientes (6P e 7P), por sua vez, sugere que a disseminação pelo ar pode ter exercido algum papel em surtos ocorridos anteriormente, em conformidade com os trabalhos de Mc Donald et al. (1998) e Shimori et al. (2001). Cabe ressaltar que um destes pacientes esteve internado na unidade intensiva da emergência (Quadro 7 - cepa 7P) cerca de 20 dias após a coleta da amostra de ar de onde foi isolada uma das culturas cujo perfil de restrição foi considerado estreitamente relacionado às culturas isoladas de pacientes. O outro paciente, internado na enfermaria da clínica médica, não teve contato com o ambiente do CTI, mas, do mesmo modo que aventado para **S. marcescens**, poderia haver outros mecanismos de transmissão do microrganismo para aquele paciente, como por exemplo, a manipulação por parte da equipe de saúde.

As infecções hospitalares por **S. aureus**, da mesma forma, têm sido bem relatadas, ocorrendo em UTI's de adultos e neonatais, berçários, unidades de queimados, enfermarias, entre outros (Sherertz et al., 1996). Entre as causas que compõem este quadro é apontada a presença de portadores nasais entre os profissionais da área da saúde (Von Eiff, et al., 2001; Weidenmaier et al., 2004). Boyce et al. (1993) discutiram sobre a capacidade de disseminação de **S. aureus** para o ar pelos indivíduos portadores desta bactéria na cavidade nasal,

enquanto Bassetti et al. (2005) estudaram a dispersão de ***S. aureus*** para o ar a partir de indivíduos adultos portadores desta bactéria na cavidade nasal, após serem experimentalmente infectados com rinovirus. Estes autores verificaram que a quantidade de ***S. aureus*** no ar dobrou, com picos maiores que 34 vezes em algumas amostras.

Deste modo, o encontro de uma cultura de ***S. aureus*** multirresistente no ar do CTI do hospital em estudo (cultura de nº 10), com perfil molecular classificado como estreitamente relacionado ao de uma cultura isolada de um paciente do CTI de adultos (8P), nos permite inferir que esta cepa pode ter estado envolvida em processos infecciosos, assim como foi mencionado para ***S. marcescens***, podendo, da mesma forma, ter sido disseminada através do ar.

Neste sentido, Rampling et al. (2001), utilizando as técnicas de tipagem molecular, demonstraram que as cepas de ***S. aureus*** são capazes de resistir à dessecação e sobreviver no meio ambiente por meses. Segundo estes autores, além das vias comumente citadas de disseminação, como as mãos da equipe médica e o compartilhamento de equipamentos médico-hospitalares, as correntes de ar também exerceriam algum papel na contaminação dos pacientes.

Hoffman et al. (1999), inclusive, descreveram três rotas de transmissão de bioparticulados do ar: por inalação, depositando-se diretamente em um ferimento ou sítio susceptível, ou depositando-se em uma superfície e alcançando um sítio susceptível posteriormente.

Assim, cuidados minuciosos parecem ser medidas necessárias para impedir que fibras ou partículas se espalhem pelo ar, principalmente no momento da higienização do paciente e seu leito, além de outras ações normalmente adotadas, como o isolamento do paciente, que, em conjunto, seguramente serão mais eficazes que qualquer uma delas em separado.

Dada a importância de ***S. aureus*** no meio hospitalar, poderíamos esperar o isolamento de muitas cepas desta espécie a partir das amostras de ar coletadas. Entretanto, segundo informações da comissão de infecção hospitalar, este microrganismo encontrava-se bastante controlado por ocasião das coletas de amostras de ar realizadas neste estudo, com a ocorrência de casos esporádicos. Tal constatação, além de explicar o baixo número de cepas de ***S. aureus*** isoladas

das amostras de ar, é de enorme importância neste tipo de estudo porque indica que a técnica adotada possui sensibilidade suficiente para detectar microrganismos mesmo com baixa ocorrência.

Paralelamente, o isolamento de um grande número de culturas de estafilococos coagulase negativos esteve em conformidade com a declaração daquela comissão de que havia uma incidência significativa de casos de infecção hospitalar causadas por este grupo de microrganismos. Por conseguinte, o estudo destes estafilococos, visando correlacionar as espécies presentes no ar, bem como seus perfis genômicos, com as culturas que vêm sendo isoladas de pacientes, poderá ratificar mais uma vez a eficiência das análises microbiológicas de ar ao refletirem a situação do ambiente em questão.

As constatações acima corroboram a aplicabilidade do controle da qualidade microbiológica do ar de interiores aos estudos de cunho epidemiológico em diferentes tipos de ambientes. No meio hospitalar, no entanto, apesar de demonstrada a possibilidade de disseminação de patógenos por via aérea, não foi possível afirmar categoricamente sobre o grau de participação da transmissão por via aérea nas taxas de infecção hospitalar, o que poderá ser investigado em estudos posteriores.

6 CONCLUSÕES

- Os amostradores MAS-100 e de Andersen apresentaram eficiência similar.
- A grande maioria dos locais estudados esteve de acordo com a legislação vigente em nosso país para ambientes internos climatizados, com relação ao limite máximo estabelecido para fungos.
- O estudo da sazonalidade permite sugerir que a temperatura e a umidade relativa do ambiente externo podem influenciar na quantidade de bactérias e de fungos encontrados no ambiente interno climatizado.
- A técnica de ACP demonstrou que as amostras de ar estudadas são semelhantes e formam um grupo homogêneo.
- Os ambientes estudados comportaram-se de maneira diferenciada quanto aos níveis de contaminação microbiana, refletindo suas características de ocupação.
- A técnica de coleta por exposição de placas mostrou-se útil para análises qualitativas de bactérias, mas pouco eficaz na recuperação dos bioparticulados totais, confirmando a necessidade do uso de um instrumento de coleta projetado especificamente para análises quantitativas.
- Os picos de crescimento microbiano observados coincidentemente com as atividades de limpeza confirmam a importância das boas práticas de higienização visando reduzir ao máximo a aspersão de particulados.
- Foi evidenciada uma inter-relação entre patógenos (***S. marcescens*** ***P. aeruginosa*** e ***S. aureus***) oriundos de amostras de ar e de pacientes. Donde se deduz que a disseminação de cepas patogênicas de bactérias

pelo ar representa um risco potencial na propagação das infecções nosocomiais.

- As análises quantitativas e qualitativas do ar de interiores constituem um instrumento essencial para o controle microbiológico de ambientes internos diversos, assim como para os estudos de cunho epidemiológico de infecções nosocomiais.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-DAGAL, M. and FUNG, D. Y. Aeromicrobiology – a Review. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 29, n. 5, p. 333-340. 1990.

ALFIZAH, H.; NORDIAH, A.J.; ROZAIDI, W.S. Using pulsed-field eletrophoresis in the molecular investigation of an outbreak of *Serratia marcescens* infection in an intensive care unit. **Singapore Med. J.**, v. 45, n. 5, p. 214-218. 2004.

ANDERSEN, A.A. New sampler for the collection, sizing, and enumeration of viable airborne particles. **J. Bacteriol.**, v.76, p. 471-484. 1958.

ANDERSON, K., MORRIS, G., KENNEDY, H., CROALL, J, MICHIE, J., RICHARDSON, M.D., GIBSON, B. Aspergillosis in immunocompromised paediatric patients: associations with building hygiene, design, and indoor air. **Thorax.**, v. 51, n.3, p. 256-261. 1996.

AYLIFFE, G.A.J. Role of the Environment of the operating suit in suit in surgical wound infection. **R. Infect. Dis.**, v. 13, n. Suppl. 10, p. 800-804. 1991.

BAKER, D.B. Social and organizational factors in office building-associated illness. **Occupat. Med.**, v. 4, n. 4, p. 607-624. 1989.

BARANIAK, A; SADOWY, E.; HRYNIEWICZ, W.; GNIADKOWSKI, M. Two different extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in one of the first ESBL-producing *Salmonella* isolates in Poland. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, n. 3, p. 1095-97. 2002.

BARRON, G.L. **The Genera of Hyphomycetes from Soil**. Robert & Krieger Publishing Company. New York. USA. 1997. 363p.

BASSETTI, S.; BISCHOFF, W.E.; WALTER, M; BASSETTI-WISS, B.A.; MASON, L.; REBOUSSIN, B.A.; D'AGOSTINO, R.B.JR.; GWALTNEY, J.M.JR.; PFALLER, M.A.; SHERERTZ, R.J. Dispersal of *Staphylococcus aureus* into the air associated with a rhinovirus infection. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, v. 26, n. 2, p.196-203. 2005.

BERG-MUNCH, B.; CLAUSEN, B.G.; FANGER, P.O. Ventilation requirements for the control of body odor in space occupied by women. **Environment International**, 12: 195-199. 1986.

BERNARDO, W.L.C.; BORIOLLO, M.F.G.; GONÇALVES, R.B.; HÖFLING, J.F. *Staphylococcus aureus* ampicilin-resistant from the odontological clinic environment. **Rev. Inst. Med. S. Paulo**, v. 47, n. 1. 2005.

BERQUÓ, L.S.; BARROS, A.J.D.; LIMA, R.C.; BERTOLDI, A.D. Utilização de medicamentos para o tratamento de infecções respiratórias na comunidade. **Ver. Saúde Pública**. v. 38, n. 3, p. 358-364. 2004.

BERRY, C.M. An electrostatic method for collecting bacteria from air. **Publ. Health Report**, v. 56 (Part 2), p. 2044-2051. 1941.

BOYCE, J.M.; OPAL, S.M.; POTTER-BYNOE, G.; MEDEIROS, A.A. Spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a hospital after a exposure to a health care worker with chronic sinusitis. **Clin. Infect. Dis.**, 17: 496-504. 1993.

BRASIL. Ministério da Saúde. Consulta Pública nº 109, de 11 de dezembro de 2003. Proposta de Resolução que Dispõe sobre Indicadores de Qualidade do Ar Ambiental Interior em Serviços de Saúde. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/scriptsweb/consulta_publica/consultas_paginado.asp?ano=2003. Acesso em: 18 jul. 2005.

_____. Resolução – RE nº 176, de 24 de outubro de 2000. Orientação Técnica elaborada por Grupo Técnico Assessor sobre Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo, Diário Oficial da União, Brasília, p. 32-33, 25 out. 2000. Seção 1.

_____. Resolução - RE N° 09, de 16 de janeiro de 2003. Orientação Técnica revisada contendo Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo, Diário Oficial da União, Brasília, p. 35-37, 20 jan. 2003. Seção 1.

_____. Resolução - RE N° 09, de 16 de janeiro de 2003. Orientação Técnica revisada contendo Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo, Diário Oficial da União, Brasília, p. 35-37, 20 jan. 2003. Seção 1.

_____. Portaria nº 3523 de 28 de agosto de 1998. Regulamento Técnico contendo medidas básicas referentes aos procedimentos de verificação visual do estado de limpeza, remoção de sujidades por métodos físicos e manutenção do estado de integridade e eficiência de todos os componentes dos sistemas de climatização, para garantir a Qualidade do Ar de Interiores e prevenção de riscos à saúde dos ocupantes de ambientes climatizados. Diário Oficial da União, Brasília, p. 40-42, 31 ago.1998. Seção 1.

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

BRITO, D.V.D.; MATOS, C.; ABDALLA, V.; AUGUSTO FILHO, D.; FILHO, G; PINTO, P. An outbreak of nosocomial infection caused by ESBLs producing ***Serratia marcescens*** in a Brazilian neonatal unit. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 3, n. 4, p. 194-155. 1999.

BUEMI, M.; FLOCCARI, F.; NETTO, M.; ALLEGRA, A.; GRASSO, F.; MONDIO, G.; PERILLO, P. Environmental air pollution in an intensive care unit for nephrology and dialysis. **J. Nephrol.**, v. 13, p. 433-36. 2000.

BURGE, H.A. Risks associated with indoor infectious aerosols. **Toxicol. Ind. Health**, v. 6, n. 2, p. 263-274. 1990.

BURGE, H.P.; SOLOMON, W.R.; BOISE, J.R. Comparative merits of eight popular media in aerometrics studies of fungi. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 60, n. 3, p.199-203. 1977.

BUTTNER, M.A.; STETZENBACH, L.D. Monitoring airborne fungal spores in an experimental indoor environment to evaluate sampling methods and the effects of human activity on air sampling. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 59, n. 1, p. 219-226. 1993.

CHAKRABARTI, A.; NAYAK, N.; SAMPATH KUMAR, P.; TALWAR, P.; CHARI, P.S.; PANIGRAHI, D. Surveillance of nosocomial fungal infections in a burn care unit. **Infection.**, v. 20, n. 3, p. 132-135. 1992.

CHAN, P. Indoor air quality and the law in Singapore. **Indoor Air**, v. 9, n. 4, p. 290-296. 1999.

CHOKEPHAIBULKIT, K.; DANCHAIVIJITR, S.; BOONPRAGAIGAEW, G.; DHIRAPUTRA, C.; VANPRAPA, N.; VISITSUNTHORN, N.; TRAKULSOMBOON, S. The outbreak of *Serratia marcescens* bacteremia in a pediatric ward, Sriraj Hospital 1997. **J. Med. Assoc. Thai.**, v. 85, n. Suppl. 2, p. S574-681. 2002.

COLLET, C.M.A.; STERLING, E.B.A. Estratégia de investigação para o diagnóstico e resolução dos problemas causados pela quantidade de ar em escritórios. **Rev. Bras. Saúde Ocupac.**, v. 18, n. 70, p. 59-61. 1990.

COLWELL, R. R.; BRAYTON, P. R.; GRIMES, D. J.; ROSZAK, D. B.; HUG, S. A.; PALMER, L. M. Viable but non-culturable *Vibrio cholerae* O1 revert to a cultivable state in the human intestine. **World J. Microbiol. Biotechnol.**, v. 12, p. 28-31. 1996.

COOPER, E.E.; O'REILLY, M.A.; GUEST, D.I.; DHAMAGE, S.C. Influence of building construction work on *Aspergillus* infection in a hospital setting. **Infect. Control Hosp. Epidemiol.**, v. 24, n. 7, p. 472-476. 2003.

CORNET, H; LEVY, V.; FLEURY, L.; LORTHOLARY, J.; BARQUINS, S.; COUREUL, M-H; DELIERE, E.; ZITTOUUN, R.; BRÜCKER, G.; BOUVET, A. Efficacy of prevention by high-efficiency particulate air filtration or laminar airflow against *Aspergillus* airborne contamination during hospital renovation. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, v. 20, p. 508-513. 1999.

CROFT, W.A.; JARVIS, B.B.; YATAWARA, C.S. Airborne outbreak of trichothecene toxicosis. **Atmos. Environ.**, v. 20, p. 549-552. 1986.

DAVIES, R.J.; RUSZNAK, C.; DEVALIA, J.L. Why allergy is increasing? - Environmental factors. **Clin. Exp. Allergy**, v. 28, n. Suppl. 6, p. 8-14. 1998.

DOEBBELING, B.N.; WENZEL, R.P. The epidemiology of *Legionella pneumophila* infections. **Semin Respir Infect.**, v. 2, n.4, p. 206-221. 1987.

DOUWES, J. (1→3)-β-D-glucans and respiratory health: a review of the scientific evidence. **Indoor Air**, v. 15, n. 3, p. 160-169. 2005.

DUTKIEWICZ J. Bacteria, fungi, and endotoxin as potential agents of occupational hazard in a potato processing plant. **Am. J. Ind. Med.**, v. 25, n. 1, p.43-6. 1994.

