



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO (UFMA)
CENTRO DE CIÊNCIAS DE BALSAS (CPBL)
CURSO DE BACHARELADO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

CARLOS DANIEL NAZARENO FERRÃO

**USO POTENCIAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia* NA
REMEDIAÇÃO AMBIENTAL DE FUNGOS INTERIORES**

BALSAS – MA

2022

CARLOS DANIEL NAZARENO FERRÃO

**USO POTENCIAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia* NA
REMEDIAÇÃO AMBIENTAL DE FUNGOS INTERIORES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Superior de Bacharelado em Engenharia Ambiental, do Centro de Ciências de Balsas (CPBL) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), como requisito para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia Ambiental.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Débora Batista Pinheiro Sousa

BALSAS – MA

2022

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Nazareno Ferrão, Carlos Daniel. USO POTENCIAL DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia* NA REMEDIAÇÃO AMBIENTAL DE
FUNGOS INTERIORES / Carlos Daniel Nazareno Ferrão. - 2022.
73 p.

Orientador(a): Débora Batista Pinheiro Sousa.
Monografia (Graduação) - Curso de Engenharia Ambiental,
Universidade Federal do Maranhão, Balsas, MA, 2022.

1. Ambientes internos. 2. Antifúngico. 3. Fungos. 4.
Melaleuca. 5. Óleo essencial. I. Batista Pinheiro Sousa,
Débora. II. Título.

CARLOS DANIEL NAZARENO FERRÃO

**USO POTENCIAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia* NA
REMEDIAÇÃO AMBIENTAL DE FUNGOS INTERIORES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Superior de Bacharelado em Engenharia Ambiental, do Centro de Ciências de Balsas (CPBL) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), como requisito para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia Ambiental.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Débora Batista Pinheiro Sousa

Aprovado em ____/____/____

Banca Examinadora

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Débora Batista Pinheiro Sousa
Universidade Federal do Maranhão
(Orientadora)

Prof.^a Dr.^a Queli Cristina Fidelis
Universidade Federal do Maranhão
(1^a Examinadora)

Prof.^a Dr.^a Alana Gandra Lima de Moura
Universidade Federal do Maranhão
(2^a Examinadora)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha mãe Elizabeth e a minha irmã Tayara, que sempre me apoiaram, incentivaram e me fortaleceram até aqui.

A minha avó Maria de Lourdes e a minha tia Rosimeire, que sempre acreditaram na minha capacidade e infelizmente faleceram antes de me ver concluindo essa jornada.

A Profa. Dra. Débora Batista Pinheiro Sousa, pela confiança, orientação e acompanhamento profissional que teve comigo durante a realização do trabalho.

Aos meus colegas da Universidade Federal do Maranhão que estiveram ao meu lado durante os últimos anos.

Aos membros da banca que se fazem presentes. Gratidão!

RESUMO

Nas últimas décadas vários sintomas e doenças estão sendo cada vez mais frequentes e atribuídos a ambientes ocupacionais internos. Dessa forma, no presente estudo, objetivou-se avaliar a eficiência do óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) para remediação ambiental de fungos interiores em comparação com outros três agentes antifúngicos: o álcool 70%, o ácido acético 4% e um agente multiuso comercial. Os fungos foram coletados em diferentes espaços do Centro de Ciências de Balsas e posteriormente identificados em laboratório. Cada agente antifúngico em comparação com o controle positivo (fenol 88%) e negativo (água destilada) foi avaliado quanto à inibição do crescimento usando o método de difusão em disco. Além disso, foi desenvolvido um código para tratamento e análise de imagem no Python visando estabelecer com maior acurácia as comparações das zonas de inibição por agentes antifúngicos e controles. Os gêneros identificados com maior ocorrência foram *Aspergillus*, *Fusarium* e *Trichosporon*. Contudo, o gênero *Aspergillus* foi isolado para os ensaios de inibição devido a sua maior ocorrência em ambientes ocupacionais e domésticos. Os resultados mostram a ineficiência das soluções de álcool 70% e ácido acético 4% e, a baixa eficácia do agente multiuso comercial frente ao potencial do óleo essencial de melaleuca para remediação de fungos interiores. O uso da biblioteca OpenCV, do Python, trouxe maior precisão ao calcular a porcentagem das áreas em que o crescimento fúngico foi inibido pelos agentes utilizados, através de uma contagem de pixels em imagens binarizadas. Os dados mostram que o óleo essencial de melaleuca foi o agente antifúngico mais eficaz, com resultados comparáveis ao controle positivo, podendo ter aplicação difundida para a remediação de ambientes internos, ocupacionais e domésticos, com contaminação fúngica.

Palavras-chave: Ambientes internos. Fungos. *Aspergillus*. Antifúngico. Óleo essencial. Melaleuca.

ABSTRACT

In the last decades, several symptoms and diseases are being more and more frequent and attributed to internal occupational environments. Thus, in the present study, the objective was to evaluate the efficiency of tea tree essential oil (*Melaleuca alternifolia*) for environmental remediation of indoor fungi compared to three other antifungal agents: 70% alcohol, 4% acetic acid and a multipurpose agent. commercial. The fungi were collected in different spaces of the Balsas Science Center and later identified in the laboratory. Each antifungal agent compared to the positive (88% phenol) and negative (distilled water) control was evaluated for growth inhibition using the disk diffusion method. In addition, a code was developed for image treatment and analysis in Python to establish more accurately the comparisons of zones of inhibition by antifungal agents and controls. The genera identified with the highest occurrence were *Aspergillus*, *Fusarium* and *Trichosporon*. However, the *Aspergillus* genus was isolated for inhibition assays due to its higher occurrence in occupational and domestic environments. The results show the inefficiency of 70% alcohol and 4% acetic acid solutions and the low effectiveness of the commercial multipurpose agent against the potential of tea tree essential oil for remediation of interior fungi. The use of Python's OpenCV library brought greater precision when calculating the percentage of areas in which fungal growth was inhibited by the agents used, through a pixel count in binarized images. The data show that tea tree essential oil was the most effective antifungal agent, with results comparable to the positive control, and may have widespread application for the remediation of internal, occupational and domestic environments, with fungal contamination.

Keywords: Indoor environments. Fungi. *Aspergillus*. Antifungal. Essential oil. Tea tree.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1 JUSTIFICATIVA	11
1.2 OBJETIVOS	12
1.2.1 OBJETIVO GERAL	12
1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
1.3 ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO	12
2. REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 FUNGOS	13
2.1.1 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	13
2.1.2 REPRODUÇÃO	14
2.1.3 NUTRIÇÃO E CRESCIMENTO	15
2.2 DOENÇAS FÚNGICAS	16
2.2.1 MICOSES SISTÊMICAS	16
2.2.1.1 BLASTOMICOSE	17
2.2.1.2 PARACOCCIDIOIDOMICOSE	17
2.2.1.3 HISTOPLASMOSE	18
2.2.1.4 ASPERGILOSE	19
2.2.1.5 PNEUMOCISTOSE	21
2.2.1.6 CRIOTOCOCOSE	22
2.2.2 MICOSES CUTÂNEAS	23
2.2.2.1 TINEA CAPITIS	23
2.2.2.2 TINEA NIGRA	24
2.2.2.3 PITIRÍASE VERSICOLOR	25
2.2.3 MICOSES SUBCUTÂNEAS	26
2.2.3.1 ESPOROTRICOSE	26
2.2.3.2 CROMOMICOSE	27
2.2.3.3 FEOHIFOMICOSE	29
2.2.3.4 HIALOHIFOMICOSE	30
2.3 SÍNDROME DO EDIFÍCIO DOENTE	30
2.3.1 FUNGOS INTERIORES	31
2.3.2 IMPACTO SOCIOECONÔMICO	33
2.4 REMEDIAÇÃO AMBIENTAL DE FUNGOS INTERIORES	34
2.4.1 POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS	35

2.4.2	MECANISMO DE AÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	37
2.4.2.1	EFEITO SOBRE O ERGOSTEROL DA MEMBRANA	37
2.4.2.2	EFEITO NO VAZAMENTO DE ÍONS CELULARES	38
2.4.2.3	EFEITO NO POTENCIAL DA MEMBRANA MITOCONDRIAL.....	38
2.4.2.4	EFEITO NO DNA E NA EXPRESSÃO GÊNICA	39
3.	METODOLOGIA	41
3.1	CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA E DO OBJETO DE ESTUDO	41
3.2	MATERIAIS.....	42
3.3	METODOLOGIA DA PESQUISA.....	42
3.4	PROCEDIMENTO METODOLÓGICO	42
3.4.1	AMOSTRAGEM	42
3.4.2	IDENTIFICAÇÃO E INOCULAÇÃO DAS ESPÉCIES FÚNGICAS.....	43
3.4.3	ENSAIOS DE INIBIÇÃO	43
3.4.4	ANÁLISE DE DADOS.....	45
4.	RESULTADOS.....	47
4.1	AMOSTRAGEM	47
4.2	IDENTIFICAÇÃO E INOCULAÇÃO DAS ESPÉCIES FÚNGICAS.....	48
4.3	ENSAIOS DE INIBIÇÃO	51
5.	CONCLUSÃO	58
	REFERÊNCIAS.....	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Características das hifas e esporos.....	14
Figura 2 – Lesão verrucosa (a) causada pelo <i>Blastomyces dermatitidis</i> (b).	17
Figura 3 – Adenopatia inflamatória e cicatrizes de linfonodos supurativos anteriores na região cervical (a), causados pela <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> (b).....	18
Figura 4 – (a) Radiografia de tórax e (b) tomografia computadorizada mostram nódulos simetricamente distribuídos causadas pela histoplasmosse aguda.	19
Figura 5 – Em (a) uma bola fúngica (seta) é visível em uma cavidade pulmonar, enquanto a infiltração nos campos pulmonares diminuiu; (b) <i>Aspergillus fumigatus</i> , um dos principais causadores de aspergiloma.	21
Figura 6 – Lesões papulonodulares umbilicadas no pescoço e tronco superior (a), causadas pelo <i>Cryptococcus neoformans</i> (b).	22
Figura 7 – Lesões combinadas com perda de cabelo (a), causadas pelo <i>Microsporium canis</i> (b).....	24
Figura 8 – Ocorrência de mácula enegrecida na palma da mão (a), causada pelo fungo <i>Hortaea werneckii</i> (b).	25
Figura 9 – Lesões descamativas de aspecto circinado (a), causadas pelo <i>Malassezia sympodialis</i> (b).	26
Figura 10 – Lesões nodulares (a), causadas pelo fungo <i>Sporothrix schenckii</i> (b)....	27
Figura 11 – Lesões moderadas causadas por cromoblastomicose.....	28
Figura 12 – Nódulo eritematoso e duas outras pápulas eritematosas exulceradas no dorso da mão.	29
Figura 13 – Estrutura química do α -terpineno, γ -terpineno e terpinen-4-ol.	35
Figura 14 – Efeitos sobre o ergosterol da membrana celular, no vazamento de íons, no potencial da membrana mitocondrial e no DNA e expressão gênica.	40
Figura 15 – Imagem de satélite do Centro de Ciências de Balsas da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), localizando o edifício administrativo.	41
Figura 16 – Distribuição dos discos de papel filtro em forma de pentágono sobre o meio previamente inoculado pela suspensão de esporos.....	44
Figura 17 – O teste de inibição realizado em duas etapas, iniciou-se com a inoculação da suspensão de esporos e, em seguida, feita sobreposição dos discos de papel filtro com o agente antifúngico.....	44
Figura 18 – Mofo preto observado no ambiente interno do edifício administrativo...	47

Figura 19 – Crescimento dos fungos nas placas expostas em (a) S1, (b) S3, (c) S4, e (d) S2 com o menor crescimento.	48
Figura 20 – Visão macroscópica e microscópica (objetiva de 40X) dos fungos (a) <i>Aspergillus niger</i> , (b) <i>Aspergillus flavus</i> e (c) <i>Aspergillus terreus</i>	49
Figura 21 – Visão macroscópica e microscópica (objetiva de 40X) dos fungos (a) <i>Fusarium oxysporum</i> e (b) <i>Fusarium proliferatum</i>	50
Figura 22 – Visão macroscópica e microscópica (objetiva de 10X) do fungo <i>Trichosporon asahii</i>	51
Figura 23 – Resultados para os testes realizados com o (a) controle positivo (88% de fenol) e (b) controle negativo (água destilada).	52
Figura 24 – Resultados para os testes realizados com (a) 70% de álcool, e (b) 4% de ácido acético.	53
Figura 25 – Resultados para os testes realizados com o limpador multiuso.	53
Figura 26 – Resultados para os testes realizados com o óleo de melaleuca, próximos aos obtidos no controle positivo da Figura 22.a	54
Figura 27 – Comparação entre os diâmetros das zonas de inibição nos testes realizado com cada agente antifúngico.	54
Figura 28 – Tratamento de imagem realizado usando a biblioteca OpenCV, em (a) o objeto de interesse foi isolado da imagem de origem e em (b) a imagem binarizada para calcular a porcentagem da área na cor branca.	55
Figura 29 – Comparação entre o potencial de inibição (%) do controle positivo (fenol), controle negativo (água destilada) e cada agente antifúngico testado.	56

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a economia mundial sofreu um rápido crescimento e o processo de industrialização progrediu de forma acelerada. Como resultado, as ações humanas resultaram em poluição, degradação ambiental e mudanças climáticas, entre outros problemas (SEIFOLLAHI-AGHMIUNI et al., 2022). Nesse contexto, a remediação ambiental atua para anular os efeitos tóxicos dos poluentes e restaurar o meio ambiente a um estado limpo (GONÇALVES JR., 2013), utilizando-se de uma série de técnicas e processos seguros e amplamente estudados pela comunidade científica (VINU; MADRAS, 2010).

O crescimento sofrido pela economia também modificou o estilo de vida das pessoas, que agora passam uma parte substancial do seu tempo em ambientes fechados (KLEPEIS et al., 2001). Nesses ambientes, a manutenção inadequada, o projeto deficiente do edifício ou as atividades dos ocupantes geralmente resultam em uma condição chamada de “Síndrome do Edifício Doente” (SED), onde os ocupantes sofrem com efeitos adversos à saúde relacionados ao tempo gasto no edifício (COOLEY et al., 1998). No que tange a saúde ocupacional, a remediação ambiental também precisa atuar.

Os óleos essenciais já são bastante utilizados para auxiliar na saúde e bem-estar, pois apresentam efeitos anti-inflamatório, anticancerígeno, antioxidante e antidiabético (BAYALA et al., 2014; EDRIS, 2007), antiespasmódico (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2007), cardiovascular (FONTENELLE et al., 2008), gastroprotetor (SOUZA et al., 2013) e também já estão presentes em tratamento de problemas respiratórios, como a asma (SERRA et al., 2019). Podem ser definidos como misturas complexas de compostos voláteis e aromáticos isolados de plantas inteiras ou só de alguma parte, como galhos, folhas, cascas, frutas, sementes ou raízes (PADILLA-CAMBEROS et al., 2022).

Além disso, os óleos essenciais têm sido relatados como agentes antifúngicos potentes e de amplo espectro que podem ser considerados candidatos eficazes para complementar ou substituir fungicidas sintéticos e minimizar a contaminação por micotoxinas (BAKKALI et al., 2008; PRAKASH et al., 2015; ZHENG et al., 2019). Tendo em vista do que foi descrito, objetiva-se com este trabalho avaliar o potencial antifúngico do óleo essencial comercial de melaleuca (*tea tree*) para remediação

ambiental de fungos encontrados nos espaços internos do Centro de Ciências de Balsas da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

1.1 JUSTIFICATIVA

A contaminação fúngica em ambientes internos tem sido associada a efeitos adversos à saúde humana. A remediação da contaminação desses microrganismos requer a remoção dos fungos presentes e a modificação do ambiente interno para se tornar menos favorável ao crescimento (CHAKRAVARTY, 2013). No entanto, os dados publicados sobre agentes químicos adequados para a remediação de fungos em interiores ainda são limitados.

A maioria dos fungos formam esporos dormentes quando expostos a um fungicida. Um agente antifúngico eficaz deve, essencialmente, inibir o crescimento presente e futuro, dos esporos dormentes que podem germinar quando o ambiente for favorável a eles. Alvejante, álcool e formaldeído estão entre os produtos químicos usados no tratamento de fungos em superfícies, contudo não inibem o crescimento futuro (ROGAWANSAMY et al., 2015).

Nesse sentido, os óleos essenciais vêm apresentando grande potencial frente aos produtos químicos e agentes multiusos vendidos comercialmente. Em especial o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, planta da família Myrtaceae, nativa da Austrália. Diversos estudos apontam a eficácia bactericida e fungicida desse óleo (BROPHY et al., 1989; EBANI et al., 2018; CHAKRAVARTY, 2013). Carson et al. (2006) apresenta o mecanismo de ação antimicrobiana, que consiste na quebra e perda de função da membrana celular, manifestada pelo vazamento de íons e inibição da respiração.

As consequências socioeconômicas de um ambiente ocupacional contaminado vão desde a diminuição da produtividade, aos custos da mão de obra para prover um ambiente saudável e, principalmente, tratar problemas de saúde humana (BURGE, 2004). Dessa forma, o óleo essencial de melaleuca pode ser um ótimo candidato para prover o bem-estar e melhorar a qualidade de ambientes internos.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral desse estudo é avaliar o uso potencial do óleo essencial comercial de melaleuca (*tea tree*) para remediação ambiental de fungos interiores em espaços do Centro de Ciências de Balsas da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para a concretização do objetivo geral, as seguintes tarefas são necessárias:

- Realizar coletas utilizando placas de ágar Sabouraud em diferentes espaços do prédio administrativo do Centro de Ciências de Balsas;
- Identificar e inocular as espécies fúngicas;
- Avaliar a inibição do crescimento fúngico utilizando água destilada (controle negativo), fenol 88% (controle positivo), ácido acético 4%, álcool 70%, óleo essencial comercial de *Melaleuca alternifolia* e um agente multiuso comercial utilizando o método de difusão em disco;
- Desenvolver um código para tratamento e análise de imagem no Python visando estabelecer com maior acurácia as comparações das zonas de inibição por agentes antifúngicos e controles.