DYKSTRA, M.J.; LOOMIS, M.; REININGER, K.; ZOMBECK, D.; FAUCETTE, T. A comparison of sampling methods for airborne fungal spores during an outbreak of

aspergillosis in the forest aviary of the North Carolina zoological park. **J. Zoo Wildlife Med.**, v. 28, n. 4, p. 454-463. 1997.

EDMONDS, R.L. Collection efficiency of rotorod samplers for sampling fungus spores in the atmosphere. **Plant Dis. Report.**, v. 56, n. 8, p. 704-708. 1972.

EDWARDS, J.H. Microbial and immunological investigations and remedial action after an outbreak of humidifier fever. **Brit. J. Ind. Med.**, v. 37, p 55-62. 1980.

EICKHORT, T.C. Airborne nosocomial infection: a contemporary perspective. **Infect. Control Hosp. Epidemiol.**, v. 15, p. 663-672. 1994.

EPA. Indoor Air Pollution. An Introduction for Health Professionals. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. 1992. 30p.

EVERETT, W.D.; KIPP, H. Epidemiologic observations of operating room infections resulting from variations in ventilation and temperature. **Am. J. Infect. Control**, v. 19, p. 277-282. 1991.

FANG, L.; CLAUSSEN, G.; FANGER, P.O. Impact of temperature and humidity on chemical and sensory emissions from building materials. **Indoor Air**, v. 9, n. 3, p. 193-201. 1999.

FANG, L.; WION, D.P.; CLAUSSEN, G.; FANGER, P.O. Impact of indoor air temperature and humidity in a office on perceived air quality, SBS, symptoms and performance. **Indoor Air**, v. 14, n. Suppl 7, p. 74-81. 2004.

FINNEGAN MJ, PICKERING CA, BURGE PS. The sick building syndrome: prevalence studies. **Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.)**, v. 8, n. 289(6458), p. 1573-1575. 1984.

FISK, W.J.; ROSENFELD, A.H. Estimates of improved productivity and health from better indoor environments. **Indoor Air**, v. 7, p. 158-172. 1997.

GALES, A.C.; SADER, H.S.; JONES, R.N. Respiratory tract pathogens isolated from patients hospitalized with suspected pneumonia in Latin America: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility profile: results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2000). **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 44, n. 3, p. 301-311. 2002

GARDAM, M.A.; BUROWS, L.L.; KUS, J.V.; BURTON, J.; LOW, D.E.; CONLY, M.J.; HUMAR, A. Is surveillance for multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* an effective infection control strategy in the absence of an outbreak? **J. Infect. Dis.**, v. 186, p. 1754-1760. 2002.

GELCOMPARE II. Comparative Analysis of Electrophoresis Patterns, Version 1.50, Applied Maths, Belgium. 2000.

GIRLICH, D.; POIREL, L.; LEELAPORN, A.; KARIM, A.; TRIBUDDIHARAT, C.; FENEWALD, M.; NORDMANN, P. Molecular Epidemiology of the integron-located VEB-1 extended-spectrum β -lactamase in nosocomial enterobacterial isolates in Bangkok, Thailand. **J. Clin. Microbiol.**, v. 39, n. 1, p. 175-82. 2001.

GOH, L.; OBBARD, J.P.; VISWANATHAN, S.; HUANG, Y. Airborne bacteria and fungal spores in the indoor environment – a case study in Singapore. **Acta Biotechnol.**, v. 20, p. 67-73. 2000.

GUPTA, K.C.; ULSAMER, A.G.; PREUSS, P.W. Formaldehyde in indoor air: Sources and toxicity. **Environ. Int.**, v. 8, n. 1-6, p. 349-358. 1982.

HACHEM, RY.; KOTOYIANNIS, D.P.; BOKTOUR, M.R.; AFIF, C.; COOKSLEY, C.; BODEY, G.P.; CHTZINIKOLAOU, I.; PEREGO, C.; KANTARJIAN, H.M.; RAADI, I.

Aspergillus terreus: an emerging anphotericin B-resistant opportunistic mold in patients with hematologic malignancies. **Cancer**, 101, n. 7, p. 1594-1600. 2004.

HAMBRAEUS, A.. Dispersal and transfer of ***Staphylococcus aureus*** in an isolations ward for burned patients. **J. Hyg.**, v. 71, p. 787-797. 1973.

HANDAL, G.; LEINER, M.A.; CABRERA, M.; STRAUS, D.C. Children symptoms before and after knowing about an indoor fungal contamination. **Indoor Air**, v. 14, p. 87-91. 2004.

HARAKEH, S.; YASSINE, H.; GHARIOS, M.; BARBOUR, E.; HAJJAR, S.; EL-FADEL, M.; TOUFEILI, I.; TANNOUS, R. Isolation, molecular characterization and antimicrobial resistance patterns of ***Salmonella*** and ***Escherichia coli*** isolates from meat based fast food in Lebanon. **Sci. Total Environ.**, v. 341, n. 1-3, p. 33-44. 2005.

HARTEMANN, P. Maîtrise des risques infectieux liés à l'air et à l'eau en milieu hospitalier. **Rev. Praticien.**, v. 48, p. 1547-1551. 1998.

HATCH, M.T.; DIMMICK, R.L. Physiological responses of airborne bacteria to shifts in relative humidity. **Bacteriol. Rev.**, v. 30, n. 3, p. 597-602. 1966.

HAYES, M.S.; GOBBELL, R.V.; GANICK, N.R. **Indoor Air Quality. Solutions and strategies**. McGraw Hill, Inc. New york. USA. 1995. 417p.

HEEDERIK, D.; DOUWES, J.; WOUTERS, I.; DOEKES, G. Organic dusts: beyond endotoxin. **Inhalat. Toxicol.**, v. 12, n. Suppl 3, p. 27-33. 2000.

HEIDELBERG, F.J.; SHAHAMAT, M.; LEVIN, M.; RAHMAN I.; STELMA, G.; GRIM, C.; COLWELL, R.R. Effect of aerosolization on culturability and viability of Gram-negative bacteria. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 63, n. 9, p. 3585-3588. 1997.

HEINEMANN, S.; SYMOENS, F.; GORDTS, B.; JANNES, H.; NOLARD, N. environmental investigations and molecular typing of *Aspergillus flavus* during an outbreak of postoperative infections. **J. Hosp. Infect.**, v. 57, n. 2, p. 149-155. 2004.

HOFFMAN, P.N.; BENNETT A.M.; SCOTT G.M. Controlling airborne infections. **J. of Hosp. Infect.**, v. 43 Suppl., p. 203-210. 1999.

HUNTER, C.A.; GRANT, C.; FLANNIGAN, B.; BRAVERY, A.F. Mould in buildings: the air spora of domestic dwellings. **Intern. Biodet.**, v. 24, p. 81-101. 1988.

JACOBS, R.R. Airborne endotoxins: an association with occupational lung disease. **Appl. Ind. Hyg.**, v. 4, n 2, p. 50-56. 1989.

JANSEN, P.A.; TODD, W.F.; DAVIS, G.N.; SCARPINO, P.Y. Evaluation of eight bioaerosol samplers challenged with aerosols of free bacteria. **Am. Ind. Hyg. Assoc. J.**, v. 53, n. 10, p. 660-667. 1992.

JANSSEN, N.A.H.; DE HARTOG, J.J.; HOEK, G.; BRUNEKREEF, B.; LANKI, T.; TIMONEM, K.; PEKKANEM, J. Personal exposure to fine particulate matter in elderly subjects: relation between personal, indoor and outdoor concentrations. **J. Air Waste Manag. Assoc.**, v. 50, p. 1133-1143. 2000.

JONES, A.P. Asthma and domestic air quality. **Soc. Sci. Med.**, v. 47, n. 6, p. 755-764. 1998.

_____. Indoor air quality and health. **Atmosph. Environm.**, v. 33, n. 28, p. 4535-4564. 1999.

KANG, Y.J; FRANK, J.F. Biological aerosols: a review of airborne contamination and its measurement in dairy processing plants. **J. Food Prot.**, v. 52, n. 7, p. 512-524. 1989a.

_____. Comparison of airborne microflora collected by the Andersen sieve sampler in a dairy processing plant. **J. Food Prot.**, v. 52, n. 12, p. 887-880. 1989b.

KETHLEY, T.W.; FINCHER, E.L.; COWN, W.B. The effect of sampling method upon the apparent response of airborne bacteria to temperature and relative humidity. **J. Infect. Dis.**, v. 100, p. 97-102. 1957.

KIMBER, I. Allergy, asthma and the environment: an introduction. **Toxicol. Lett.**, v. 102, p. 301-306. 1998.

KLICH, M.A. **Identification of common *Aspergillus* species**. CBS, Utrecht, The Netherlands. 2002. 116p.

KLICH, M.A. & PITT, J.I. **A laboratory guide to common *Aspergillus* species and their teleomorphs**. Commonwealth scientific & industrial research organization. division of food processing. North Ribe. 1998. 116p.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN, W.C. **Colour atlas and textbook of diagnostic microbiology**. 5th ed.. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins. 1997. 1395p

KOTULA, A.W.; GUILFOYLE, B.S.; EMSWILER, B.S.; PIERSON, M.D. Comparison of single and multiple stage sieve samplers for airborne microorganisms. **J. Food Prot.**, v. 41, n. 6, p. 447-449. 1978.

KRISNAN, P.U., PEREIRA, B.; MACADEN, R. Epidemiological study of na outbreak of ***Serratia marcescens*** in a haemodialysis unit. **J. Hosp. Infect.**, v. 18, n. 1, p. 57-61. 1991.

KULCSAR NETO, F; SIQUEIRA, L.F.G. Padrões referenciais para análise de resultados de qualidade microbiológica de interiores visando a saúde pública no Brasil. **Rev. Brasindoor**, v. 2, n. 10, p. 4-20. 1998.

LA NASA, G.; LITTERA, R.; MARCCIONI, A.; LEDDA, A.; VACCA, A.; CONTU, L. Variconazole for the treatment of disseminated nodular cutaneous aspergillosis in a patient affected by acute myeloid leukemia. **Hematol. J.**, v. 5, n. 2, p. 178-180. 2004.

LACEY, J.; CROOK, B. Fungal and actinomycete spores as pollutants of the workplace and occupational allergens. **Ann. Occup. Hyg.**, v. 32, n. 4, p. 515-533. 1988.

LAHTINEN, M.; HUUHTANEN, P.; REIJULA, K. Sick building syndrome and psychosocial factors – a literature review. **Indoor Air**, v. S4, p. 71-80. 1998.

LAI, C.R.W.; DOUGLASS, C.; HO, S.S.; CHAN, J.; LAU, J.; WONG, G.; LEUNG, R. Asthma epidemiology in the Far East. **Clin. Exp. Allergy**, v. 26, n. 1, p. 5-12. 1996.

LEBOWITZ, M.D. et al. Health in the urban environment. **Am. Rev. of Resp. Dis.**, v. 106, p. 824-841. 1972.

LEDSON, M.J.; GALLAGHER, M.J.; CORKILL, J.E.; HART, C.A.; WALSHAW, M.J. Cross infection between cystic fibrosis patients colonized with *Burkholderia cepacia*. **Thorax**, v. 53, n. 5p. 432-436. 1998.

LEE, K.S.; BARTLETT, K.H.; BRAUER, M.; STEPHENS, G.M.; BLACK, W.A.; TESCHKE, K. A field comparison of four samplers for enumerating fungal aerosols. I. Sampling characteristics. **Indoor Air**, v. 14, p. 360-366. 2004.

LEE, S.C.; CHANG, M. Indoor air quality investigations at five classrooms. **Indoor Air**, v. 9, n. 2, p. 134-138. 1999.

_____. Indoor and outdoor air quality investigation at schools in Hong Kong. **Chemosphere**, v. 41, n. 1-2, p. 109-113. 2000.

LEENDERS, A.C.A.P.; BELKUM, A.; BEHRENDT, M.; LUIJENDIJK, AD.; VERBRUGH, H.A. Density and molecular epidemiology of *Aspergillus* in air and relationship to outbreaks of *Aspergillus* infection. **J. Clin. Microbiol.**, v. 37, n. 6, p. 1752-1757. 1999.

LEITE, C.C.; REGO, F.L.T.; SILVA, M.D.; ASSIS, P.N.; MORAES, M.B.; SOUSA, L.S. Contaminação microbiológica do ar em ambientes internos de edifícios climatizados. **Rev. Analítica**, v. 9, p. 39-41. 2004.

LENTINO, J.R.; ROSENKRANZ, M.A.; MICHAELIS, J.A.; KURUP, V.P.; ROSE, H.D.; RYTEL, M.W. Nosocomial aspergillosis. **Am. J. Epidemiol.**, v. 116, n. 3, p. 430-437. 1982.

LEU, H.S.; KAISER, D.L.; MORI, M.; WOOLSON, R.F.; WENZEL, R.P. Hospital-acquired pneumonia. Attributable mortality and morbidity. **Am. J. Epidemiol.**, v. 129, n. 6, p. 1258-1267. 1989.

LI, D.W.; KENDRICK, B. A year-round study on functional relationships of airborne fungi with meteorological factors. **Int. J. Biometeorol**, v. 39, p. 74-80, 1995.

LIMA FILHO, A.A.S.; BELFORT JUNIOR, R.; VITA SOBRINHO, J.B.; BATISTUZZO, J.A.O. Avaliação microbiológica ambiental em salas de centros cirúrgicos utilizadas em cirurgias oftalmológicas. **Arq. Bras. Oftalmol.**, v.; 61, n. 3, p. 335-344. 1998.

LOUDON, K.W.; COLE, A.P.; BURNIE, J.P.; SHAW, A.J.; OPPENHEIN, B.A.; MORRIS, C.Q. Kitchens as a source of *Aspergillus niger* infection. **J. Hosp. Infect.**, v. 32, n. 3, p. 191-198. 1996.

LOUREIRO, M.M.; MORAES, B.A.; QUADRA, M.R.R.; PINHEIRO, G.S.; ARSENSI, M.D. *Pseudomonas aeruginosa*: study of antibiotic resistance and molecular typing in hospital infection cases in a Neonatal intensive care unit from

Rio de Janeiro city, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 3, p. 387-394. 2002a.

_____. Study of multi-drug resistant microorganisms isolated from blood cultures of hospitalized newborns in Rio de Janeiro city, Brazil. **Braz. J. Microbiol.**, v. 33, p.73-78. 2002b.

LOWBURY, E.J.L.; BABB, J.R. e FORD, P.M. Protective isolation in a burns unit: the use of plastic isolators and air curtains. **J. Hyg.**, v. 69, p. 529-46. 1971.

LUNDHOLM, M. Comparison of methods for quantitative determinations of airborne bacteria and evaluation of total viable counts. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 44, n. 1, p. 179-183. 1982.

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

MACHER, J.M.; FIRST, M.W. Reuter centrifugal air sampler measurement of effective airflow rate and collection efficiency. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 45, n. 6, p. 1960-1962. 1983.

MACHER, J.M.; HUANG, F.; FLORES, M. A two year study of microbiological indoor air quality in a new apartment. **Arch. Environ. Health**, 46, n. 1, p. 25-29. 1991.

MAC FADDIN, J.F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria**. 3rd ed. Lippincott Williams and Wilkins Company. Philadelphia. 2000. 912p.

MAC MILLAN, B.G.; EDMONDS, P.; HUMMEL, R.P. e MALEY, M.P.. Epidemiology of *Pseudomonas* in a burn intensive care unit. **J. Trauma.**, v.13, p. 627-638. 1973.