1.3 ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO

O presente trabalho está organizado como descrito a seguir. No Item 2, é realizada uma fundamentação teórica sobre fungos, sua morfologia, reprodução e adaptação nutricional; doenças fúngicas, síndrome do edifício doente, fungos interiores e seus impactos socioeconômicos; e, a remediação ambiental de fungos interiores, o potencial antifúngico dos óleos essenciais e seus mecanismos de ação. O Item 3 é apresentada a metodologia abordada em cada etapa do trabalho. No Item 4, estão todos os resultados expostos e discutidos. Por fim, no Item 5 estão as considerações finais, bem como novos trabalhos que poderão ser desenvolvidos dando continuidade a este.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 FUNGOS

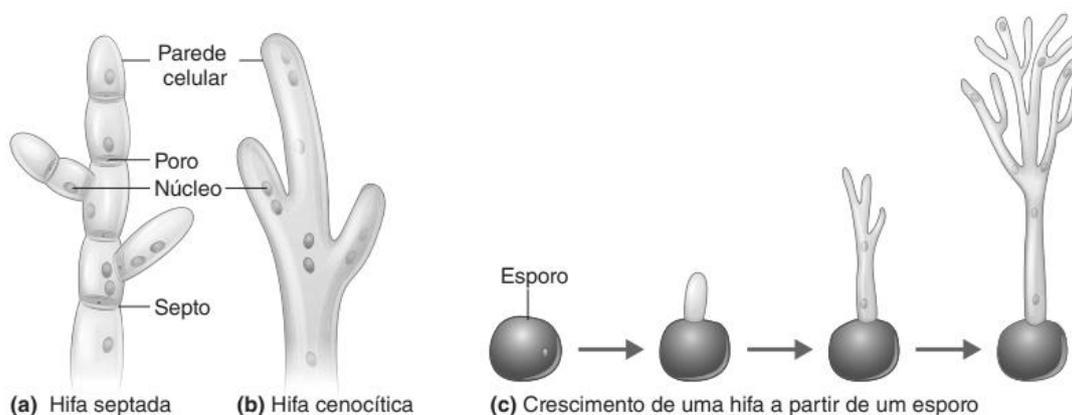
Os fungos fazem parte do reino Fungi e são seres quimio-heterotróficos, multicelulares (com exceção das leveduras), e que se reproduzem, majoritariamente, por esporos sexuais e assexuais (TORTORA, 2017). A seguir uma breve revisão das principais características morfológicas, reprodução, nutrição e crescimento.

2.1.1 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

Em fungos filamentosos e carnosos, as hifas são a unidade celular básica das estruturas. As hifas individuais são pequenas e, com poucas exceções, só podem ser vistas após ampliação considerável, variam de 0,5 a 20 μm , com a maioria variando de 2 a 10 μm de diâmetro (BROOKS et al., 2014). As características básicas de hifas em fungos, vistas com o microscópio de luz comum, incluem parede celular, parede cruzada ou septo, vacúolo, poro e, ocasionalmente, núcleos (**Figura 1.a**) (MORAES et al., 2008). A maioria dos núcleos fúngicos são muito pequenos e muitas vezes são necessárias colorações especiais para observação. As células hifas podem ser uninucleadas ou multinucleadas, mas muitos fungos de decomposição têm células binucleadas.

Septos ou paredes cruzadas funcionam como dispositivos de fortalecimento da parede celular, mas também podem funcionar para manter a pressão de turgescência ou como mecanismos de proteção no caso de células serem danificadas. Os sistemas de hifas que são multinucleados são denominados cenocíticos (**Figura 1.b**) (CARVALHAES, 1999).

Figura 1 – Características das hifas e esporos.



Fonte: Tortora (2017).

Já as leveduras, são fungos unicelulares, pleomórficos e apresentam formas esféricas, elípticas e alongadas (TORTORA, 2017). Em meios de cultura artificiais, as leveduras produzem colônias semelhantes a bactérias. As leveduras se reproduzem por brotamento. Tanto na forma leveduriforme quanto na forma de pseudo-hifas, a divisão nuclear e a formação dos septos ocorrem perto do broto. Os brotos podem se alongar e são liberados como blastósporos (FRANCO; LANDGRAF, 1996). Às vezes, os brotos se alongam, mas não se desprendem e produzem uma cadeia de hifas alongadas como um filamento chamado pseudo-hifas.

2.1.2 REPRODUÇÃO

Os fungos se reproduzem por duas formas principais, reprodução assexuada e sexuada. A reprodução de fungos produz esporos que são a unidade de dispersão e sobrevivência de fungos sem embrião. Os esporos se separam de seus fungos-mãe e se desenvolvem em uma progênie individual (CARVALHAES, 1999).

Na reprodução assexuada, não ocorre união de núcleos. Murray, et al. (2014), resumidamente expõe que a reprodução se inicia com fissão da célula-mãe, produzindo duas células-filhas semelhantes. Em seguida, a parede celular externa da célula-mãe se afina, uma nova parede celular interna e a membrana plasmática são sintetizadas no local do brotamento. Ocorre mitose e o conídio (esporo) fica com o núcleo-filho. O septo entre o conídio em desenvolvimento e sua célula-mãe é formado a partir de um anel de quitina. O septo ajuda na separação dos conídios, o que deixa

uma cicatriz de broto na parede da célula-mãe. O processo finaliza com a fragmentação de hifas e formação de esporos. Os esporos podem germinar e originar um novo fungo (**Figura 1.c**).

Já a reprodução sexuada ocorre pela união de dois talos compatíveis (homotáticos ou heterotáticos). Nos fungos heterotáticos existem na natureza os tipos de gametas, masculino e feminino, designados como **A** e **a** (ou + e -). Os fungos homotáticos não requerem tipos de gametas distintos. A organela sexual dos fungos é chamada de gametângio. Os gametângios masculinos e femininos são conhecidos como anterídio e oogônio, respectivamente. A união de talos compatíveis é seguida pela fusão dos gametângios (plasmogamia). Em alguns fungos, o tricógino (uma hifa especializada) está presente ao redor do gametângio feminino e recebe o gameta masculino. O gameta masculino é um espermatozoide uninucleado (microconídio) ou macroconídio multinucleado, formado diretamente no micélio masculino (tipo +) ou em uma estrutura especializada chamada espermogônia. O tricógino recruta um núcleo fertilizante do gameta masculino que entra no gametângio feminino e ocorre a fusão de dois núcleos haplóides (cariogamia). A cariogamia produz um núcleo diplóide que sofre meiose para reduzir o número de cromossomos em haploides novamente. Alguns dos núcleos da progênie degeneram e em algumas espécies de fungos ocorre mitose pós-meiótica (TRABULSI; ALTHERTHUM, 2015; MADIGAN et al., 2016; TORTORA, 2017).

2.1.3 NUTRIÇÃO E CRESCIMENTO

Os fungos são organismos quimio-heterotróficos. Eles usam compostos químicos orgânicos como fonte de energia e carbono. Eles obtêm sua nutrição por absorção (osmotrófica) tanto do ambiente (saprófito) quanto do hospedeiro (parasito). A maioria dos fungos saprófitos cresce aerobicamente em meio de cultura artificial a 20–30°C. As leveduras patogênicas e a fase leveduriforme de fungos dimórficos preferem crescer a 37°C (FRANCO; LANDGRAF, 1996; MADIGAN et al., 2016).

Trabulsi e Altherthum, (2015), explicam que a alta umidade, pH ácido (3,8–5,6), alta concentração de açúcar (4–5%), carbono, fósforo, enxofre e traços de potássio, magnésio, ferro e cálcio são necessários para o crescimento ideal dos fungos. A peptona e a queratina na pele atuam como uma fonte de nitrogênio. O nitrogênio é

necessário para a síntese de aminoácidos para a construção de proteínas, purinas e pirimidinas para ácidos nucleicos, glucosamina para quitina e várias vitaminas. A maioria dos fungos usa nitrogênio como nitrato que é reduzido a nitrito e depois a amônia. Nenhum deles pode fixar diretamente nitrogênio. Além disso, o crescimento dos fungos é mais lento que o das bactérias, e suas culturas precisam, em média, de 7 a 15 dias ou mais de incubação (TRABULSI; ALTHERTHUM, 2015).

2.2 DOENÇAS FÚNGICAS

Infecções fúngicas, também chamadas de micoses, são infecções crônicas de grande preocupação para a saúde pública, devido sua incidência em pacientes com outras doenças e a crescente taxa de mortalidade (REDDY et al., 2022). Além da dificuldade em atacar células fúngicas sem afetar as outras células eucarióticas do organismo, o aumento da resistência a antifúngicos faz-se necessário entender os mecanismos biológicos que regem o surgimento e a manutenção da resistência afim de criar novas estratégias para impedi-los (IYER et al., 2022).

Tortora (2017) divide as micoses em grupos. Podem ser sistêmicas, cutâneas e subcutâneas, superficiais ou oportunistas, dependendo do grau de lesão aos tecidos e da forma como entra no hospedeiro.

2.2.1 MICOSES SISTÊMICAS

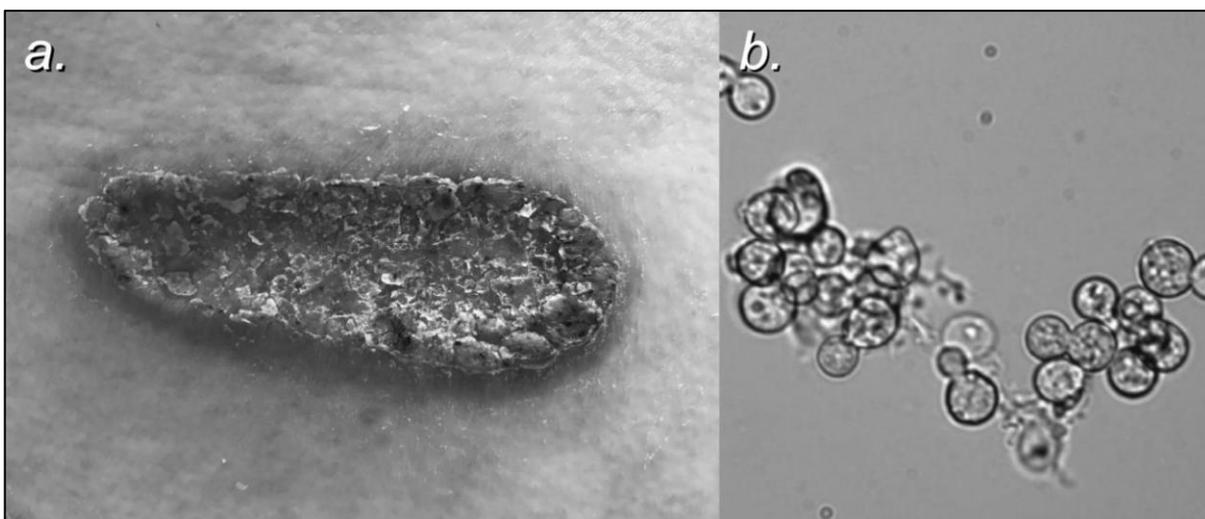
As micoses sistêmicas são infecções profundas que entram no hospedeiro por algum órgão interno, normalmente causadas por fungos que vivem no solo (TORTORA, 2017). Geralmente a infecção inicia-se nos pulmões, trato digestivo ou seios paranasais, em seguida, espalha-se pelo sangue, causando doenças disseminadas com manifestações cutâneas (CARRASCO-ZUBER et al., 2016). Podem ser oportunistas em situações de imunossupressão, ou seja, quando o hospedeiro tem alguma doença pulmonar, está sob tratamento com antibióticos ou com o sistema imunológico debilitado por drogas ou distúrbios (CURBELO et al., 2015). A seguir, alguns exemplos de micoses sistêmicas endêmicas e oportunistas.

2.2.1.1 BLASTOMICOSE

Blastomicose é uma micose termicamente dimórfica endêmica da América do Norte. O organismo responsável pela doença é o *Blastomyces dermatitidis* (**Figura 2.b**) e a infecção é tipicamente adquirida a partir da inalação do organismo, mas também pode ocorrer a partir da inoculação direta após algum trauma (CASTILLO et al., 2016).

Clinicamente, a blastomicose causa reação granulomatosa crônica e supurativa, que pode apresentar lesões verrucosas, ulceradas ou nódulos subcutâneos (**Figura 2.a**) (MCBRIDE et al., 2017).

Figura 2 – Lesão verrucosa (a) causada pelo *Blastomyces dermatitidis* (b).



Fonte: Adaptado de Butt (2020) e Marty et al. (2013).

A fisiopatologia normalmente envolve uma infecção pulmonar primária. Manifestações cutâneas de blastomicose pulmonar são comuns e são relatadas em até 60% dos pacientes. No entanto, a blastomicose cutânea primária é relatada com menor frequência (SACCENTE; WOODS, 2010).

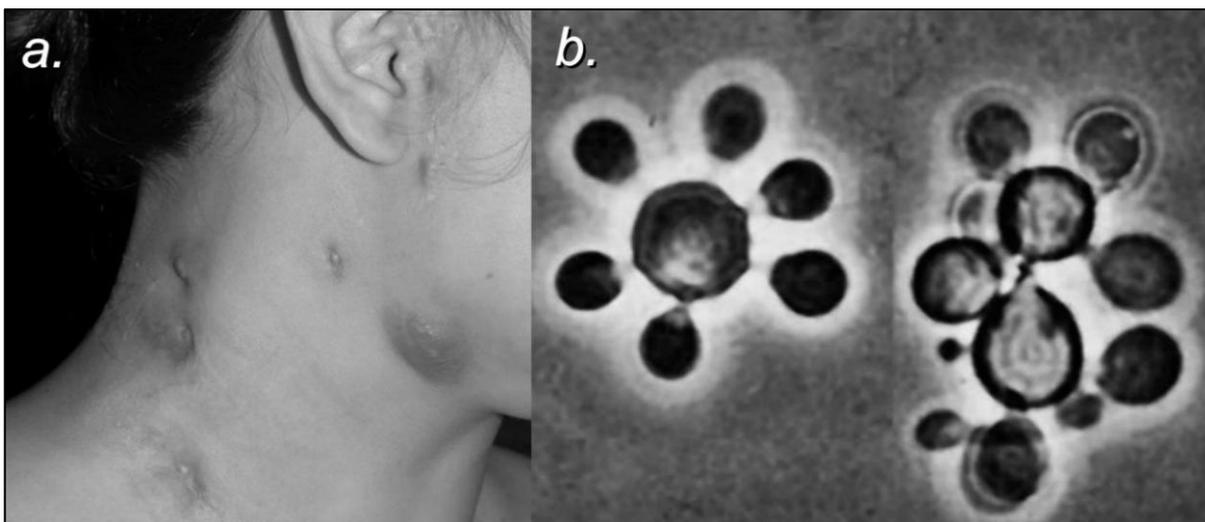
2.2.1.2 PARACOCCIDIOIDOMICOSE

A paracoccidiodomicose é uma micose crônica, subaguda ou, em casos raros, aguda causada por *Paracoccidioides brasiliensis* e *Paracoccidioides lutzii*. Afeta a pele

e órgãos viscerais. Essa doença sistêmica potencialmente fatal é considerada endêmica no México, Argentina, Guiana, Brasil, Venezuela e Colômbia (BONIFAZ et al., 2011). *P. brasiliensis* (**Figura 3.b**) é um fungo dimórfico que cresce como micélio na vegetação e solo em regiões úmidas. Não se sabe se a transmissão de humano para humano ocorre (MARQUES, 2012). O fungo entra no corpo através do sistema respiratório. As infecções adquiridas por inalação podem permanecer latentes por 1 ou 2 décadas e a reativação depende do estado imunológico (BATALHA et al., 2014).

A infecção primária tende a ser assintomática e pode deixar uma lesão residual (**Figura 3.a**). A paracoccidioidomicose crônica, que geralmente afeta adultos, é a forma mais comum da doença, cerca de 90% dos pacientes desenvolvem lesões pulmonares e metástases em diversos órgãos (MARQUES, 2012).

Figura 3 – Adenopatia inflamatória e cicatrizes de linfonodos supurativos anteriores na região cervical (a), causados pela *Paracoccidioides brasiliensis* (b).



Fonte: Adaptado de Marques (2012) e Mendes (2015).

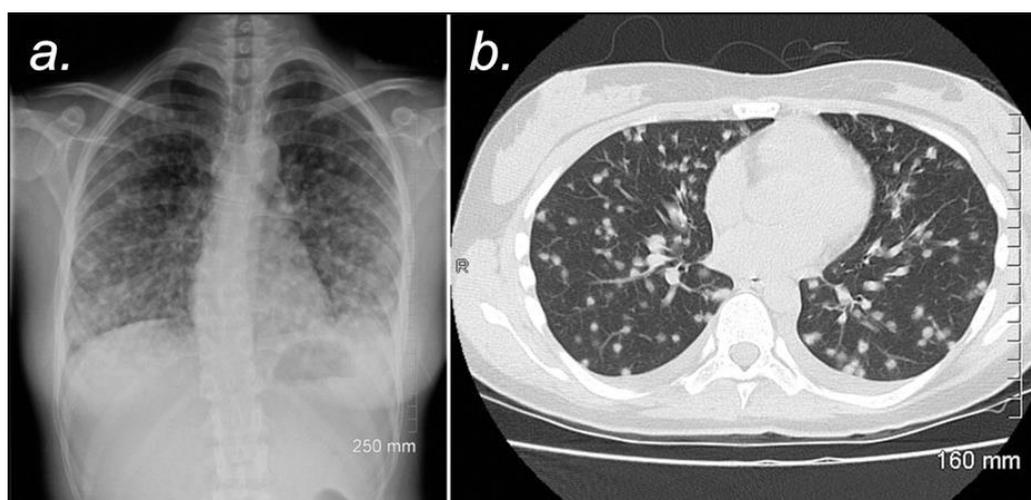
Os pacientes também podem desenvolver lesões na mucosa orofaríngea, mimetizando amigdalite crônica, lesões periodontais e laríngeas, e lesões ulcero-vegetativas periorais. Também pode haver lesões cutâneas nodulares que podem se tornar necróticas ou resultar em abscessos subcutâneos (TANGODA et al., 2012).

2.2.1.3 HISTOPLASMOSE

A histoplasmose americana ou doença de Darling é uma micose sistêmica causada pelo fungo dimórfico *Histoplasma capsulatum* e afeta principalmente o sistema reticuloendotelial (BONIFAZ et al., 2011).

O pulmão é o local mais comum de infecção primária. O fungo pode se espalhar posteriormente para vários órgãos, incluindo a pele (CHANG; RODAS, 2012). A histoplasmose é a infecção fúngica pulmonar mais comum e ocorre em todo o mundo, com casos relatados em mais de 60 países. O patógeno é particularmente prevalente em regiões com climas tropicais, como América Central e do Sul, leste dos Estados Unidos e sul do México. É encontrado no solo, matéria orgânica em decomposição, nos excrementos de morcegos (NAVARRETE-DECHENT et al., 2015) e de algumas aves, como galinhas, perus, pombos e gansos (PEREZ et al., 2012).