MASSART, D.L.; VANDEGINSTE, B.G.M.; BUYDENS, L.M.C.; de JONG, S.; LEWI, P.J. AND SMEYERS-VERBEKE, J. **Handbook of Chemometrics and Qualimetrics**: Part A. Data Handling in Science and Technology – Volume A. Elsevier 1997. 867 p.

MATHAI, D.M.; LEWIS, T.; KUGLER, K.C.; PFALLER, M.A.; JONES, R.N. Antibacterial activity of 41 antimicrobials tested against over 2773 bacterial isolates from hospitalized patients with pneumonia: I – results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (North America, 1998). **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 39, p. 105-116. 2001.

MAY, K.R. Calibration of a modified Andersen bacterial aerosol sampler. **Appl. Microbiol.**, v. 12, n. 1, p. 37-43. 1964.

MC DONALD, L.C.; WALKER, M.; CARSON, I.; ARDUINO, M. Outbreak of ***Acinetobacter spp.*** Bloodstream infections in a nursery associated with contaminated aerosols and air conditioners. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 17, n. 8, p. 176-722. 1998.

MENZIES, D.; BOURBEAU, J. Building-related illnesses. **N. Engl. J. Med.**, v. 337, n. 21, p. 1524-1531. 1997.

MENZIES, R.; TAMBLIN, R.; FARANT, J.; HANLEY, J.; NUNES, F.; TAMBLYN, R. The effect of varying levels of a outdoor-air supply on the symptoms of sick building syndrome. **New Engl. J. Med.**, v. 328. p. 821-827. 1993.

MICROSOFT Office Excel, Version 7.0, Microsoft. USA. 1997.

MILLER, J.D. Fungi as contaminants of indoor air. **Atmosph. Environm.**, v. 26A, n. 12, p. 2163-2172. 1992.

MILLER, J.D.; LAFLAMME, A.M.; SOBOL, Y.; LAFONTAINE, P.; GREENHALGH, R. Fungi and fungal products in some Canadian houses. **Int. Biodeter.**, v. 24, p. 103-120. 1988.

MILLER, J.N.; MILLER, J.C. Statistics and chemometrics for analytical chemistry. 4th Edition. Prentice Hall. Harlow, England. 2000. 263 p.

MONTGOMERY, D.C. **Introduction to statistical quality control**. 4th Edition. John Wiley e Sons, Inc. New York, USA. 2001. 796 p.

MORAWSKA, L.; JAMRISKA, M; FRANCIS, P. Particulate matter in the hospital environment. **Indoor air.**, v. 8, n. 4, p. 285-.294. 1998.

MOREY, R.P.; HODGSON, M.J.; SORENSON, W.G.; KULLMAN, G.J.; RHODES, W.W; VISVESVARA, G.S. Environmental studies in mouldy office buildings biological :agents, sources, and preventive measures. **Ann. ACGIH**, v. 10, p. 21-35. 1984.

MORRIS, G.; KOKKI, M.; RICHARDSON, M. Methods for sampling **Aspergillus** spores in air. Disponível em: <http://www.aspergillus.man.ac.uk./secure/richard.htm> 1999. Acesso em: 19 jul. 2005.

MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; JORJENSEN, J.H.; ALLER, M.A.; YOLKEN, R.H. **Manual of Clinical Microbiology**. American Society for Microbiology. Eighth Edition. Vol. I. Washington, D.C. USA. 2003. 1212p.

NARDELL, E.A. Air sampling for tuberculosis-homage to the lowly guinea pig. **Chest**, v. 116, n. 4, p. 1143-1144. 1999.

NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 8th edition. NCCLS. Document M2-A8 (ISBN 1-56238.4856). Pensilvânia. USA. Vol. 23, n. 1. 2003. 31p.

NILSSON, A.; KIHLESTRÖM, E.; LAGESSON, V.; WESSÉN, B.; SZPONAR, B.; LARSSON, L.; TAGESON, C. Microorganisms and volatile organic compounds in airborne dust from damp residences. **Indoor Air**, v. 14, p. 74-82. 2004.

OHGKE, H.; GEERS, A.; BECKERT, J. "Fungal load of indoor air in historical and newly constructed buildings used by public services. In: PROCEEDINGS OF THE 5th INTERNATIONAL CONFERENCE ON INDOOR AIR QUALITY AND CLIMATE, v. 2, p. 47-50. 1990.

OLESEN, B.W. International standards for the indoor environment. **Indoor Air**, v. 14, n. Suppl. 7, p. 18-26. 2004.

OMRAM, M.; RUSSEL, G. Continuing increase in respiratory symptoms and atopy in Aberdeen schoolchildren. **Br. Med. J.**, v. 312, p. 34. 1996.

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

ORMAN, B.E.; PIÑEIRO, S.A.; ARDUINO, S.; GALAS, M.; MELANO, R.; CAFFER, M.I.; SORDELLI, D.O.; CENTRÓN, D. Evolution of multiresistance in nontyphoid *Salmonella* serovars from 1984 to 1998 in Argentina. **J. Antimicrob. Chem.**, v. 46, n. 12, p. 3963 - 3970. 2002.

OVERBERGER, P.A.; WADOWSKY, R.W.; SCHAPER, M.M. Evaluation of airborne particulates and fungi during hospital renovation. **Am. Ind. Hyg. Assoc. J.**, v. 56, p. 706-712. 1995.

OWEN, M.K.; ENSOR, D.S. Airborne particle sizes and sources found in indoor air. **Atmospheric Environm.**, v. 26A, n. 12, p. 2149-2162. 1992.

PASANEN, A.-L.; PASANEN, P.; JANTUNEN, M.J.; KALLIOKOSKI, P. Significance of air humidity and air velocity for fungal spore release into the air. **Atmospheric Environm.**, v. 25, n. 2, p. 459-462. 1991.

PERFECT, J.R.; COX, G.M.; LEE, J.Y.; KAUFFMANN, C.A.; REPENTIGNY, L.; CHAPMAN, S.W.; MORRISON, V.A.; PAPPAS, P.; HIEMENZ, J.W.; STEVENS, D.A.; MYCOSES STUDY GROUP. The impact of cultura isolation of ***Aspergillus*** species: a hospital-based survey of aspergillosis. **Clin. Infect. Dis.**, v. 33, p. 1824-1833. 2001.

PINO, P. Medición de efectos de la contaminación del aire en poblaciones. **Rev. Chil. Enferm. Respir.**, v. 15, n. 1, p. 43-49. 1999.

PITZURRA, M.; SAVINO, A.; PASQUARELLA, C. Microbiological environment monitoring (MEM). **Ann Ig.**, v. 9, n. 6, p. 439-454. 1997.

PLATTS-MILLS, T.A.E.; HAYDEN, M.L.; CHAPMAN, M.D.; WILKINS, S.R. Seasonal variation in dust mite and grass-pollen allergens in dust from the houses of patients with asthma. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 79, p. 781-791. 1987.

POIREL, L.; WELDHAGEN, F.G.; DE CHAMPS, C.; NORDMANN, P. A nosocomial outbreak of ***Pseudomonas aeruginosa*** isolates expressing the extended-spectrum β -lactamase GES-2 in South Africa. **J. Antimicrob. Chem.**, v. 49, p. 561-565. 2002.

POUTANEN, S.M.; TOMPKINS, L.S. Molecular methods in nosocomial epidemiology. In: WENGEL, R.P. **Prevention and control of nosocomial infection**. Lippincott. Williams e Wilkins. 4th Edition. Philadelphia. USA. 2003. 499p.

PRAHL, P. Reduction of indoor airborne mould spores. **Allergy**, v. 47, p. 362-365. 1992.

RAMPLING, A.; WISEMAN, S.; DAVIS, L.; HYETT, A.P.; WALBRIDGE, A.N.; Evidence that hospital hygiene is important in the control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **J. Infect. Soc.**, v. 49, p. 109-116. 2001.

RAO, C.Y.; BURGE, H.A.; CHANG, J.C.S. Review of quantitative standards and guidelines for fungi in indoor air. **J. Air & Waste Manage. Assoc.**, v. 46, p. 899-908. 1996.

RASTOGI, V.; PUROHIT, P.; PETERS, B.P.; NIRVAN, P.S. Pulmonary infection with *Serratia Marcescens*. **Ind. J. Med. Microbiol.**, v. 20, n. 3, p. 167-168. 2002

RATH, P.-M; ANSORG, R. Value of environmental sampling and molecular typing of aspergilli to assess nosocomial sources of aspergilosis. **J. Hosp. Infect.**, v. 37, p. 47-53. 1997.

REN, T.J; FRANK, J.F. A survey of four fluid milk processing plants for airborne contamination using various sampling methods. **J. Food. Prot.**, v. 55, n. 1, p. 38-42. 1992a.

_____. Measurement of airborne contamination in two commercial ice cream plants. **J. Food. Prot.**, v. 55, n. 1, p. 43-47. 1992b.

RILEY, R.L. Indoor airborne infection. **Environ.Int.**, v. 8, p. 317-320. 1982.

ROM, W.N.; TRAVIS, W.D; BRODY, A.R. Cellular and molecular basis of the asbestos-related diseases. **Am. Rev. of Respir. Dis.**, v. 143, p. 408-422. 1991.

ROTTON, J; WHITE, S.M. Air pollution, the sick building syndrome, and social behavior. **Environ. Intern.**, v. 22, n. 1, p. 53-60. 1996.

RUDNICK, S.N.; MILTON, D.K. Risk of indoor airborne infection transmission estimated from carbon dioxide concentration. **Indoor Air**, v. 13, n. 3, p. 237. 2003.

RUSSIAN FEDERATION. Maximum Allowable concentrations of harmful substances. State Committee for Hygiene and Epidemiological Surveillance. 1993.

RYLANDER, R. Endotoxin in the environment – exposure and effects. **J. Endotoxin Res.**, v. 8, n. 4, p. 241-252. 2002.

SAMET, J.M. Radon and lung cancer. **J. Nat. Cancer Inst.**, v. 81, n. 10, p. 745-757. 1989.

SAMET, J.M.; LAMBERT, W.E.; SKIPPER, B.J.; CUSHING, A.H.; HUNT, W.C.; YOUNG, S.A.; MCLAREN, L.C.; SCHWAB, M.; SPENGLER, J.D. Nitrogen dioxide and respiratory illness in infants. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 148, p. 1258-1265. 1993.

SADER, H.S.; CASTANHEIRA, M.; MENDES, R.E.; TOLEMAN, M.; WALSH, T.R.; JONES, R.N. Dissemination and diversity of metallo-beta-lactamase in Latin America: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. **Int. J. Antimicrob. Agents**, v. 25, n. 1, p. 57-61. 2005.

SAMSON, R.A. Occurrence of moulds in modern living and working environments. **Eur. J. Epidemiol.**, v.1, p. 54-61. 1985.

SANTOS, U.P.; RUMEL, D.; MARTARELLO, N.A.; FERREIRA, C.S.W.; MATOS, M.P. Síndrome dos edifícios doentes em bancários. **Rev. Saúde Pública**, v. 26, n. 6, p. 400-404. 1992.

SARUBBI JR., F.A.; KOPF, H.B.; WILSON, M.B.; MCGINNIS, M.R.; RUTALA, W.A. Increased recovery of *Aspergillus flavus* from respiratory specimens during hospital construction. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 125, p. 33-38. 1982.

SARVIKIVI, E.; LYYTIKÄINEN, O.; SALMENLINNA, S.; VUOPIO-VARKILA, J.; LUUKKAINEN, P.; TARKKA, E.; SAXEN, H. Clustering of *Serratia marcescens*

infections in a neonatal intensive care unit. **Infect. Control Hosp. Epidemiol.**, v. 25, n. 9, p. 723-729. 2004.

SCHAAL, KP. Medical and microbiological problems arising from airborne infection in hospitals. **J. Hosp. Infect.**, v. 18, Suppl A, p. 451-459. 1991.

SCHMITT, H.J.; BLEVINS, A.; SOBECK, K.; ARMSTRONG, D. **Aspergillus species** from hospital air and from patients. **Mycoses**, v. 33, n. 11/12, p. 539-541. 1991.

SEKHAR, S.C.; THAM, K.W.; CHEONG, K.W. Indoor air quality and energy performance of air-conditioned office buildings in Singapore. **Indoor Air**, v. 13, p. 315-331. 2003.

SELIKOFF, I.J.; GREENBERG, M. A landmark case in asbestosis. **J. Am. Med. Assoc.**, v. 265, n. 7, p. 898-901. 1991.

SHERERTZ, R.J.; REAGAN, D.R.; HAMPTON, K.D.; ROBERTSON, K.L.; STREED, S.A.; HOEN, H.M.; THOMAS, R.; GWALTNEY, J.M. A cloud adult: **Staphylococcus aureus**-virus interaction revisited. **Ann. Intern. Med.**, v. 124, n. 6, p. 539-547. 1996.

SHIOMORI, T.; MIYAMOTO, H., MAKISHIMA, K. Significance of airborne transmission of methicillin-resistant **Staphylococcus aureus** in an otolaryngology head and neck surgery unit. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 127, n. 6, p. 644-648. 2001.

SIQUEIRA, L.F.G. A síndrome do edifício doente, o meio ambiente e a infecção hospitalar. In: FERNANDES, A.T. e col. **Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde**. Atheneu, São Paulo. Brasil. 2000. p 1307-1322.

SIQUEIRA, L.F.G.; DANTAS, E.H.M. Organização e métodos no processo de avaliação da qualidade do ar de interiores. **Rev. Brasindoor**, v. 3, n. 2, p. 19-26. 1999.

SOLOMON, W.R. Volumetric studies of aeroallergen prevalence. I. Pollens of weedy forbs at a Midwestern station. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 57, n. 4, p. 318-327. 1976.

SORENSEN, W.G.; FRASER, D.G.; JARVIS, B.B.; SIMPSON, J.; ROBINSON, V.A.. Trichothecene mycotoxins in aerosolized conidia of *Stachybotrys atra*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 53, p. 1370-1375. 1987.

SPENGLER, J.D.; SEXTON, K. Indoor air pollution: a public health perspective. **Science** (Washington, DC), v. 221, p. 9-17. 1983.

SPIEGELMAN, J.; FRIEDMAN, H. The effect of central air filtration and air conditioning on pollen and microbial contamination. **J. Allergy**, v. 42, n. 4, p. 193-202. 1968.

STEINBACH, W.J.; BENJAMIN, D.K. Jr; KONTOYIANNIS, DP, PERFECT, J.R.; LUTSAR, I.; MARR, K.A.; LIOKANIS, M.S.; TORRES, H.A.; JAFRI, H.; WALSH, T.J. Infection due to *Aspergillus terreus*: a multicenter retrospective analysis of 83 cases. **Clin. Infect. Dis.**, v. 39, n. 2, p. 192-198. 2004a.

STEINBACH, W.J.; PERFECT, J.R.; SCHELL, W.A.; BENJAMIN, D.K. Jr. In vitro analyses, animal models, and 60 clinical cases of *Aspergillus terreus* infection. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 48, n. 9, p. 3217-3225. 2004b.

STEWART, S.L.; GRINSHPUN, S.A.; WILLEKE, K.; TERZIEVA, S.; ULEVICIUS, V.; DONNELLY, J. Effect of impact stress on microbial recovery on an agar surface. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 61, n. 4, p. 1232-1239. 1995.

STONE, V. Environmental air pollution. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 162, n. 2 Pt 2, p. S44 - S47. 2000.

SU, H.J.; ROTNITZKY, A.; BURGE, H.A.; SPENGLER, J.D. Examination of fungi in domestic interiors by using factor analysis: correlations and associations with home factors. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 58, n. 1, p. 181-186. 1992.

SUNDELL, J. On the history of indoor air quality and health. **Indoor Air**, v. 14, n. Suppl. 7, p. 51-58. 2004.

SURVEILLANCE microbiologique de l' environnement dans les établissements de santé. Air, eaux et surfaces. DGS/DHOS, CTIN – Ministère de la santé, de la famille et des personnes handicapées. 2002. 77p.

SVARTENGREN M, FALK R, LINNMAN L, PHILIPSON K, CAMNER P. Deposition of large particles in human lung. **Exp. Lung Res.**, v.12, n. 1, p. 75-88. 1987.

TEETERS, K.; JONES, T.; BOATMAN, J.F. The future of indoor air quality: Legal and economic implications. **Cornell Hotel Restaur. Administr. Quart.**, v. 36, n. 2, p. 43-49. 1995.

TENOVER, F.C.; ARBEIT, R.D.; GOERING, R.V.; MICKELSEN, P.A.; MURRAY, B.E.; PERSING, D.H.; SWAMIATHAN, B. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. **J. Clin. Microbiol.**, v. 33, p. 2233-2239. 1995.

TURNER, P.J.; GREENHALGH, J.M.; EDWARDS, J.R.; et al. The MYSTIC (meropenem yearly susceptibility test information collection) programme. **Int. J. Antimicrob. Agents.**, v. 13, n. 2, p. 117-125. 1999.

UDUMAN, S.A.; FARRUKH, A.S.; NATH, K.N.R.; ZUHAIR, M.Y.H.; IFRAH, A.; KHAWLA, A.D.; SUNITA, P. An outbreak of *Serratia marcescens* infection in a

special-care baby unit of a community hospital in United Arab Emirates: the importance of the air conditioner duct as a nosocomial reservoir. **J. Hosp. Infect.**, v. 52, p. 175-180. 2002.

UNSCRAMBLER, Version 8.0, Camo Process AS, Norway, 2003.

VANDENBERGH, M.F.Q.; VERWEIJ, P.E.; VOSS, A. Epidemiology of nosocomial fungal infections: invasive aspergillosis and the environment. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 34, p. 221-227. 1999.

VON EIFF, C.; BECKER, K.; MACHKA, K.; STAMMER, H. ; PETERS, G. Nasal carriage as a source of ***Staphylococcus aureus*** bacteremia. **New Engl. J. Med.**, v. 344, p. 11-16. 2001.

WAHLSTROM, J.; CALDERON, J.; STRIEFEL, A.; JOHNSON, B.; BLUMENTHAL, M. Environmental exposure and ***Aspergillus niger*** hypersensitivity. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 83, n. 1, p. 266. 1989.

WASSERMAN, S. Basic mechanisms in asthma. **Ann. Allergy**, v. 16, p. 477-482. 1988.

WEIDENMAIER, C.; KOKAI-KUM, J.F.; KRISTIAN, S.A.; CHANTURIVA, T.; KALBACHER, H.; GROSS, M.; NICHOLSON, G.; NEUMEISTER, B.; MOND, J.J.; PERSCHEL, A. Role of teichoic acids in ***Staphylococcus aureus*** nasal colonization, a major risk factor in nosocomial infections. **Nat. Med.**, v. 10, p. 243-245. 2004.

WEISS, N.S.; SOLEYMANI, Y. Hypersensitivity lung disease caused by contamination of an air-conditioning system. **Ann. Allergy**, v. 29, 154-156. 1971.

WENZEL, R.P.; HUNTING, K.J.; OSTERMAN, C.O. e SANDE, M.A.. ***Providencia stuartii***, a hospital pathogen: potential factors for its emergence and transmission. **Am. J. Epidemiol.**, v. 104, p. 170-80. 1976.

WOLKOFF, P.; SCHNEIDER, T.; KILDESO, J.; DEGERTH, R.; JAROSZEWSKI, M.; SCHUNK, H. Risk in cleaning: chemical and physical exposure. **Sci. Total Environ.**, v. 251, n. 1-2, p. 135-56. 1998.

WYON, D.P. The effects of indoor air quality on performance and productivity. **Indoor Air**, v. 14, n. Suppl. 7, p. 92-101. 2004.

YANG, C.S.; HUNG, I.-L.; LEWIS, F.A.; ZAMPIELLO, F.A. Airborne fungal populations in non-residential buildings in the United States. In: PROCEEDINGS OF THE 6th INTERNATIONAL CONFERENCE ON INDOOR AIR QUALITY AND CLIMATE, v. 4, p. 219-224. 1993.

YAVO, W.; KASSI, R.R.; KIKI-BARRO, P.C.; BAMBA, A.; KPLE, T.; MENAN, E.I.; EHOOU, F.; KONE, M. Prevalence and risk factors for otomycosis treated in the hospital setting in Abidjan (Ivory Coast). **Med. Trop. (Mars)**, v. 64, n. 1, p. 39-42. 2004.

YOUNG, SH.; ROBINSON, V.A.; BARGER, M.; WHITMER, M.; PORTER, D.W.; FRAZER, D.O.; CASTRANOVA, V. Exposure to particulate 1→3 beta-glucans induces greater pulmonary toxicity than soluble 1→3 beta-glucans in rats. **J. Toxicol. Environ. Health A**, v. 66, n. 1, p. 25-38. 2003.

ZANOBETTI, A.; SCHWARTZ, J.; GOLD, D. Are there sensitive subgroups for the effects of airborne particles? **Environ. Health Perspect.**, v. 108, n. 9, p. 841-845. 2000.

ZOBERI, M.H. Take-off of mold spores in relation to wind speed and humidity. **Ann. Bot.**, v. 25, p. 53-64. 1961.

8. ANEXOS

8.1 Anexo 1

RESOLUÇÃO - RE Nº 9, DE 16 DE JANEIRO DE 2003

O Diretor da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição que lhe confere a Portaria nº 570, do Diretor Presidente, de 3 de outubro de 2002;

considerando o § 3º, do art. 111 do Regimento Interno aprovado pela Portaria n.º 593, de 25 de agosto de 2000, republicada no DOU de 22 de dezembro de 2000,

considerando a necessidade de revisar e atualizar a RE/ANVISA nº 176, de 24 de outubro de 2000, sobre Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior em Ambientes Climatizados Artificialmente de Uso Público e Coletivo, frente ao conhecimento e a experiência adquiridos no país nos dois primeiros anos de sua vigência;

considerando o interesse sanitário na divulgação do assunto;

considerando a preocupação com a saúde, a segurança, o bem-estar e o conforto dos ocupantes dos ambientes climatizados;

considerando o atual estágio de conhecimento da comunidade científica internacional, na área de qualidade do ar ambiental interior, que estabelece padrões referenciais e/ou orientações para esse controle;

considerando o disposto no art. 2º da Portaria GM/MS n.º 3.523, de 28 de agosto de 1998;

considerando que a matéria foi submetida à apreciação da Diretoria Colegiada que a aprovou em reunião realizada em 15 de janeiro de 2003, resolve:

Art. 1º Determinar a publicação de Orientação Técnica elaborada por Grupo Técnico Assessor, sobre Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior, em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo, em anexo.

Art. 2º Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

CLÁUDIO MAIEROVITCH PESSANHA HENRIQUES

ANEXO

ORIENTAÇÃO TÉCNICA ELABORADA POR GRUPO TÉCNICO ASSESSOR SOBRE PADRÕES REFERENCIAIS DE QUALIDADE DO AR INTERIO R EM AMBIENTES CLIMATIZADOS ARTIFICIALMENTE DE USO PÚBLICO E COLETIVO

I - HISTÓRICO

O Grupo Técnico Assessor de estudos sobre Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo, foi constituído pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, no âmbito da Gerência Geral de Serviços da Diretoria de Serviços e Correlatos e instituído por membros das seguintes instituições:

Sociedade Brasileira de Meio Ambiente e de Qualidade do Ar de Interiores/BRASINDOOR, Laboratório Noel Nutels

Instituto de Química da UFRJ, Ministério do Meio Ambiente, Faculdade de Medicina da USP, Organização Panamericana de Saúde/OPAS, Fundação Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, Fundação Jorge Duprat Figueiredo de Segurança e Medicina do Trabalho - FUNDACENTRO/MTb, Instituto Nacional de Metrologia Normalização e Qualidade Industrial/INMETRO, Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar/APECIH e, Serviço de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde/RJ, Instituto de Ciências Biomédicas - ICB/USP e Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Reuniu-se na cidade de Brasília/DF, durante o ano de 1999 e primeiro semestre de 2000, tendo como metas:

1. estabelecer critérios que informem a população sobre a qualidade do ar interior em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo, cujo desequilíbrio poderá causar agravos a saúde dos seus ocupantes;
2. instrumentalizar as equipes profissionais envolvidas no controle de qualidade do ar interior, no planejamento, elaboração, análise e execução de projetos físicos e nas ações de inspeção de ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo.

Reuniu-se na cidade de Brasília/DF, durante o ano de 2002, tendo como metas:

1. Promover processo de revisão na Resolução ANVISA-RE 176/00
2. Atualiza -la frente a realidade do conhecimento no país.
3. Disponibilizar informações sobre o conhecimento e a experiência adquirida nos dois primeiros anos de vigência da RE 176.

II - ABRANGÊNCIA

O Grupo Técnico Assessor elaborou a seguinte Orientação Técnica sobre Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo, no que diz respeito a definição de valores máximos recomendáveis para contaminação biológica, química e parâmetros físicos do ar interior, a identificação

das fontes poluentes de natureza biológica, química e física, métodos analíticos (Normas Técnicas 001, 002, 003 e 004) e as recomendações para controle (Quadros I e II).

Recomendou que os padrões referenciais adotadas por esta Orientação Técnica sejam aplicados aos ambientes climatizados de uso público e coletivo já existentes e aqueles a serem instalados. Para os ambientes climatizados de uso restrito, com exigências de filtros absolutos ou instalações especiais, tais como os que atendem a processos produtivos, instalações hospitalares e outros, sejam aplicadas as normas e regulamentos específicos.

III - DEFINIÇÕES

Para fins desta Orientação Técnica são adotadas as seguintes definições, complementares às adotadas na Portaria GM/MS n.º 3.523/98:

- a) Aerodispersóides: sistema disperso, em um meio gasoso, composto de partículas sólidas e/ou líquidas. O mesmo que aerosol ou aerossol.
- b) ambiente aceitável: ambientes livres de contaminantes em concentrações potencialmente perigosas à saúde dos ocupantes ou que apresentem um mínimo de 80% dos ocupantes destes ambientes sem queixas ou sintomatologia de desconforto, 2
- c) ambientes climatizados : são os espaços fisicamente determinados e caracterizados por dimensões e instalações próprias, submetidos ao processo de climatização, através de equipamentos.
- d) ambiente de uso público e coletivo: espaço fisicamente determinado e aberto a utilização de muitas pessoas.
- e) ar condicionado: é o processo de tratamento do ar, destinado a manter os requerimentos de Qualidade do Ar Interior do espaço condicionado, controlando variáveis como a temperatura, umidade, velocidade, material particulado, partículas biológicas e teor de dióxido de carbono (CO₂).
- f) Padrão Referencial de Qualidade do Ar Interior : marcador qualitativo e quantitativo de qualidade do ar ambiental interior, utilizado como sentinela para determinar a necessidade da busca das fontes poluentes ou das intervenções ambientais
- g) Qualidade do Ar Ambiental Interior: Condição do ar ambiental de interior, resultante do processo de ocupação de um ambiente fechado com ou sem climatização artificial.
- h) Valor Máximo Recomendável: Valor limite recomendável que separa as condições de ausência e de presença do risco de agressão à saúde humana.

IV - PADRÕES REFERENCIAIS

Recomenda os seguintes Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior em ambientes climatizados de uso público e coletivo.

- 1 - O Valor Máximo Recomendável - VMR, para contaminação microbiológica deve ser

≤ 750 ufc/m³ de fungos, para a relação I/E $\leq 1,5$, onde I é a quantidade de fungos no ambiente interior e E é a quantidade de fungos no ambiente exterior.

NOTA: A relação I/E é exigida como forma de avaliação frente ao conceito de normalidade, representado pelo meio ambiente exterior e a tendência epidemiológica de amplificação dos poluentes nos ambientes fechados.

1.1 - Quando o VMR for ultrapassado ou a relação I/E for $> 1,5$, é necessário fazer um diagnóstico de fontes poluentes para uma intervenção corretiva.

1.2 - É inaceitável a presença de fungos patogênicos e toxigênicos.

2 - Os Valores Máximos Recomendáveis para contaminação química são:

2.1 - 1000 ppm de dióxido de carbono - (CO₂) , como indicador de renovação de ar externo, recomendado para conforto e bem-estar².

2.2 - 80 µg/m³ de aerodispersóides totais no ar, como indicador do grau de pureza do ar e limpeza do ambiente climatizado⁴.

NOTA: Pela falta de dados epidemiológicos brasileiros é mantida a recomendação como indicador de renovação do ar o valor = 1000 ppm de Dióxido de carbono - CO₂

3 - Os valores recomendáveis para os parâmetros físicos de temperatura, umidade, velocidade e taxa de renovação do ar e de grau de pureza do ar, deverão estar de acordo com a NBR 6401 - Instalações Centrais de Ar Condicionado para Conforto - Parâmetros Básicos de Projeto da ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas⁵.

3.1 - a faixa recomendável de operação das Temperaturas de Bulbo Seco, nas condições internas para verão, deverá variar de 23°C a 26°C, com exceção de ambientes de arte que deverão operar entre 21°C e 23°C. A faixa máxima de operação deverá variar de 26,5°C a 27°C, com exceção das áreas de acesso que poderão operar até 28°C. A seleção da faixa depende da finalidade e do local da instalação. Para condições internas para inverno, a faixa recomendável de operação deverá variar de 20°C a 22°C.

3.2 - a faixa recomendável de operação da Umidade Relativa, nas condições internas para verão, deverá variar de 40% a 65%, com exceção de ambientes de arte que deverão operar entre 40% e 55% durante todo o ano. O valor máximo de operação deverá ser de 65%, com exceção das áreas de acesso que poderão operar até 70%. A seleção da faixa depende da finalidade e do local da instalação. Para condições internas para inverno, a faixa recomendável de operação deverá variar de 35% a 65%.

3.3 - o Valor Máximo Recomendável - VMR de operação da Velocidade do Ar, no nível de 1,5m do piso, na região de influência da distribuição do ar é de menos 0,25 m/s.

3.4 - a Taxa de Renovação do Ar adequada de ambientes climatizados será, no mínimo, de 27 m³/hora/pessoa, exceto no caso específico de ambientes com alta rotatividade de pessoas. Nestes casos a Taxa de Renovação do Ar mínima será de 17 m³/hora/pessoa, não sendo admitido em qualquer situação que os ambientes possuam uma concentração de CO₂, maior ou igual a estabelecida em IV-2.1, desta Orientação Técnica.

3.5 - a utilização de filtros de classe G1 é obrigatória na captação de ar exterior. O Grau de Pureza do Ar nos ambientes climatizados será obtido utilizando-se, no mínimo, filtros de classe G-3 nos condicionadores de sistemas centrais, minimizando o acúmulo de sujidades nos dutos, assim como reduzindo os níveis de material particulado no ar insuflado².

Os padrões referenciais adotados complementam as medidas básicas definidas na Portaria GM/MS n.º 3.523/98, de 28 de agosto de 1998, para efeito de reconhecimento, avaliação e controle da Qualidade do Ar Interior nos ambientes climatizados. Deste modo poderão subsidiar as decisões do responsável técnico pelo gerenciamento do sistema de climatização, quanto a definição de periodicidade dos procedimentos de limpeza e manutenção dos componentes do sistema, desde que asseguradas as frequências mínimas para os seguintes componentes, considerados como reservatórios, amplificadores e disseminadores de poluentes.