Figura 4 – (a) Radiografia de tórax e (b) tomografia computadorizada mostram nódulos simetricamente distribuídos causadas pela histoplasmose aguda.



Fonte: Dylewski, 2011.

Noventa e cinco por cento das pessoas infectadas com histoplasmose não apresentam manifestações clínicas. Segundo Perez (2012), na forma aguda da doença, os sintomas variam de sintomas semelhantes à gripe a manifestações mais complexas com imagens radiológicas mostrando calcificações disseminadas e achados semelhantes aos observados na tuberculose (**Figura 4**).

2.2.1.4 ASPERGILOSE

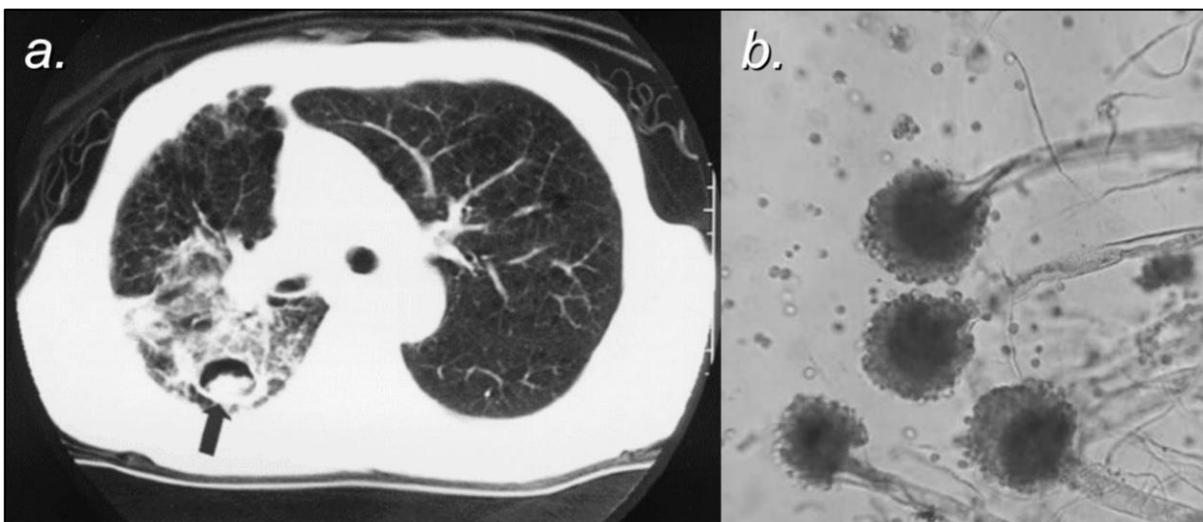
A aspergilose é a micose pulmonar primária entre pacientes críticos, sendo as espécies mais comuns *Aspergillus fumigatus* (**Figura 5.b**), *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus terreus* (GARNACHO-MONTERO et al., 2013). São adquiridos por inalação de conídios, que em um indivíduo imunocompetente são erradicados por macrófagos alveolares e neutrófilos. A doença se desenvolve quando essa linha de defesa se rompe ou, mais raramente, em situações de inalação excessiva de conídios, como ocorre durante deslizamentos de terra ou grandes catástrofes (TUNNICLIFFE et al., 2013). Várias formas clínicas pulmonares têm sido descritas, sendo a mais importante a aspergilose pulmonar invasiva (API), aspergiloma e aspergilose pulmonar crônica.

A API é a forma mais grave de aspergilose, com mortalidade em torno de 50%. É causada pela proliferação massiva de *Aspergillus* sp., com invasão tecidual e alto tropismo vascular, promovendo isquemia e disseminação. Fatores de risco graves incluem neutropenia prolongada em pacientes com neoplasias hematológicas, células-tronco hematopoiéticas e transplantes de órgãos sólidos, particularmente pulmão e coração (FORTÚN et al., 2012). Outros fatores considerados intermediários incluem internação em unidade de terapia intensiva, doença pulmonar obstrutiva crônica tratada com corticosteroides inalatórios ou sistêmicos, quimioterapia e radioterapia, AIDS, etc (TUNNICLIFFE et al., 2013).

A API progride com febre, tosse, expectoração, hemoptise, dispneia e dor pleurítica. Acometimento traqueobrônquico pode ser observado, principalmente no transplante pulmonar. Se disseminar, a pele, sistema nervoso central, fígado e rins podem ser afetados (MEHRAD et al., 2001).

Já o aspergiloma é uma bola fúngica composta por hifas, fibrina, muco e detritos celulares, que se desenvolvem dentro de uma cavidade pulmonar preexistente causada por tuberculose, câncer, etc (**Figura 5.a**). No geral, é clinicamente assintomática ou manifesta sintomas locais limitados a tosse e/ou hemoptise que pode ser grave (WALSH et al., 2008).

Figura 5 – Em (a) uma bola fúngica (seta) é visível em uma cavidade pulmonar, enquanto a infiltração nos campos pulmonares diminuiu; (b) *Aspergillus fumigatus*, um dos principais causadores de aspergiloma.



Fonte: Adaptado de Hayashi (2002) e Khudor (2021).

Por último, a aspergilose pulmonar crônica compreende um amplo espectro de sinais e sintomas clínicos decorrentes da infecção crônica ou subaguda por *Aspergillus* sp. É causada pelo crescimento fúngico local, predominantemente nos lobos inferiores. O principal fator de risco é a doença pulmonar crônica que gera algum grau de imunossupressão local: tuberculose, outras infecções micobacterianas, asma e doença pulmonar obstrutiva crônica tratadas com corticosteróides, câncer de pulmão e bolhas. Está associada a polimorfismos de lectina de ligação de manose, deficiência de surfactante e baixa produção de interferon (KOSMIDIS; DENNING, 2015; PATTERSON; STREK, 2014).

2.2.1.5 PNEUMOCISTOSE

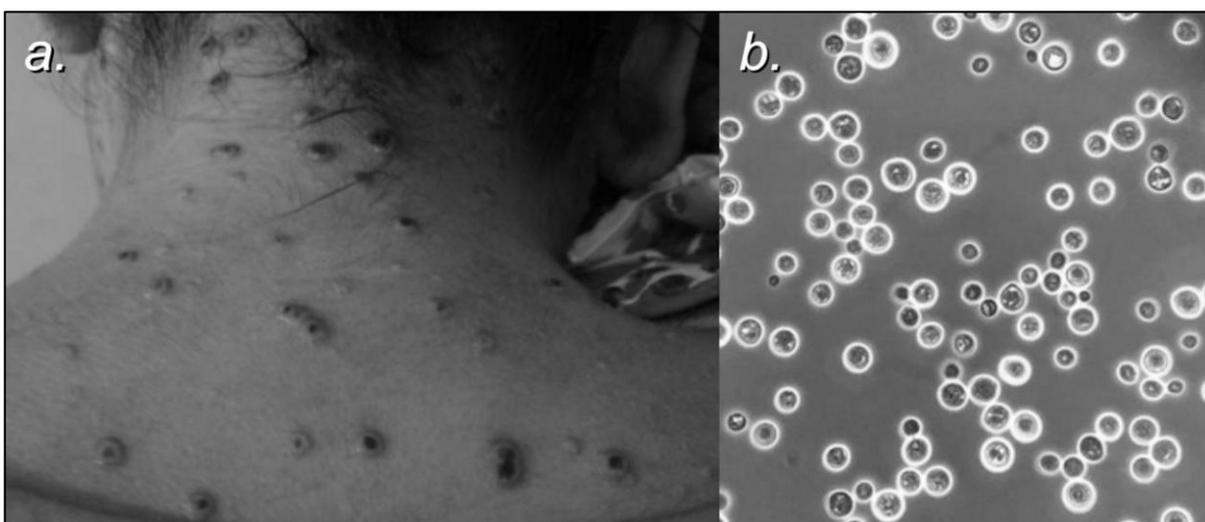
A micose é causada pelo *Pneumocystis jirovecii*, um fungo atípico, adquirido por via aérea, ainda na infância (MORRIS et al., 2008). O principal fator de risco para o desenvolvimento dessa micose é a infecção pelo HIV. Pode, no entanto, ocorrer também em outros estados imunossupressores mediados por células comuns a outras micoses (SEPKOWITZ, 2002; FILLATRE et al., 2014). É importante notar que os agentes imunossupressores mais citados são os corticosteroides, particularmente em associação com aumentos ou reduções de doses previamente altas (YALE et al., 1996; RODRIGUEZ et al., 2004).

A síndrome clínica em pacientes com infecção pelo HIV é subaguda, com febre, tosse seca e dispneia progressiva, além de astenia generalizada e perda de peso. Entretanto, em pacientes imunossuprimidos sem infecção pelo HIV, o quadro clínico é mais agudo, o prognóstico é pior e as taxas de insuficiência respiratória aguda, necessidade de suporte ventilatório e mortalidade são maiores (BOLLÉE et al., 2007; CERÓN et al., 2014; ROUX et al., 2014). Alguns autores associam esse aumento da mortalidade em pacientes sem infecção pelo HIV com estado de imunossupressão mais grave e com atraso no diagnóstico e tratamento, uma vez que a suspeita de pneumocistose não é tão forte (KOVACS et al., 1984).

2.2.1.6 CRIPTOCOCOSE

A criptococose é uma micose sistêmica causada por uma levedura encapsulada do gênero *Cryptococcus*. As duas espécies mais comuns são *Cryptococcus neoformans* (**Figura 6.b**) e *Cryptococcus gatii*. Os pulmões são a principal via de entrada do patógeno (NEGRONI, 2012). As manifestações clínicas variam desde colonização pulmonar assintomática até disseminação sistêmica. A principal manifestação clínica é a meningoencefalite (TRISTANO, 2010).

Figura 6 – Lesões papulonodulares umbilicadas no pescoço e tronco superior (a), causadas pelo *Cryptococcus neoformans* (b).



Fonte: Adaptado de Tabassum et al. (2013) e, Recio e Perez-Ayala (2018).

A forma mucocutânea é o resultado da disseminação da infecção de outros focos em pacientes com doença disseminada. Apresenta-se como pápulas e nódulos

subcutâneos na face e pescoço (**Figura 6.a**), principalmente em pacientes com infecção pelo vírus da imunodeficiência humana em estágio avançado de AIDS (NAVARRETE-DECHENT et al., 2015).

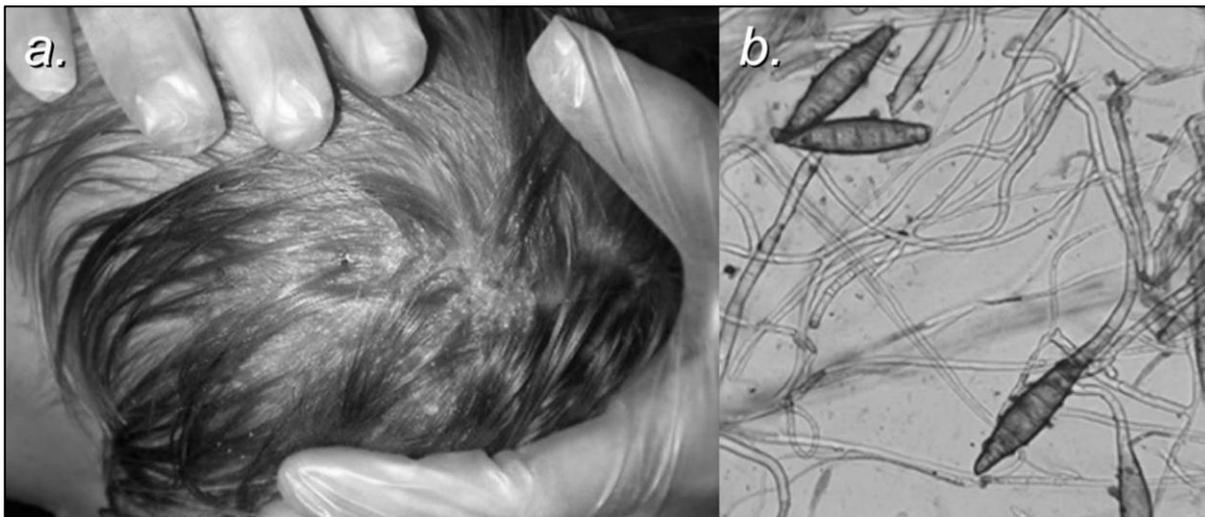
2.2.2 MICOSES CUTÂNEAS

Micoses cutâneas, ou dermatomicoses, são causadas por fungos filamentosos e queratinolíticos chamados dermatófitos, e são infecções superficiais que ocorrem em estruturas queratinizadas do hospedeiro (epiderme, cabelo e unhas). Estima-se que sua prevalência é em cerca de 20% dos humanos, sendo mais comuns em regiões de clima quente e facilmente transmitidas por contato (FAWAY et al., 2019). Alguns exemplos de micoses cutâneas estão descritos a seguir.

2.2.2.1 TINEA CAPITIS

A tinea capitis é uma infecção causada por fungos dermatófitos que acometem a pele do couro cabeludo e hastes capilares. A doença afeta mais comumente crianças de 3 a 7 anos, mas pode eventualmente afetar adultos. O aumento da prevalência da tinea capitis nas últimas décadas e a mudança no padrão dos dermatófitos causadores da doença têm sido observados nos últimos anos (MICHAELS; ROSSO, 2012). Os agentes etiológicos da tinea capitis variam de acordo com a região geográfica, condições climáticas e contexto socioeconômico da população. Clinicamente, existem áreas de queda de cabelo, com hastes pilosas tonsuradas, associadas à presença de descamação, inflamação e pústulas (**Figura 7.a**) (RUDNICKA et al., 2013).

Figura 7 – Lesões combinadas com perda de cabelo (a), causadas pelo *Microsporum canis* (b).



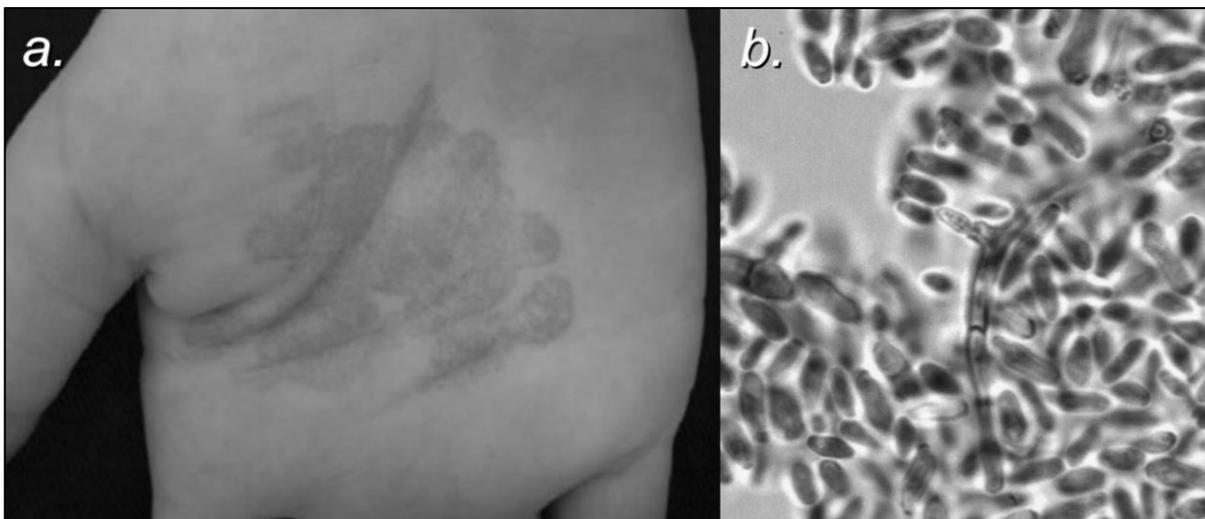
Fonte: Adaptado de Mandras et al. (2019) e Wang et al. (2021).

Embora o exame micológico direto e a cultura dependem do procedimento de coleta e do equipamento a ser realizado (AQIL et al., 2018). Nesse contexto, a tricoscopia pode ajudar a diferenciar infecções microspóricas de *Trichosporon* e monitorar a resposta ao tratamento.

2.2.2.2 TINEA NIGRA

Tinea nigra é uma micose superficial causada pelo fungo dematiáceo *Hortaea werneckii* (**Figura 8.b**), que ocorre predominantemente em áreas de clima tropical e subtropical. Clinicamente, manifesta-se como uma mácula acastanhada ou enegrecida de pigmentação irregular que ocorre classicamente nas palmas das mãos (**Figura 8.a**) e plantas dos pés (CRIADO et al., 2013). Geralmente apresenta crescimento progressivo, que pode estar associado à descamação.

Figura 8 – Ocorrência de mácula enegrecida na palma da mão (a), causada pelo fungo *Hortaea werneckii* (b).



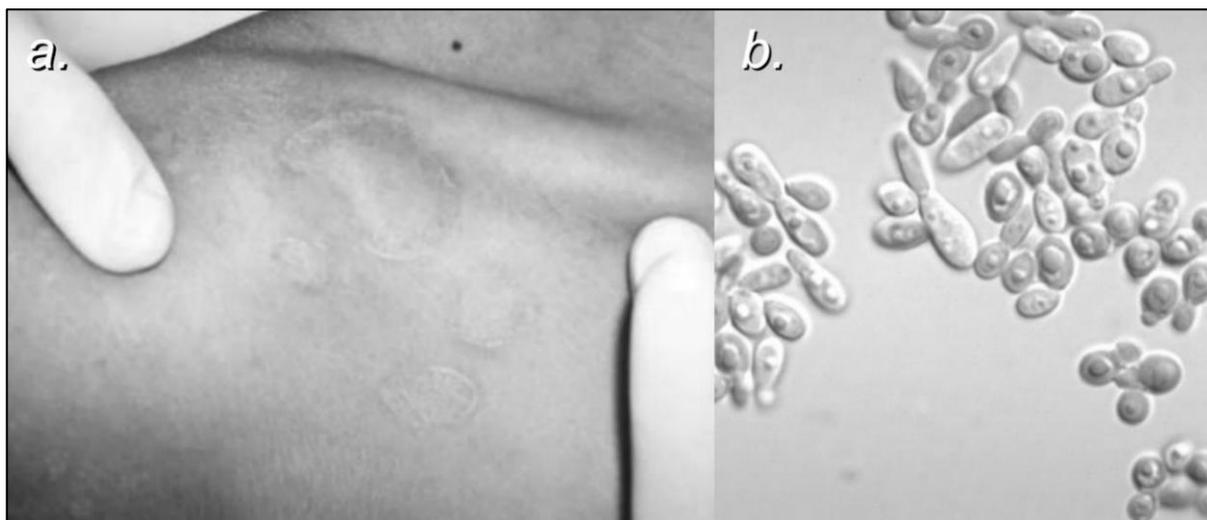
Fonte: Adaptado de Rossetto e Cruz (2012) e Mahajan (2022).