Componente	Periodicidade
Tomada de ar externo	Limpeza mensal ou quando descartável até sua obliteração (máximo 3 meses)
Unidades filtrantes	Limpeza mensal ou quando descartável até sua obliteração (máximo 3 meses)
Bandeja de condensado	Mensal*
Serpentina de aquecimento	Desencrustação semestral e limpeza trimestral
Serpentina de resfriamento	Desencrustação semestral e limpeza trimestral
Umidificador	Desencrustação semestral e limpeza trimestral
Ventilador	Semestral
Plenum de mistura/casa de máquinas	Mensal

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

V - FONTES POLUENTES

Recomenda que sejam adotadas para fins de pesquisa e com o propósito de levantar dados sobre a realidade brasileira, assim como para avaliação e correção das situações encontradas, as possíveis fontes de poluentes informadas nos Quadros I e II.

QUADRO I

Possíveis fontes de poluentes biológicos

Agentes biológicos	Principais fontes em ambientes interiores	Principais Medidas de correção em ambientes interiores
Bactérias	Reservatórios com água estagnada, torres de resfriamento, bandejas de condensado, desumificadores, umidificadores, serpentinas de condicionadores de ar e superfícies úmidas e quentes.	Realizar a limpeza e a conservação das torres de resfriamento; higienizar os reservatórios e bandejas de condensado ou manter tratamento contínuo para eliminar as fontes; eliminar as infiltrações; higienizar as superfícies.
Fungos	Ambientes úmidos e demais fontes de multiplicação fúngica, como materiais porosos orgânicos úmidos, forros, paredes e isolamentos úmidos; ar externo, interior de condicionadores e dutos sem manutenção, vasos de terra com plantas.	Corrigir a umidade ambiental; manter sob controle rígido vazamentos, infiltrações e condensação de água; higienizar os ambientes e componentes do sistema de climatização ou manter tratamento contínuo para eliminar as fontes; eliminar materiais porosos contaminados; eliminar ou restringir vasos de plantas com cultivo em terra, ou substituir pelo cultivo em água (hidroponia); utilizar filtros G-1 na renovação do ar externo.
Protozoários	Reservatórios de água contaminada, bandejas e umidificadores de condicionadores sem manutenção.	Higienizar o reservatório ou manter tratamento contínuo para eliminar as fontes.
Vírus	Hospedeiro humano.	Adequar o número de ocupantes por m ² de área com aumento da renovação de ar; evitar a presença de pessoas infectadas nos ambientes climatizados
Algas	Torres de resfriamento e bandejas de condensado.	Higienizar os reservatórios e bandejas de condensado ou manter tratamento contínuo para eliminar as fontes.
Pólen	Ar externo.	Manter filtragem de acordo com NBR-6401 da ABNT
Artrópodes	Poeira caseira.	Higienizar as superfícies fixas e mobiliário, especialmente os revestidos com tecidos e tapetes; restringir ou eliminar o uso desses revestimentos.
Animais	Roedores, morcegos e aves.	Restringir o acesso, controlar os roedores, os morcegos, ninhos de aves e respectivos excrementos.

QUADRO II
Possíveis fontes de poluentes químicos ⁷

Agentes químicos	Principais fontes em ambientes interiores	Principais medidas de correção em ambientes interiores
CO	Combustão (cigarros, queimadores de fogões e veículos automotores).	Manter a captação de ar exterior com baixa concentração de poluentes; restringir as fontes de combustão; manter a exaustão em áreas em que ocorre combustão; eliminar a infiltração de CO proveniente de fontes externas; restringir o tabagismo em áreas fechadas.
CO ₂	Produtos de metabolismo humano e combustão.	Aumentar a renovação de ar externo; restringir as fontes de combustão e o tabagismo em áreas fechadas; eliminar a infiltração de fontes externas.
NO ₂	Combustão.	Restringir as fontes de combustão; manter a exaustão em áreas em que ocorre combustão; impedir a infiltração de NO ₂ proveniente de fontes externas; restringir o tabagismo em áreas fechadas.
O ₃	Máquinas copiadoras e impressoras a laser .	Adotar medidas específicas para reduzir a contaminação dos ambientes interiores, com exaustão do ambiente ou enclausuramento em locais exclusivos para os equipamentos que apresentem grande capacidade de produção de O ₃ .
Formaldeído	Materiais de acabamento, mobiliário, cola, produtos de limpeza domissanitários	Selecionar os materiais de construção, acabamento e mobiliário que possuam ou emitam menos formaldeído; usar produtos domissanitários que não contenham formaldeído.
Material particulado	Poeira e fibras.	Manter filtragem de acordo com NBR-6402 da ABNT; evitar isolamento termo-acústico que possa emitir fibras minerais, orgânicas ou sintéticas para o ambiente climatizado; reduzir as fontes internas e externas; higienizar as superfícies fixas e mobiliários sem o uso de vassouras, escovas ou espanadores; selecionar os materiais de construção e acabamento com menor porosidade; adotar medidas específicas para reduzir a contaminação dos ambientes interiores (vide biológicos); restringir o tabagismo em áreas fechadas.
Fumo de tabaco	Queima de cigarro, charuto, cachimbo, etc.	Aumentar a quantidade de ar externo admitido para renovação e/ou exaustão dos poluentes; restringir o tabagismo em áreas fechadas.

COV	Cera, mobiliário, produtos usados em limpeza e domissanitários, solventes, materiais de revestimento, tintas, colas, etc.	Selecionar os materiais de construção, acabamento, mobiliário; usar produtos de limpeza e domissanitários que não contenham COV ou que não apresentem alta taxa de volatilização e toxicidade.
COS-V	Queima de combustíveis e utilização de pesticidas.	Eliminar a contaminação por fontes pesticidas, inseticidas e a queima de combustíveis; manter a captação de ar exterior afastada de poluentes.

COV - Compostos Orgânicos Voláteis.

COS-V - Compostos Orgânicos Semi- Voláteis.

Observações - Os poluentes indicados são aqueles de maior ocorrência nos ambientes de interior, de efeitos conhecidos na saúde humana e de mais fácil detecção pela estrutura laboratorial existente no país.

Outros poluentes que venham a ser considerados importantes serão incorporados aos indicados, desde que atendam ao disposto no parágrafo anterior.

VI - AVALIAÇÃO E CONTROLE

Recomenda que sejam adotadas para fins de avaliação e controle do ar ambiental interior dos ambientes climatizados de uso coletivo, as seguintes Normas Técnicas 001, 002, 003 e 004.

Na elaboração de relatórios técnicos sobre qualidade do ar interior, é recomendada a NBR-10.719 da ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas.

1 World Health Organization. Indoor air quality: biological contaminants; Copenhagen, Denmark, 1983 (European Series nº 31).

2 American Society of Heating, Refrigerating and Air Conditioning Engineers, Inc. ASHRAE Standard 62 - Ventilation for Acceptable Indoor Air Quality, 2001

3 Kulcsar Neto, F & Siqueira, LFG. Padrões Referenciais para Análise de Resultados de Qualidade Microbiológica do Ar em Interiores Visando a Saúde Pública no Brasil - Revista da Brasindoor . 2 (10): 4-21,1999.

4 Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA, Resolução n.º 03 de 28/06 /1990.

5 ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, NBR 6401 - Instalações Centrais de Ar Condicionado para Conforto - Parâmetros Básicos de Projeto, 1980.

6 Siqueira, LFG & Dantas, EHM. Organização e Métodos no Processo de Avaliação da Qualidade do Ar de Interiores - Revista da Brasindoor, 3 (1): 19-26, 1999.

7 Aquino Neto, F.R; Brickus, L.S.R. Padrões Referenciais para Análise de Resultados da Qualidade Físico-química do Ar de Interior Visando a Saúde Pública. Revista da Brasindoor, 3(2):4 -15,1999

NORMA TÉCNICA 001

Qualidade do Ar Ambiental Interior. Método de Amostragem e Análise de Bioaerosol em Ambientes Interiores.

MÉTODO ANALÍTICO

OBJETIVO: Pesquisa, monitoramento e controle ambiental da possível colonização, multiplicação e disseminação de fungos em ar ambiental interior.

DEFINIÇÕES:

Bioaerosol: Suspensão de microorganismos (organismos viáveis) dispersos no ar.

Marcador epidemiológico: Elemento aplicável à pesquisa, que determina a qualidade do ar ambiental.

APLICABILIDADE: Ambientes de interior climatizados, de uso coletivo, destinados a ocupações comuns (não especiais).

MARCADOR EPIDEMIOLÓGICO: Fungos viáveis.

MÉTODO DE AMOSTRAGEM: Amostrador de ar por impactação com acelerador linear.

PERIODICIDADE: Semestral.

FICHA TÉCNICA DO AMOSTRADOR:

Amostrador: Impactador de 1, 2 ou 6 estágios.	
Meio de Cultivo: Agar Extrato de Malte, Agar Sabouraud Dextrose a 4%, Agar Batata Dextrose ou outro, desde que cientificamente validado.	
Taxa de Vazão: fixa entre 25 a 35 l/min, sendo recomendada 28,3 l/min.	
Tempo de Amostragem: de 5 a 15 minutos, dependendo das especificações do amostrador. Volume Mínimo: 140 l	
Volume Máximo: 500 l	
Embalagem: Rotina de embalagem para proteção da amostra com nível de biossegurança 2 (recipiente lacrado, devidamente identificado com símbolo de risco biológico)	
Transporte: Rotina de embalagem para proteção da amostra com nível de biossegurança 2 (recipiente lacrado, devidamente identificado com símbolo de risco biológico)	
Nota: Em áreas altamente contaminadas, pode ser recomendável uma amostragem com tempo e volume menores.	
Calibração: Semestral	Exatidão: $\pm 0,02$ l/min. Precisão: $\pm 99,92$ %

ESTRATÉGIA DE AMOSTRAGEM:

- selecionar 01 amostra de ar exterior localizada fora da estrutura predial na altura de 1,50 m do nível da rua.
- Definir o número de amostras de ar interior, tomando por base a área construída climatizada dentro de uma mesma edificação e razão social, seguindo a tabela abaixo:

Área construída (m ²)	Número mínimo de amostras
Até 1.000	1
1.000 a 2.000	3
2.000 a 3.000	5
3.000 a 5.000	8
5.000 a 10.000	12
10.000 a 15.000	15
15.000 a 20.000	18
20.000 a 30.000	21
Acima de 30.000	25

- as unidades funcionais dos estabelecimentos com características epidemiológicas diferenciadas, tais como serviço médico, restaurantes, creches e outros, deverão ser amostrados isoladamente.

- os pontos amostrais deverão ser distribuídos uniformemente e coletados com o amostrador localizado na altura de 1,5 m do piso, no centro do ambiente ou em zona ocupada.

PROCEDIMENTO LABORATORIAL: Método de cultivo e quantificação segundo normatizações universalizadas. Tempo mínimo de incubação de 7 dias a 250C., permitindo o total crescimento dos fungos.

BIBLIOGRAFIA: "Standard Methods for Examination of Water and Wastewater".

17 th ed. APHA, AWWA, WPC.F; "The United States Pharmacopeia". USP, XXIII ed., NF XVIII, 1985.

NIOSH- National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM), BIOAEROSOL SAMPLING (Indoor Air) 0800, Fourth Edition.

IRSST - Institute de Recherche en Santé et en Sécurité du Travail du Quebec, Canada, 1994.

Members of the Technical Advisory Committee on Indoor Air Quality, Commission of Public Health Ministry of the Environment - Guidelines for Good Indoor Air Quality in Office Premises, Singapore.

NORMA TÉCNICA 002

Qualidade do Ar Ambiental Interior. Método de Amostragem e Análise da Concentração de Dióxido de Carbono em Ambientes Interiores.

MÉTODO ANALÍTICO

OBJETIVO: Pesquisa, monitoramento e controle do processo de renovação de ar em ambientes climatizados.

APLICABILIDADE: Ambientes interiores climatizados, de uso coletivo.

MARCADOR EPIDEMIOLÓGICO: Dióxido de carbono (CO₂).

MÉTODO DE AMOSTRAGEM: Equipamento de leitura direta.

PERIODICIDADE: Semestral.

FICHA TÉCNICA DOS AMOSTRADORES:

Amostrador: Leitura Direta por meio de sensor infravermelho não dispersivo ou célula eletroquímica.	
Calibração: Anual ou de acordo com especificação do fabricante.	Faixa: de 0 a 5.000 ppm. Exatidão: ± 50 ppm + 2% do valor medido

ESTRATÉGIA DE AMOSTRAGEM:

- Definir o número de amostras de ar interior, tomando por base a área construída climatizada dentro de uma mesma edificação e razão social, seguindo a tabela abaixo:

Área construída (m ²)	Número mínimo de amostras
Até 1.000	1
1.000 a 2.000	3
2.000 a 3.000	5
3.000 a 5.000	8
5.000 a 10.000	12
10.000 a 15.000	15
15.000 a 20.000	18
20.000 a 30.000	21
Acima de 30.000	25

- as unidades funcionais dos estabelecimentos com características epidemiológicas diferenciadas, tais como serviço médico, restaurantes, creches e outros, deverão ser amostrados isoladamente.

- os pontos amostrais deverão ser distribuídos uniformemente e coletados com o amostrador localizado na altura de 1,5 m do piso, no centro do ambiente ou em zona ocupada.

PROCEDIMENTO DE AMOSTRAGEM: As medidas deverão ser realizadas em horários de pico de utilização do ambiente.

NORMA TÉCNICA 003

Qualidade do Ar Ambiental Interior. Método de Amostragem. Determinação da Temperatura, Umidade e Velocidade do Ar em Ambientes Interiores.

MÉTODO ANALÍTICO

OBJETIVO: Pesquisa, monitoramento e controle do processo de climatização de ar em ambientes climatizados.

APLICABILIDADE: Ambientes interiores climatizados, de uso coletivo.

MARCADORES: Temperatura do ar (°C) Umidade do ar (%) Velocidade do ar (m/s).

MÉTODO DE AMOSTRAGEM: Equipamentos de leitura direta. Termo-higrômetro e Anemômetro.

PERIODICIDADE: Semestral.

FICHA TÉCNICA DOS AMOSTRADORES:

Amostrador: Leitura Direta - Termo-higrômetro. Princípio de operação: Sensor de temperatura do tipo termo-resistência. Sensor de umidade do tipo capacitivo ou por condutividade elétrica.	
Calibração: Anual	Faixa: 0° C a 70° C de temperatura 5% a 95 % de umidade Exatidão: ± 0,8 ° C de temperatura ± 5% do valor medido de umidade
Amostrador: Leitura Direta - Anemômetro. Princípio de operação: Preferencialmente de sensor de velocidade do ar do tipo fio aquecido ou fio térmico.	
Calibração: Anual	Faixa: de 0 a 10 m/s Exatidão: ± 0,1 m/s ± 4% do valor medido

ESTRATÉGIA DE AMOSTRAGEM:

- Definir o número de amostras de ar interior, tomando por base a área construída climatizada dentro de uma mesma edificação e razão social, seguindo a tabela abaixo:

Área construída (m ²)	Número mínimo de amostras
Até 1.000	1
1.000 a 2.000	3
2.000 a 3.000	5
3.000 a 5.000	8
5.000 a 10.000	12
10.000 a 15.000	15
15.000 a 20.000	18
20.000 a 30.000	21
Acima de 30.000	25

- as unidades funcionais dos estabelecimentos com características epidemiológicas diferenciadas, tais como serviço médico, restaurantes, creches e outros, deverão ser amostrados isoladamente.

- os pontos amostrais deverão ser distribuídos uniformemente e coletados com o amostrador localizado na altura de 1,5 m do piso, no centro do ambiente ou em zona ocupada, para o Termo-higrômetro e no espectro de ação do difusor para o Anemômetro.

Norma Técnica 004

Qualidade do Ar Ambiental Interior. Método de Amostragem e Análise de Concentração de Aerodispersóides em Ambientes Interiores.

MÉTODO ANALÍTICO

OBJETIVO: Pesquisa, monitoramento e controle de aerodispersóides totais em ambientes interiores climatizados.

APLICABILIDADE: Ambientes de interior climatizados, de uso coletivo, destinados a ocupações comuns (não especiais).

MARCADOR EPIDEMIOLÓGICO: Poeira Total ($\mu\text{g}/\text{m}^3$).

MÉTODO DE AMOSTRAGEM: Coleta de aerodispersóides por filtração (MB-3422 da ABNT).

PERIODICIDADE: Semestral.

FICHA TÉCNICA DO AMOSTRADOR:

Amostrador: Unidade de captação constituída por filtros de PVC, diâmetro de 37 mm e porosidade de 5 µm de diâmetro de poro específico para poeira total a ser coletada; Suporte de filtro em disco de celulose; Porta-filtro em plástico transparente com diâmetro de 37 mm.	
Aparelhagem: Bomba de amostragem, que mantenha ao longo do período de coleta, a vazão inicial de calibração com variação de 5%.	
Taxa de Vazão: 1,0 a 3,0 l/min, recomendado 2,0 l/min.	
Volume Mínimo: 50 l	
Volume Máximo: 400 l	
Tempo de Amostragem: relação entre o volume captado e a taxa de vazão utilizada	
Embalagem: Rotina	
Calibração: Em cada procedimento de coleta se operado com bombas diafragmáticas	Exatidão: ± 5% do valor medido

ESTRATÉGIA DE AMOSTRAGEM:

- Definir o número de amostras de ar interior, tomando por base a área construída climatizada dentro de uma mesma edificação e razão social, seguindo a tabela abaixo:

Área construída (m ²)	Número mínimo de amostras
Até 1.000	1
1.000 a 2.000	3
2.000 a 3.000	5
3.000 a 5.000	8
5.000 a 10.000	12
10.000 a 15.000	15
15.000 a 20.000	18
20.000 a 30.000	21
Acima de 30.000	25

- as unidades funcionais dos estabelecimentos com características epidemiológicas diferenciadas, tais como serviço médico, restaurantes, creches e outros, deverão ser amostrados isoladamente.

- os pontos amostrais deverão ser distribuídos uniformemente e coletados com o amostrador localizado na altura de 1,5 m do piso, no centro do ambiente ou em zona ocupada.

PROCEDIMENTO DE COLETA: MB-3422 da ABNT.

PROCEDIMENTO DE CALIBRAÇÃO DAS BOMBAS: NBR- 10.562 da ABNT

PROCEDIMENTO LABORATORIAL: NHO 17 da FUNDACENTRO

VII - INSPEÇÃO

Recomenda que os órgãos competentes de Vigilância Sanitária com o apoio de outros órgãos governamentais, organismos representativos da comunidade e dos ocupantes dos ambientes climatizados, utilizem esta Orientação Técnica como instrumento técnico referencial, na realização de inspeções e de outras ações pertinentes nos ambientes climatizados de uso público e coletivo.

VIII - RESPONSABILIDADE TÉCNICA

Recomenda que os proprietários, locatários e prepostos de estabelecimentos com ambientes ou conjunto de ambientes dotados de sistemas de climatização com

capacidade igual ou superior a 5 TR (15.000 kcal/h = 60.000 BTU/h), devam manter um responsável técnico atendendo ao determinado na Portaria GM/MS nº 3.523/98, além de desenvolver as seguintes atribuições:

- a) providenciar a avaliação biológica, química e física das condições do ar interior dos ambientes climatizados;
- b) promover a correção das condições encontradas, quando necessária, para que estas atendam ao estabelecido no Art. 4º desta Resolução;
- c) manter disponível o registro das avaliações e correções realizadas; e
- d) divulgar aos ocupantes dos ambientes climatizados os procedimentos e resultados das atividades de avaliação, correção e manutenção realizadas.

Em relação aos procedimentos de amostragem, medições e análises laboratoriais, considera-se como responsável técnico, o profissional que tem competência legal para exercer as atividades descritas, sendo profissional de nível superior com habilitação na área de química (Engenheiro químico, Químico e Farmacêutico) e na área de biologia (Biólogo, Farmacêutico e Biomédico) em conformidade com a regulamentação profissional vigente no país e comprovação de Responsabilidade Técnica - RT, expedida pelo Órgão de Classe.

As análises laboratoriais e sua responsabilidade técnica devem obrigatoriamente estar desvinculadas das atividades de limpeza, manutenção e comercialização de produtos destinados ao sistema de climatização.

8.2 Anexo 2

CONSULTA PÚBLICA Nº 109, DE 11 DE DEZEMBRO DE 2003.

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição que lhe confere o art. 11, inciso IV, do Regulamento da ANVISA aprovado pelo Decreto nº 3.029, de 16 de abril de 1999, c/c com o art. 111, inciso I, alínea “e” do Regimento Interno aprovado pela Portaria nº 593, de 25 de agosto de 2000, republicada no DOU de 22 de dezembro de 2000, em reunião realizada em 10 de dezembro de 2003.

adota a seguinte Consulta Pública e eu, Diretor-Presidente, determino a sua publicação:

Art. 1º Fica aberto, a contar da data de publicação desta Consulta Pública, o prazo de 90 (noventa) dias para que sejam apresentadas críticas e sugestões relativas à proposta de Resolução que Dispõe sobre **Indicadores de Qualidade do Ar Ambiental Interior em Serviços de Saúde**, em anexo.

Art. 2º Informar que o texto da proposta de Resolução de que trata o art. 1º estará disponível na íntegra, durante o período de consulta, no endereço eletrônico www.anvisa.gov.br e que as sugestões deverão ser encaminhadas por escrito para o seguinte endereço: Agência Nacional de Vigilância Sanitária / Gerência Geral de Tecnologia em Serviços, SEPN 515, Bloco "B", Edifício Ômega, 4º andar, Asa Norte, Brasília-DF, CEP 70.770.502, por Fax: (61) 448-1302 ou E-mail: arquitetura.engenharia@anvisa.gov.br.

Art. 3º Findo o prazo estipulado no Art. 1º a Agência Nacional de Vigilância Sanitária articular-se-á com os órgãos e entidades envolvidos e aqueles que tenham manifestado interesse na matéria, para que indiquem representantes nas discussões posteriores, visando a consolidação do texto final.

CLAUDIO MAIEROVITCH PESSANHA HENRIQUES

Resolução - RE nº , de de 2003.

O Diretor da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição que lhe confere a Portaria nº 1096, do Diretor Presidente, de 4 de dezembro de 2003;

considerando o § 3º, do art. 111 do Regimento Interno aprovado pela Portaria nº 593, de 25 de agosto de 2000, republicada no DOU de 22 de dezembro de 2000,

considerando a preocupação com a saúde, a segurança, o bem-estar e o conforto dos pacientes e trabalhadores ocupantes de ambientes críticos e semicríticos dos serviços de saúde;

considerando a possibilidade de controvérsia de dados científicos sobre a participação do meio ambiente na transmissão de processos infecciosos em serviços de saúde, objeto de normatizações por alguns países desenvolvidos^{1,2,3} e de estudos ainda não consolidados por outros⁴, sendo entretanto aceito por todos, do aumento do risco de transmissão de doenças infecciosas por via ambiental, em função do aumento de processos e procedimentos imunossupressores e população usuária mais susceptível em serviços de saúde;

considerando a não uniformidade de instalações de sistemas de climatização em serviços de saúde no Brasil, por sua extensão territorial e diferenças econômicas e tecnológicas e a possibilidade da participação do meio ambiente na cadeia epidemiológica das infecções em serviços de saúde;

considerando a necessidade de instrumentalizar as equipes profissionais envolvidas na prevenção e controle de infecção em serviços de saúde; no planejamento, análise e execução de projetos físicos e de equipamentos; na inspeção de serviços de saúde; na manutenção e operação de sistemas de climatização instalados em serviços de saúde;

considerando a necessidade de se manter em níveis controlados a participação ambiental nos processos infecciosos em serviços de saúde;

considerando os direitos dos usuários, como consumidores, e dos profissionais da área da saúde,

como trabalhadores nos serviços de saúde, de possuírem um ambiente de trabalho saudável;

considerando que as medidas recomendadas para ambientes de estabelecimentos assistenciais de saúde classificados como não críticos seguem os padrões estabelecidos para áreas comuns de uso público e coletivo, conforme definido na Orientação Técnica da ANVISA, Resolução RE nº 9, de 16 de janeiro de 2003;

considerando o atual estágio de conhecimento da comunidade científica, na área de qualidade do ar interior, que estabelece indicadores e padrões para o controle do ar ambiental,

considerando que a matéria foi submetida à apreciação da Diretoria Colegiada que a aprovou em reunião realizada em 10 de dezembro de 2003, **resolve:**

Art. 1º. Determinar a publicação de Orientação Técnica referente a **Indicadores de Qualidade do Ar Interior em Ambientes de Serviços de Saúde**, no que diz respeito à definição de parâmetros biológicos, químicos e físicos do ar interior, a identificação das possíveis fontes poluentes de natureza biológica, química e física e métodos analíticos (Normas Técnicas), em anexo.

Art. 2º. Os órgãos competentes de Vigilância Sanitária utilizarão esta Orientação Técnica como instrumento técnico orientativo de suas avaliações na realização de inspeções e de outras ações pertinentes nos serviços de saúde.

Art. 3º. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde prestará cooperação técnica às Secretarias Estaduais e Municipais de Saúde, a fim de orientá-las sobre o exato cumprimento e interpretação desta Orientação Técnica.

Art. 4º. Esta Resolução entrará em vigor na data da sua publicação.

FRANKLIN RUBINSTEIN

ANEXO

ORIENTAÇÃO TÉCNICA REFERENTE A INDICADORES DE QUALIDADE DO AR INTERIOR EM AMBIENTES DE SERVIÇOS DE SAÚDE

As medidas recomendadas por esta Orientação Técnica aplicam-se aos ambientes classificados como críticos e semicríticos dos estabelecimentos assistenciais de saúde, na área pública e privada compreendendo:

- a) as construções novas de estabelecimentos assistenciais de saúde de todo o país;
- b) as áreas a serem ampliadas de estabelecimentos assistenciais de saúde já existentes;
- c) as reformas de estabelecimentos assistenciais de saúde já existentes e os anteriormente não destinados a estabelecimentos de saúde.

1. DEFINIÇÕES

Para fins desta Orientação Técnica são adotadas as seguintes definições:

1.1. **Ambientes críticos:** ambientes com ou sem pacientes onde existe risco aumentado de contaminação de indivíduos, alimentos ou de produtos. São locais onde se realizam procedimentos invasivos, encontram-se pacientes imunodeprimidos ou com doenças infecto-contagiosas, manipulam-se produtos estéreis, com alto risco de contaminação.

1.2. **Ambientes semicríticos:** ambientes ocupados por pacientes, excluindo-se os de áreas críticas, e todos os ambientes onde de realizam procedimentos de baixo risco de infecção ou de contaminação.

1.3. **Ambientes não-críticos:** ambientes do EAS não ocupados por pacientes, onde não se realizam procedimentos de risco de infecção ou de contaminação.

1.4. **Classificação de risco de ocorrência de eventos adversos à saúde por exposição ao ar ambiental:**

1.4.1. **Nível 0.** Área onde o risco não excede aquele encontrado em ambientes de uso público e coletivo.

1.4.2. **Nível 1.** Área onde não foi constatado o risco de eventos adversos relacionados à qualidade do ar, porém algumas autoridades, organizações ou investigadores sugerem que o risco deva ser considerado.

1.4.3. **Nível 2.** Área onde existem fortes evidências de risco de ocorrência de eventos adversos relacionados à qualidade do ar de seus ocupantes ou de pacientes que utilizarão produtos manipulados nestas áreas, baseadas em estudos experimentais, clínicos ou epidemiológicos bem delineados.

1.4.4. **Nível 3.** Área onde existem fortes evidências de alto risco de eventos adversos de seus ocupantes ou de pacientes que utilizam produtos manipulados nestas áreas, baseados em estudos experimentais, clínicos ou epidemiológicos bem delineados.

1.5. **Controle do ar ambiental:** avaliação e manutenção em níveis recomendados dos parâmetros químicos, físicos e biológicos do ar ambiental interior.

1.6. **Eventos adversos:** eventos que produzem, ou potencialmente podem produzir, resultados inesperados ou indesejados que afetem a saúde de pacientes, trabalhadores ou usuários de serviços de saúde.

1.7. **Indicadores de qualidade do ar ambiental interior:** parâmetros qualitativos e/ou quantitativos de Qualidade do Ar Ambiental Interior, utilizados como sentinela para determinar a necessidade de medidas corretivas e se estas medidas resultaram em alteração destes parâmetros.

1.8. **Medidas de controle do ar ambiental interior:** ações preventivas e corretivas relacionadas à qualidade do ar ambiental interior destinadas às reduções dos riscos à saúde.

1.9. **Serviços de saúde:** denominação genérica de estabelecimentos destinados ao desenvolvimento de ações relacionadas à promoção, proteção, manutenção e recuperação da saúde e/ou pesquisas na área de saúde, qualquer que seja o seu nível de complexidade.

2. INDICADORES DE QUALIDADE DO AR INTERIOR EM AMBIENTES DE SERVIÇOS DE SAÚDE

2.1. A presente Orientação Técnica define medidas de caráter preventivo a serem contempladas para o controle e validação de ações recomendadas para o Programa de Controle de Qualidade Ambiental³ e suas variáveis em serviços de saúde.

2.2. Devem ser adotadas as seguintes diretrizes nas ações para obtenção de condições satisfatórias do ar ambiental dentro do Programa de Controle de Qualidade Ambiental:

a) Políticas de ocupação de áreas específicas: utilização de barreiras físicas e os fluxos de trabalho e barreiras primárias, como cabines de segurança biológica (CSB) ou equipamentos de proteção individual (EPI), considerando as características da população usuária, materiais, equipamentos e o nível de risco envolvido nos procedimentos.

b) Políticas de acesso humano, de materiais e equipamentos em áreas específicas: utilização de procedimentos e práticas de entrada e saída, manutenção e manuseio, segundo seu nível de risco.

c) Práticas de controle de superfícies e artigos: utilização de procedimentos e práticas de higienização, segundo seu nível de risco.

d) Programa de manutenção, operação e controle dos sistemas prediais: acompanhamento das condições das instalações hidrossanitárias, elétricas, eletrônicas, fluido-mecânico e de climatização existentes, segundo as características exigidas pelo nível de risco ambiental.

2.3. São consideradas situações críticas para a qualidade do ar ambiental:

a) Construções e reformas de quaisquer dimensões em qualquer ambiente do serviço de saúde.

b) Construções e reformas que envolvam demolições em áreas do próprio lote do serviço de saúde ou de lotes vizinhos, adjacentes, ao serviço de saúde.

2.4. As situações acima consideradas devem ser previstas, acompanhadas e concluídas por ações descritas no Programa de Controle de Qualidade Ambiental^{4,5}.