O exame micológico direto revela hifas septadas demáceas e o agente etiológico é isolado em cultura, confirmando o diagnóstico (ROSSETTO et al., 2014).

2.2.2.3 PITIRÍASE VERSICOLOR

A pitiríase versicolor é uma infecção fúngica superficial causada por leveduras do gênero *Malassezia*, um fungo dimórfico lipofílico, que acomete as camadas superficiais da epiderme. Clinicamente, apresenta lesões hiper e hipopigmentadas, redondas ou ovais, descamativas (**Figura 9.a**), localizadas no tronco, membros superiores e face, geralmente assintomáticas, embora alguns pacientes relatem prurido leve (KAUR et al., 2019). Há uma discreta predominância de ocorrência no sexo masculino, sendo a faixa etária de maior ocorrência a de 11 a 20 anos.

Figura 9 – Lesões descamativas de aspecto circinado (a), causadas pelo *Malassezia sympodialis* (b).



Fonte: Adaptado de Framil et al. (2008) e Nishiyama (2015).

Os fungos do gênero *Malassezia* (**Figura 9.b**) fazem parte da flora cutânea, mas tornam-se patogênicos em situações de desequilíbrio imunológico. O diagnóstico da pitiríase versicolor é geralmente clínico em casos de apresentação e localização características (RENATI et al., 2015).

2.2.3 MICOSES SUBCUTÂNEAS

As micoses subcutâneas, também referidas como micoses de implantação, são infecções causadas pela invasão da pele e tecido subcutâneo por fungos saprófitos presentes no solo e vegetação (WELSH; ARENAS, 2012). A rota típica de entrada para o fungo é a inoculação traumática através de material contaminado, como lascas, espinhos ou outros objetos pontiagudos (SAMAILA; ADBULLHI, 2011). As infecções a seguir são exemplos de micoses subcutâneas.

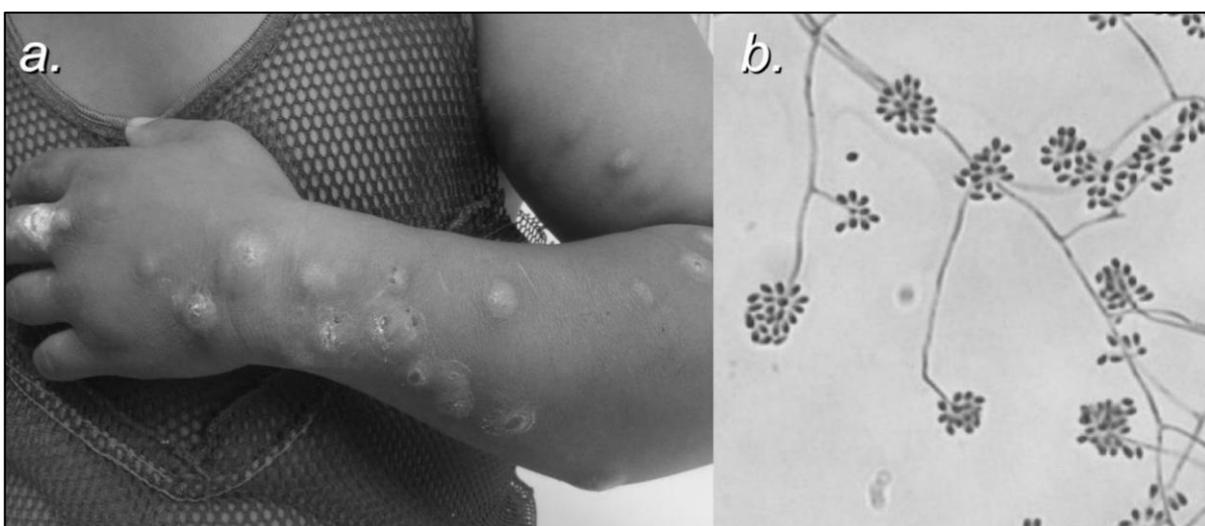
2.2.3.1 ESPOROTRICOSE

A esporotricose é uma infecção subaguda ou crônica causada por fungos dimórficos, sendo o mais comum o *Sporothrix schenckii* (**Figura 10.b**). Esses fungos são universais, embora sejam mais comuns em áreas tropicais e subtropicais (RAMOS-E-SILVA et al., 2012). A incidência estimada de esporotricose na América do Sul está entre 48 e 60 casos por 100.000 habitantes por ano (LYON et al., 2003).

Apenas alguns casos autóctones foram relatados na Espanha e em outras partes da Europa, e a maioria dos casos nessas áreas são importado (DIAS et al., 2011).

Os agentes causadores pertencem a um complexo de espécies conhecido como *S. schenckii* (OLIVEIRA et al., 2014), que compreende *Sporothrix brasiliensis*, *Sporothrix mexicana*, *Sporothrix luriei*, *Sporothrix pallida* e *Sporothrix schenckii*, que é o mais comum dos cinco (MARIMON et al., 2007). A inoculação traumática por *Sporothrix* spp. resulta em uma infecção crônica caracterizada por lesões nodulares no tecido cutâneo e subcutâneo associadas a linfangite na área afetada (**Figura 10.a**).

Figura 10 – Lesões nodulares (a), causadas pelo fungo *Sporothrix schenckii* (b).



Fonte: Adaptado de Rios et al. (2018) e, Bonifaz e Sánchez (2015).

Sporothrix spp. vivem na vegetação, plantas ou restos vegetais no solo e, portanto, as infecções são mais comuns em trabalhadores agrícolas e pessoas que trabalham em áreas abertas. A esporotricose é considerada uma doença ocupacional em guardas florestais, horticultores, jardineiros e trabalhadores rurais em geral (RAMOS-E-SILVA et al., 2012). Alcoolismo e diabetes também têm sido descritos como fatores de risco. A imunossupressão, independentemente da causa, também é fator predisponente para doença disseminada ou sistêmica (WELSH; ARENAS, 2012). A doença também pode ser adquirida pela manipulação do fungo em ambiente laboratorial. Além disso, um caso de epidemia no sul do Brasil em que a esporotricose foi transmitida aos humanos através de arranhaduras de gatos, sugere que pode ser uma infecção zoonótica (RODRIGUES et al., 2013).

2.2.3.2 CROMOMICOSE

A cromomicose, também conhecida como cromoblastomicose, é uma infecção fúngica polimórfica crônica da pele e do tecido subcutâneo. É causada por várias espécies de fungos melanizados ou demáceos, que produzem um pigmento escuro. As formas parasitárias desses fungos são chamadas de células fumagóides ou muriformes (corpos escleróticos) (PINDYCKA-PIASZCZYŃSKA et al., 2014).

As espécies mais comuns que causam cromoblastomicose são *Fonsecaea pedrosoi*, *Fonsecaea monophora*, *Cladophialophora carrionii*, *Phialophora verrucosa* e *Rhinocladiella aquaspersa* (BONIFAZ et al., 2010). A maioria dos pacientes tem história de lesão traumática envolvendo madeira ou vegetação, e mais de 80% são trabalhadores rurais na África, Ásia e América do Sul que tendem a andar descalços (TORRES-GUERRERO et al., 2012). Os fungos responsáveis pela cromoblastomicose foram encontrados em todo o mundo, embora sejam mais comuns em países tropicais e subtropicais.

O fungo geralmente penetra na pele através de uma lesão cutânea, tipicamente localizada nos membros inferiores. Cerca de 1 ou 2 meses depois, o indivíduo infectado desenvolve uma pápula que evolui para um nódulo verrucoso de crescimento lento (**Figura 11**) (SOLÓRZANO et al., 2011).

Figura 11 – Lesões moderadas causadas por cromoblastomicose.



Fonte: Adaptado de Queiroz-Telles et al. (2016).

A infecção é limitada ao tecido subcutâneo e não se espalha para músculo ou osso, exceto em pacientes imunocomprometidos. Lesões individuais podem

desenvolver uma aparência espessa de couve-flor e a superinfecção bacteriana é comum. Linfedema secundário, possivelmente progredindo para elefantíase, e carcinoma de células escamosas podem ocorrer (TORRES-GUERRERO et al., 2012).

2.2.3.3 FEOHIFOMICOSE

A feohifomicose é um grupo heterogêneo de micoses causadas por fungos de paredes escuras (dematiáceos) (MARTÍNEZ-LAMAS et al., 2014). Esses fungos são encontrados em todos os climas, embora sejam mais comuns em climas tropicais. Na última década houve um aumento nos casos entre pacientes imunossuprimidos com infecção pelo HIV ou AIDS, receptores de transplantes e pacientes diabéticos, entre outros (OGAWA et al., 2014). Os agentes causadores mais comuns são *Exophiala* spp., *Bipolaris* spp., *Curvularia* spp., *Pleurophomopsis* spp., *Phaeoacremonium* spp. e *Alternaria* spp. Os fungos são encontrados principalmente em detritos orgânicos.

Figura 12 – Nódulo eritematoso e duas outras pápulas eritematosas exulceradas no dorso da mão.



Fonte: Kondo et al. (2014).

Após trauma local ou inoculação com material estranho, os pacientes desenvolvem uma lesão solitária de crescimento lento (geralmente um cisto ou nódulo, ou possivelmente uma placa ou abscesso) normalmente localizada nas extremidades (**Figura 12**) (OGAWA et al., 2014). O diagnóstico diferencial deve incluir lipomas, cistos epidérmicos ou sinoviais, fibromas, cistos de corpo estranho e abscessos bacterianos (RUSSO et al., 2010).