2.5. Na classificação de risco para ocorrência de eventos adversos, devem ser consideradas as seguintes variáveis e componentes capazes de comprometer os resultados e processos esperados na realização dos procedimentos de promoção, proteção, manutenção e recuperação da saúde.

2.5.1. Componentes Químicos

Os contaminantes de origem química deverão ser pesquisados de forma particular, contemplando-se a existência de fontes, susceptibilidade do paciente e atendendo as especificações dos “Programa de Prevenção de Riscos Ambientais” – PPRA e “Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional” - PCMSO. Os valores máximos aceitáveis para contaminantes de origem química são descritos na tabela 1.

Tabela 1 – Componentes Químicos

Componentes	Valores máximos
Partículas respiráveis menores que 10 µm	80 µg/m ³
Fenol	15 mg/m ³
Formaldeído	2,3 mg/m ³
Etanol	1480 mg/m ³
Cloro	2,3 mg/m ³

2.5.2. Variáveis físicas

Os parâmetros de origem física deverão ser considerados como descrito na tabela 2 (situações de conforto) para áreas que não exijam especificações diferenciadas.

a) Em situações especiais onde haja necessidade da manutenção de condições específicas de

temperatura, umidade relativa do ar e pressão, utilizar os parâmetros definidos no Apêndice I.

b) Essas informações devem ser complementadas com os dados da Tabela 1 - Parâmetros de projeto, definidos na norma ABNT NBR 7256 - Tratamento de ar em estabelecimentos assistenciais de saúde.

c) Para a avaliação dos parâmetros físicos em ambientes climatizados, utilizando indicadores de Qualidade do Ar Ambiental Interior, recomenda-se a Norma Técnica 001, relacionada no Apêndice II.

Tabela 2 – Variáveis físicas

Variáveis	Valores recomendáveis
Temperatura	21° C a 24° C
Umidade relativa	40% a 60%
Velocidade do ar (movimentação ao nível de 1,5 m do piso)	< 0,25 m/s

2.5.3. Variáveis Biológicas

O indicador de qualidade de ar ambiental interior é a contagem total de bactérias e fungos, não devendo ultrapassar os níveis relacionados abaixo.

Variáveis e Componentes	Nível 0	Nível 1	Nível 2	Nível 3
Partículas biológicas totais no ar ambiental	≤ 750 ufc/m ³	= 500 ufc/m ³	= 200 ufc/m ³	= 50 ufc/m ³

Para a avaliação das variáveis biológicas em ambientes climatizados, utilizando indicadores de Qualidade do Ar Ambiental Interior, recomendam-se as Normas Técnicas 002, 003 e 004, relacionadas no Apêndice III, IV e V respectivamente.

2.6. Na vigência de evidências epidemiológicas de eventos adversos específicos em pacientes ou profissionais da área da saúde, causadas pelo contato com anestésicos e outros Compostos Orgânicos Voláteis (COVs), estes compostos devem ser avaliados e determinado o grau de comprometimento ambiental, com objetivo de orientar e controlar as ações de prevenção e/ou correção.

2.7. Devem ser observadas as orientações em relação aos procedimentos de descarte dos resíduos gerados no serviço de saúde, visando garantir a qualidade do ar interior, conforme definidas no Regulamento Técnico da ANVISA, Resolução RDC nº 33, de 25 de fevereiro de 2003, referente ao gerenciamento de resíduos de serviços de saúde (RSS).

2.8. Não devem ser aceitos nos ambientes microrganismos potencialmente agressores com transmissão comprovada por via ambiental⁴, excetuando-se as áreas de isolamento destinadas à internação de pacientes com infecção transmitida pelo ar.

2.9. Para os efeitos desta Orientação Técnica são adotados os níveis de risco de ocorrência de eventos adversos à saúde relacionados ao ar ambiente em serviços de saúde, conforme o item 1.4, de acordo com as situações selecionadas como potencialmente responsáveis pela aquisição e/ou transmissão de eventos adversos e pelos métodos ou processos realizados nos procedimentos de promoção, proteção e recuperação da saúde.

2.10. As situações devem ser avaliadas em relação ao risco comprovadamente presente, segundo descrito no Apêndice I, considerando: procedimentos invasivos, manejo de pacientes susceptíveis, presença de substâncias contaminantes e materiais contaminantes de várias origens ou preparo de nutrientes, artigos e fármacos susceptíveis à contaminação, que gerem substâncias químicas no ambiente.

3. FONTES POLUENTES

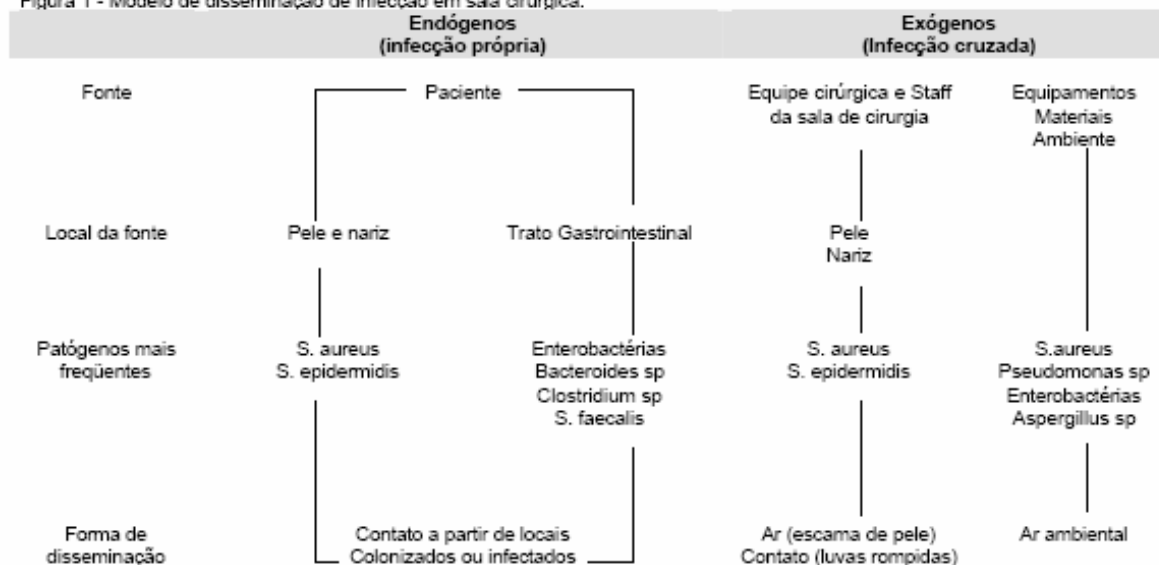
3.1. Para fins de identificação e definição de ações são apresentadas as principais fontes de infecção no Quadro 1 e o modelo de disseminação de infecção em sala cirúrgica na Figura 16.

Quadro 1 - Possíveis fontes de infecção, veiculadas pelo ar em áreas hospitalares.

Fontes internas	Fontes externas
Pacientes infectados, ou portadores assintomáticos, profissionais e visitantes.	Solo e água, incluindo torres de resfriamento.
Áreas contaminadas (expurgo ou não) e fontes de aerossóis.	Matérias orgânicas.
Ventilação, sistema de ar condicionado, oxigenoterapia.	Construções e reformas.

Adaptado de Fernandes, A.T. editor - Infecção Hospitalar e suas Interfaces na Área de Saúde, 2000.

Figura 1 - Modelo de disseminação de infecção em sala cirúrgica.



Adaptado de Fernandes, A.T. editor - Infecção Hospitalar e suas Interfaces na Área de Saúde, 2000.

4. RESPONSABILIDADES

4.1. É de responsabilidade do dirigente (administrador, proprietário, gerente ou gestor) do serviço de saúde a designação de comissão formada por profissionais de representação das áreas relacionadas ao risco gerado para implantar e executar o Programa de Controle de Qualidade Ambiental e redução dos riscos de Infecção vinculadas ao ambiente em serviços de saúde.

4.2. Esta Comissão poderá ter suas funções desempenhadas por outra comissão técnica já constituída no serviço de saúde, garantida a presença dos profissionais relacionados aos riscos envolvidos. Podendo ser representada por:

- a) Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH);
- b) Comissão Interna de Biossegurança em Saúde (CIBS) ou equivalente.

4.3. A Comissão executiva do Controle de Qualidade Ambiental e redução dos riscos de infecção ou agravo a saúde vinculada ao ambiente, obriga-se a:

- a) Estabelecer o plano de ações de prevenção de fontes de contaminação vinculadas ao ambiente e ao sistema de climatização ambiental;
- b) Estabelecer o plano de ações de correção de fontes de contaminação vinculadas ao ambiente e ao sistema de climatização ambiental;
- c) Estabelecer o plano de validação das ações de prevenção e correção de fontes de contaminação vinculadas ao ambiente e ao sistema de climatização ambiental;
- d) Estabelecer a periodicidade de controle dos ambientes em função da condição estatística de incidência de infecção hospitalar e agravo à saúde de usuários, quer sejam pacientes ou profissionais de saúde no estabelecimento de sua responsabilidade.

4.4. A Comissão executiva do Controle de Qualidade Ambiental e redução dos riscos de infecção ou eventos adversos vinculados ao ambiente, deverá utilizar como instrumentos de validação e controle de ações:

- a) Avaliações biológicas, químicas e físicas das condições do ar interior dos ambientes de serviços de saúde. Os relatórios técnicos sobre qualidade do ar interior devem ser elaborados conforme especificado pela norma ABNT NBR 10.719 – Apresentação de relatórios técnico-científicos;
- b) Utilizar como Padrão Referencial de Qualidade de ar ambiental em estabelecimentos de saúde, segundo característica da área e seus riscos, o estabelecido nos itens 2.5 e 2.9 desta Resolução;
- c) Manter disponível o registro das validações de ações realizadas, pelo prazo mínimo de 5 (cinco) anos;
- d) Manter disponível o registro das avaliações e correções realizadas, pelo prazo mínimo de 5 (cinco) anos;
- e) Divulgar aos ocupantes dos ambientes os procedimentos e resultados das atividades de avaliação e correção realizadas;
- f) Desenvolver o controle ambiental envolvendo: ar interior, águas, superfícies e resíduos sólidos;

g) Conhecer, acompanhar e colaborar com os estudos epidemiológicos das infecções relacionadas ao serviço de saúde, com vistas à execução oportuna de ações de prevenção e controle relacionados à qualidade do ar interior.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. PASQUARELLA, C.; PITZURRA, O. & SAVINO, A. The index of Microbial contamination. *Journal of Hospital Infection*, 46: 241-256, 2000.
2. RICE, N.; STREIFEL, A. & VESLEY, D. An evaluation of hospital special-ventilation-room pressure. *Infection Control Hosp. Epidemiol.*, 22:19-23, 2001.
3. ASPEC – Association pour la prevention et l'etude de la contamination. Recommendation 78/07 – Principles et methods de mesure de la biocontamination de l'air.
4. CENTER FOR DISEASES AND PREVENTION. Draft Guideline for Environmental Infection Control in Healthcare Facilities, 2001.
5. APIC – Association for professionals in infection control and epidemiology. Infection control tool kit series: Construction and renovation. 1989-1999 Apic Education Committee.
6. Fernandes, A.T. editor - Infecção Hospitalar e suas Interfaces na Área de Saúde, 2000.

Apêndice I - Variáveis Físicas, Químicas e Níveis de Risco.

Ambientes ^(a)	Nível de Risco ^(b)	Situação a Controlar ^(c)	Condição ^(d)
Atendimento Ambulatorial			
Enfermagem			
Sala de inalação	2	AgB, AgQ	Exaustão. Para procedimentos de inalação de pentamidina adotar 100% de renovação de ar exterior ou recirculação do ar somente para a própria sala após filtragem F7 + A3.
Atendimento Imediato			
Atendimento de urgências e emergências			
Sala de procedimentos especiais (invasivos)	2	AgB	Pressão positiva.
Sala de emergência (politraumatismo, parada cardíaca)	2	AgB	-
Sala sob precauções de isolamento ^(e)	2	AgB	100% de renovação de ar exterior ou recirculação do ar somente para a própria sala após filtragem F7 + A3.
Internação			
Internação geral			
Quarto para internação de imunodeprimidos	3	AgB	Pressão positiva.
Quarto para paciente sob precaução de isolamento para infecção transmitida pelo ar ^(e)	3	AgB	Pressão negativa. 100% de renovação de ar exterior ou recirculação do ar somente para a própria sala após filtragem F7 + A3.
Internação de recém nascido			
Berçário de cuidados intensivos (UTI neonatal)	2	AgB, TE	Pressão positiva. Temperatura de bulbo seco entre 22°C e 26°C, controlável a critério da equipe médica.
Internação intensiva (UTI/CTI)			
Quarto ou área coletiva	2	AB	Pressão positiva.
Quarto para internação de imunodeprimidos	3	AgB	Pressão positiva.
Quarto para paciente sob precaução de isolamento para infecção transmitida pelo ar ^(e)	3	AgB	Pressão negativa. 100% de renovação de ar exterior ou recirculação do ar somente para a própria sala após filtragem F7 + A3.
Internação para tratamento intensivo de queimados – UTQ			
Quarto ou enfermaria (para pacientes não expostos)	2	AgB, TE	Pressão positiva. Temperatura de bulbo seco entre 26°C e 30°C, controlável a critério da equipe médica. Umidade relativa entre 60% e 70%.
Quarto ou enfermaria (para pacientes expostos)	3	AgB, TE	Pressão positiva. Temperatura de bulbo seco entre 26°C e 30°C, controlável a critério da equipe médica. Umidade relativa entre

Ambientes ^(a)	Nível de Risco ^(b)	Situação a Controlar ^(c)	Condição ^(a)
			60% e 70%.
Apoio ao Diagnóstico e Terapia			
Patologia clínica			
Sala do Laboratório - Nível de Biossegurança 2 - NB 2 ^(f)	1	AgB, AgQ	-
Sala do Laboratório - Nível de Biossegurança 3 - NB 3 ^(f)	3	AgB, AgQ	Pressão negativa. Exaustão.
Imagenologia			
Salas de comando e componentes técnicos	1	EQ	Verificar o manual do fabricante quanto às condições de temperatura e umidade.
Hemodinâmica - Sala de exame	2	AgB, EQ	Verificar o manual do fabricante quanto às condições de temperatura e umidade.
Salas de exame (outros)	1	EQ	Verificar o manual do fabricante quanto às condições de temperatura e umidade.
Sala de exame de endoscopia / colonoscopia	1	AgB, AgQ	-
Sala de exame de broncoscopia	2	AgB, AgQ	Pressão negativa. 100% de renovação de ar exterior ou recirculação do ar somente para a própria sala após filtragem F7 + A3.
Sala de preparo de equipamentos / materiais endoscópicos	1	AgB, AgQ	Pressão negativa. Exaustão.
Anatomia patológica e citopatologia			
Sala de macroscopia (descrição e lavagem, área de armazenamento de peças)	1	AgB, AgQ	Pressão negativa. Exaustão.
Sala de necropsia	1	AgB, AgQ	Pressão negativa. Exaustão.
Medicina nuclear			
Laboratório de manipulação e estoque de fontes em uso	1	AgR	Atender especificações da CNEN.
Laboratório radioimunoensaio	1	AgR	Atender especificações da CNEN.
Sala de exame (gama-câmara e cintilógrafo)	1	AgR, EQ	Verificar o manual do fabricante quanto às condições de temperatura e umidade.
Centro cirúrgico			
Sala de indução anestésica	1	AgB, AgQ	-
Sala de cirurgia	2	AgB, AgQ	Pressão positiva. Temperatura de bulbo seco entre 18°C e 22°C, controlável a critério da equipe médica. Umidade relativa entre 45% e 55%.
Sala de cirurgia especializada (ortopedia, neurologia, cardiologia, transplante)	3	AgB, AgQ	Pressão positiva. Temperatura de bulbo seco entre 18°C e 22°C, controlável a critério da equipe médica. Umidade relativa entre 45% e 55%.

Ambientes ^(a)	Nível de Risco ^(b)	Situação a Controlar ^(c)	Condição ^(a)
Sala de apoio às cirurgias especializadas	2	AgB	Pressão positiva.
Área de recuperação pós-anestésica	1	AgB	-
Centro obstétrico			
Sala de indução anestésica	1	AgB, AgQ	-
Sala de parto normal	1	AgB	-
Sala de parto cirúrgico	2	AgB, AgQ	Pressão positiva. Temperatura de bulbo seco entre 18°C e 22°C, controlável a critério da equipe médica. Umidade relativa entre 45% e 55%.
Área de recuperação pós-anestésica	1	AgB	-
Hemoterapia e hematologia			
Sala para processamento de sangue	1	TE	Temperatura de bulbo seco entre 20°C a 24°C.
Radioterapia			
Sala de simulação	1	EQ	Verificar o manual do fabricante quanto às condições de temperatura e umidade.
Salas de terapia (braquiterapia invasiva)	2	AgB	Pressão positiva.
Salas de terapia (braquiterapia não invasiva)	1	AgB	-
Salas de terapia (bomba de cobalto, acelerador linear e ortovoltagem)	1	EQ	Verificar o manual do fabricante quanto às condições de temperatura e umidade.
Diálise			
Sala de reprocessamento de dializadores (Hepatite C, HbsAg+ e não contaminados)	1	AgB, AgQ	Pressão negativa. 100% de renovação de ar exterior.
Apoio Técnico			
Nutrição enteral			
Sala de manipulação e envase ^(g)	1	AgB	-
Lactário			
Área para preparo e envase de fórmulas lácteas e não lácteas	1	AgB	-
Farmácia			
Sala para preparo e distribuição de germicidas	1	AgQ	Exaustão. 100% de renovação de ar exterior.
Sala de limpeza e higienização de insumos para manipulação enteral	1	AgB	Exaustão. 100% de renovação de ar exterior.
Sala de preparo de quimioterápicos ^(f)	1	AgQ	Exaustão local.
Sala de manipulação de nutrição parenteral ^(h)	3	AgB	Pressão positiva.
Central de material esterilizado			
Área para recepção, descontaminação e separação de materiais	1	AgB, AgQ	Pressão negativa. Exaustão forçada de todo o ar do ambiente, com descarga para o exterior.
Área para lavagem de materiais	1	AgB	Pressão negativa. Exaustão forçada de todo o ar do ambiente, com descarga para o exterior.
Área para preparo de materiais e roupa limpa	1	AgB	-

Ambientes ^(a)	Nível de Risco ^(b)	Situação a Controlar ^(c)	Condição ^(d)
Área para esterilização física	1	AgB	Pressão positiva. Exaustão forçada de todo o ar do ambiente, com descarga para o exterior.
Área para esterilização química líquida	1	AgB, AgQ	Pressão negativa. Exaustão forçada de todo o ar do ambiente, com descarga para o exterior.
Sala de aeração para ETO ^(f)	1	AgB, AgQ	Pressão negativa. Exaustão.
Sala de armazenagem e distribuição de materiais e roupa esterilizados	1	AgB	Pressão positiva. Temperatura de bulbo seco entre 21°C e 25°C. Umidade relativa entre 30% e 60%.
Apoio Logístico			
Processamento de roupa			
Sala para recebimento, pesagem, classificação e lavagem (área suja)	3	AgB	Pressão negativa. Exaustão forçada de todo o ar do ambiente, com descarga para o exterior.
Sala de processamento (centrifugação, secagem, costura, passagem, separação, dobragem, armazenagem e distribuição (área limpa).	0	-	Pressão positiva.
Sala do gerador de ozônio	1	AgQ	Pressão negativa. Exaustão forçada de todo o ar do ambiente, com descarga para o exterior.
Revelação de filmes e chapas			
Sala de revelação (câmara escura)	1	AgQ	Pressão negativa. Exaustão forçada de todo o ar do ambiente, com descarga para o exterior.

Notas:

a) A coluna **Ambiente** contém a listagem e nomenclatura dos ambientes conforme Resolução ANVISA RDC nº 50, de 21 de fevereiro de 2002.

b) A coluna **Nível de Risco** contém a classificação dos possíveis riscos de ocorrência de eventos adversos por exposição ao ar ambiental, conforme item 1.4.

c) A coluna **Situação a Controlar** indica os tipos de agentes e situações a serem controlados:

AgB - Agente Biológico

AgQ - Agente Químico

AgR - Agente Radiológico

EQ - Condições especiais para funcionamento do equipamento – consultar o fabricante

TE - Terapias ou processos especiais

d) As informações contidas na coluna **Condição** estabelecem as principais medidas de controle a serem seguidas, em função do nível de risco e da situação de controle do ambiente. Essas informações se complementam com a norma ABNT NBR 7256 – Tratamento de ar em estabelecimentos de saúde. Vide item 2.5.2, b.

e) Vide Nota Técnica sobre Síndrome Respiratória Aguda Grave – SRAG do DENSP/FUNASA/MS, de 30 de junho de 2003.

f) Estes ambientes requerem complementarmente a instalação de Cabines de Segurança Biológicas como equipamentos de proteção coletiva.

g) Vide Resolução da ANVISA/MS RDC nº 63, de 6 de julho de 2000.

h) Vide Portaria do Ministério da Saúde nº 272, de 8 de abril de 1998.

i) Vide Portaria Interministerial nº 482, de 16 de abril de 1999.

Apêndice II - Norma Técnica 001

Qualidade do Ar Ambiental Interior. Método de Amostragem. Determinação da Temperatura, Umidade e Velocidade do Ar em Ambientes Interiores.

MÉTODO ANALÍTICO

OBJETIVO: Pesquisa, monitoramento e controle do processo de climatização de ar em ambientes climatizados.

APLICABILIDADE: Ambientes interiores, em serviços de saúde.

MARCADORES: Temperatura do ar (°C)

Umidade do ar (%)

Velocidade do ar (m/s)

MÉTODO DE AMOSTRAGEM: Equipamentos de leitura direta. Termo-higrômetro e Termo-anemômetro.

PERIODICIDADE: Definida pelo responsável do Programa de Controle de Qualidade Ambiental.

FICHA TÉCNICA DOS AMOSTRADORES:

Amostrador: Leitura Direta - Termo-higrômetro.	
Princípio de operação: Sensor de temperatura do tipo termo-resistência. Sensor de umidade do tipo capacitivo ou por condutividade elétrica.	
Calibração: Anual	Faixa: 0° C a 70° C de temperatura 5% a 95 % de umidade Exatidão: ± 0,8 ° C de temperatura ± 5% do valor medido de umidade

Amostrador: Leitura Direta –Anemômetro.	
Princípio de operação: Preferencialmente sensor de velocidade do ar do tipo fio aquecido ou fio térmico.	
Calibração: Anual	Faixa: de 0 a 10 m/s Exatidão: ± 0,03 m/s (± 4% do valor medido)

ESTRATÉGIA DE AMOSTRAGEM:

- Selecionar 01 amostra de ar interior por unidade, obedecendo aos critérios de classificação de nível de risco, descrito na tabela do Apêndice I.
- Os pontos amostrais deverão ser distribuídos uniformemente e coletados com o amostrador localizado na altura de 1,5 m do piso, no centro do ambiente ou em zona ocupada, para o Termo-higrômetro e no espectro de ação do difusor para o Anemômetro.

RESPONSABILIDADE TÉCNICA: Considera como responsável técnico, o profissional que tem competência legal para exercer as atividades descritas nas análises preconizadas, em conformidade com a regulamentação profissional vigente no país.

Apêndice III - Norma Técnica 002

Qualidade do Ar Ambiental Interior. Método de Amostragem e Análise de Bioaerossol (partículas biológicas viáveis) em Ambientes Interiores.

MÉTODO ANALÍTICO

OBJETIVO: Pesquisa, monitoramento e controle ambiental da possível colonização, multiplicação e disseminação de bactérias e fungos em ar ambiental interior.

DEFINIÇÕES:

Bioaerossol: Suspensão de microrganismos viáveis dispersos no ar.

Marcador epidemiológico: Elemento aplicável à pesquisa, que determina a qualidade do ar ambiental.

APLICABILIDADE: Ambientes interiores, em serviços de saúde.

MARCADOR EPIDEMIOLÓGICO: Bactérias e fungos viáveis.

MÉTODO DE AMOSTRAGEM: Amostrador de ar por impactação com acelerador linear.

PERIODICIDADE: Definida pelo responsável do Programa de Controle de Qualidade Ambiental.

FICHA TÉCNICA DOS AMOSTRADORES:

Amostrador: Impactador 1, 2 ou 6 estágios.	
Meio de Cultivo: Bactérias – Agar Sangue de carneiro ou outro, desde que cientificamente validado.	
Fungos - Agar Extrato de Malte, Agar Sabouraud Destrose a 4%, Agar Batata Dextrose ou outro, desde que cientificamente validado.	
Taxa de Vazão: 25 a 35 l/min, recomendada 28,3 l/min.	
Tempo de Amostragem: 10 a 15 min. Em áreas consideradas comuns utilizar a norma técnica descrita na Resolução ANVISA RE nº 9.	
Volume Mínimo: 250 l	
Volume Máximo: 525 l	
Embalagem: Rotina de embalagem para proteção da amostra com nível de biossegurança 2 (recipiente lacrado, devidamente identificado com símbolo de risco biológico).	
Transporte: Rotina de embalagem para proteção da amostra com nível de biossegurança 2 (recipiente lacrado, devidamente identificado com símbolo de risco biológico).	
Calibração: Semestral	Exatidão: ± 0,02 l/min
	Precisão: ± 99,92 %

ESTRATÉGIA DE AMOSTRAGEM:

- Selecionar 01 amostra de ar interior por unidade, obedecendo aos critérios de classificação de nível de risco, descrito na tabela do Apêndice I.
- O amostrador deve estar localizado na altura de 1,5 m do piso, no centro do ambiente.

PROCEDIMENTO LABORATORIAL: Método de cultivo e quantificação segundo normatizações universalizadas. Tempo mínimo de incubação de 48 horas a 37° C para bactérias e 7 dias a 25° C para fungos, permitindo o total crescimento dos fungos. Na vigência de procedimentos de identificação, estas deverão se iniciar apenas após o período mínimo de incubação.

RESPONSABILIDADE TÉCNICA: Considera como responsável técnico, o profissional que tem competência legal para exercer as atividades descritas nas análises preconizadas, em conformidade com a regulamentação profissional vigente no país.

BIBLIOGRAFIA:

"Standard Methods for Examination of Water and Wastewater". 17th ed. APHA, AWWA, WPC.F;

"The United States Pharmacopeia". USP, XXIII ed., NF XVIII, 1985.

NIOSH - National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH Manual of Analytical Methods

(NMAM), BIOAEROSOL SAMPLING (Indoor Air) 0800, Fourth Edition.

IRSST – Institute de Recherche en Santé et en Sécurité du Travail du Quebec, Canada, 1994.

Members of the Thecnicae Advisory Committee on Indoor Air Quality, Commission of Public Health Ministry

of the Environment – Guidelines for Good Indoor Air Quality in Office Premises, Singapore.

Apêndice IV - Norma Técnica 003

Qualidade do Ar Ambiental Interior. Método de Amostragem e Análise de Concentração de Aerodispersóides em Ambientes Interiores.

MÉTODO ANALÍTICO

OBJETIVO: Pesquisa, monitoramento e controle de aerossóis totais em ambientes interiores climatizados.

APLICABILIDADE: Ambientes interiores, em serviços de saúde.

MARCADOR EPIDEMIOLÓGICO: Poeira Total (mg/m^3).

MÉTODO DE AMOSTRAGEM: Coleta de aerossóis por filtração (MB-3422 da ABNT).

PERIODICIDADE: Definida pelo responsável do Programa de Controle de Qualidade Ambiental.

FICHA TÉCNICA DOS AMOSTRADORES:

Amostrador: Unidade de captação constituída por filtros de PVC, diâmetro de 37 mm e porosidade de 5 μm de diâmetro de poro específico para poeira total a ser coletada; Suporte de filtro em disco de celulose; Porta-filtro em plástico transparente com diâmetro de 37 mm. Aparelhagem: Bomba de amostragem, que mantenha ao longo do período de coleta, a vazão inicial de calibração com variação de máxima de 5%.	
Taxa de Vazão: 1,0 a 3,0 l/min, recomendado 2,0 l/min. Volume Mínimo: 50 l Volume Máximo: 400 l Tempo de Amostragem: 50 l Π 17 min; 400 l Π 133 min Embalagem: Rotina Transporte:	
Calibração: Semestral Ajuste: em todo procedimento, quando o aparelho permitir.	Exatidão: $\pm 5\%$ do valor medido

PROCEDIMENTO DE COLETA: MB-3422 da ABNT.

PROCEDIMENTO DE CALIBRAÇÃO DAS BOMBAS: NBR-10.562 da ABNT

PROCEDIMENTO LABORATORIAL: NHO 03 da FUNDACENTRO

ESTRATÉGIA DE AMOSTRAGEM:

- Selecionar 01 amostra de ar interior por unidade, obedecendo aos critérios de classificação de nível de risco, descrito na tabela do Apêndice I.
- O amostrador deve estar localizado na altura de 1,50 m do piso, no centro do ambiente.

RESPONSABILIDADE TÉCNICA: Considera como responsável técnico, o profissional que tem competência legal para exercer as atividades descritas nas análises preconizadas, em conformidade com a regulamentação profissional vigente no país.

Apêndice V - Norma Técnica 004

Qualidade do Ar Ambiental Interior. Método de Amostragem e Análise de Concentração de Aerodispersóides em Ambientes Interiores.

MÉTODO ANALÍTICO

OBJETIVO: Pesquisa, monitoramento e controle de aerossóis respiráveis em ambientes interiores climatizados.

APLICABILIDADE: Ambientes interiores, em serviços de saúde.

MARCADOR EPIDEMIOLÓGICO: Partículas respiráveis (mg/m^3).

MÉTODO DE AVALIAÇÃO: Contador a laser (Dust Count).

PERIODICIDADE: Definida pelo responsável do Programa de Controle de Qualidade Ambiental.

FICHA TÉCNICA DOS AMOSTRADORES:

Amostrador: Leitura Direta.	
Princípio de operação: Sensor de captação do desvio de um feixe de raio laser.	
Calibração: Anual	Faixa: partículas entre $0,3\mu$ a $5,0\mu$ partículas entre $0,5\mu$ a $7,0\mu$

ESTRATÉGIA DE AVALIAÇÃO:

- Selecionar 01 ponto de amostragem, obedecendo aos critérios de classificação de nível de risco, descrito na tabela do Apêndice I e proceder a duas avaliações subseqüentes. O resultado deverá ser expresso na média das duas avaliações em mg/m^3 , por leitura direta se o equipamento permitir ou através do cálculo matemático.
- O amostrador deve estar localizado na altura de 1,50 m do piso, no centro do ambiente.

RESPONSABILIDADE TÉCNICA: Considera como responsável técnico, o profissional que tem competência legal para exercer as atividades descritas nas análises preconizadas, em conformidade com a regulamentação profissional vigente no país.