2.2.3.4 HIALOHIFOMICOSE

A hialohifomicose é causada por fungos hialinos (hifomicetos) que formam hifas septadas no tecido (PERUSQUÍA-ORTIZ et al., 2012). Essa classificação, no entanto, é bastante arbitrária, pois existem muitos tipos de hifomicetos terrestres e aquáticos. Apenas alguns organismos, no entanto, podem causar infecções, a maioria das quais são oportunistas em humanos (BORDOLOI et al., 2015). A maioria dos gêneros envolvidos na hialohifomicose são morfologicamente idênticos quando observados em cortes teciduais e desencadeiam a mesma resposta patológica (GROSSMAN et al., 2012). Os fungos que frequentemente causam infecções ou têm outra característica particularmente distinta são atribuídos a uma categoria diferente (como a Aspergilose). A inoculação traumática causa abscessos, cistos e lesões semelhantes a tumores (CHADE et al., 2003).

Os agentes mais comuns envolvidos na hialohifomicose são *Aspergillus* (*fumigatus*, *niger*, *flavus*), *Scopulariopsis* spp., *Fusarium* spp., *Acremonium* recifei, *Paecilomyces* spp., *Purpureocillum* spp., e *Neoscytalidium* spp. podem ser encontrados em qualquer tipo de solo, madeira ou material vegetal em decomposição (GROSSMAN et al., 2012). Acometem indivíduos de ambos os sexos e em qualquer idade, e a imunossupressão não é condição necessária para a infecção.

2.3 SÍNDROME DO EDIFÍCIO DOENTE

Durante as últimas décadas, vários sintomas e doenças têm sido cada vez mais atribuídos a ambientes internos não industriais. Em geral, a exposição interna a perigos químicos, físicos e biológicos nocivos ocorrem em níveis baixos. No entanto, ao contrário das exposições industriais ou acidentais, essas exposições internas de baixo nível são muito comuns (SELTZER, 1995; LEDFORD; LOCKEY, 1994). Doenças associadas a ambientes internos são um dos problemas de saúde ambiental mais comuns que a maioria dos médicos enfrenta (ROSENSTOCK, 2004).

O termo síndrome do edifício doente (SED) refere-se a queixas não específicas, incluindo sintomas irritativos respiratórios superiores, dores de cabeça, fadiga, e erupção cutânea, que geralmente estão associadas ao agrupamento de pessoas que ocupam um determinado edifício por seu padrão temporal de ocorrência (BURGE,

2004). Ghaffarianhoseini, et al. (2018), apresentou um espectro de cinco contribuintes, incluindo contribuinte físico (*e.g.*, sistema de aquecimento, ventilação e ar condicionado, AVAC), contribuinte biológico (*e.g.*, contaminação fúngica), contribuinte químico (*e.g.*, Composto Orgânico Volátil, COV), contribuinte psicossocial (*e.g.*, ambiente de trabalho monótono) e contribuinte individual (*e.g.*, tendência genética).

Nesse contexto, a prevenção e remediação de SED têm atraído intenso interesse de pesquisa com crescente conscientização sobre os papéis do ambiente construído na garantia da saúde, bem-estar e produtividade dos ocupantes (SHAFAGHAT et al., 2015; YÜKSEL et al., 2021). A SED tem sido relatada com frequência crescente desde a década de 1970, à medida que edifícios mais antigos e naturalmente ventilados foram substituídos por edifícios mais herméticos e eficientes em termos de energia (TEIXEIRA et al., 2005; SILVA, 2017).

2.3.1 FUNGOS INTERIORES

Esporos fúngicos são componentes comuns do ar interno e externo. No entanto, os fungos tornaram-se uma das principais causas de queixas de baixa Qualidade do Ar Interior (QAI) em ambientes ocupacionais (FUNG et al., 2003; BIRD et al., 2012). Estão entre os contribuintes biológicos causadores da SED (COOLEY et al., 1998) e associados a efeitos adversos à saúde, incluindo dor de cabeça, alergia, asma, irritações, problemas respiratórios, micoses, e vários outros problemas de saúde não específicos (BURGE, 1990). Mais de 80 gêneros de fungos estão associados a sintomas de alergias do trato respiratório e infecções sistêmicas, como *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus* e *Penicillium* entre os gêneros mais comuns (DHARMAGE et al., 2002). Muitos fungos podem produzir Compostos Orgânicos Voláteis Microbianos e micotoxinas, que podem resultar em irritação da membrana mucosa, erupções cutâneas, tontura, náusea e imunossupressão (JACOBS, 2011).

Os fungos são capazes de crescer em ambientes internos onde há umidade suficiente e uma fonte de nutrição, como madeira, tinta e isolamento, e liberam esporos como parte de seu processo reprodutivo (CASANZ, 2002). Espécies de fungos encontradas em ambientes fechados geralmente refletem aquelas no ambiente externo, embora as concentrações possam mudar sazonalmente ou localmente, onde

o ambiente interno é favorável ao crescimento de espécies específicas (TAYLOR et al., 2013).

Aspergillus é um gênero considerado onipresente em ambientes ocupacionais e domésticos. Podem secretar numerosas micotoxinas no ambiente (KELLER et al., 2005). As micotoxinas são produzidas durante reações enzimáticas consecutivas através de vários produtos intermediários bioquimicamente simples do metabolismo primário de acetatos, mevalonatos e alguns aminoácidos. *Aspergillus* produz algumas das micotoxinas mais significativas conhecidas, incluindo aflatoxina, gliotoxina e ochratoxina A (PITT, 1994). A gliotoxina, metabólito secundário, tem atraído maior interesse em *A. fumigatus* por causa de suas potentes propriedades imunossupressoras e citocidas, e o fato de que pode ser facilmente detectada durante a infecção experimental e no soro de pacientes com aspergilose (MULLBACHER; EICHNER, 1984; LEWIS et al., 2005).

Esses fungos normalmente entram em um edifício através de sistemas de aquecimento, ar condicionado e ventilação, janelas, portas e como contaminantes em materiais de construção. Li et al., (1997), ressaltam que altos níveis de umidade prolongados em um edifício fornecem as condições necessárias para o crescimento e esporulação.

Existem várias diretrizes internacionais de QAI para fungos disponíveis, mas normalmente as diretrizes da Organização Mundial da Saúde são adotadas. Como as relações entre umidade, exposição microbiana e efeitos na saúde não podem ser quantificados com precisão, “nenhum valor ou limiar quantitativo baseado em saúde pode ser recomendado para níveis aceitáveis de contaminação com microrganismos” (WHO, 1983), recomenda-se que problemas relacionados à umidade e mofo sejam prevenidos e rapidamente remediados quando ocorrerem para reduzir o risco de exposição perigosa aos fungos e às substâncias químicas produzidas por eles (TAYLOR et al., 2013; BURGE, 1990).

Quando se trata do Brasil, há uma dificuldade em encontrar padrões de referências atuais e legislação voltadas para esse tema. Existem algumas diretrizes para instalação de sistemas de climatização. A Portaria nº 3.523, de 28 de agosto de 1998, do Ministério da Saúde, resolve:

Art. 1º – Aprovar 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. (BRASIL, 1998)

A Resolução ANVISA nº 09, de janeiro de 2003, determina a publicação de Orientação Técnica elaborada por Grupo Técnico Assessor, sobre Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior (fungos até 750 UFC/m³), em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo (BRASIL, 2003). E a Lei nº 13.589, de 4 de janeiro de 2018, que dispõe sobre a manutenção de instalações e equipamentos de sistemas de climatização de ambientes (BRASIL, 2018).

2.3.2 IMPACTO SOCIOECONÔMICO

Nas últimas décadas, muitos estudos mostraram associações entre a exposição interna ao mofo e problemas de saúde respiratória. Meta-análises e revisões sistemáticas forneceram evidências consistentes de relações entre exposição a mofo e asma (FISK et al., 2007), e a incidência e exacerbação de asma e rinite (CAILLAUD et al., 2018; KANCHONGKITTIPHON et al., 2015; MENDELL et al., 2011)

As consequências econômicas da síndrome do edifício doente relacionam-se à diminuição da produtividade resultante do ambiente de trabalho, dos custos da mão de obra, de prover um ambiente saudável e, principalmente, com a saúde humana (BURGE, 2004). Esses fatores variam muito em diferentes países e ambientes.

Nos Estados Unidos, o custo anual total para a sociedade atribuível à umidade e mofo é de 3,7 bilhões de dólares para rinite alérgica, 1,9 bilhão para bronquite aguda, 15,1 bilhões para morbidade por asma e 1,7 bilhão para mortalidade por asma (MURRADI, 2016). No Canadá, os custos diretos e indiretos com doenças respiratórias chegam a mais de 8 bilhões de dólares (LANTHIER-VEILLEUX et al., 2016).

Na Europa, o Comité Executivo do Parlamento Finlandês (2013) salientou que poderiam ser feitas poupanças muito substanciais dando prioridade à prevenção e remediação de ambientes doentes. Os custos de saúde para a sociedade relacionados a danos por umidade e exposição a mofo na Finlândia são estimados em 450 milhões de euros por ano, o que corresponde a 0,17 por cento do PIB do país em 2014, ao qual o custo contínuo de reabilitação de edifícios mal conservados (sistema de ventilação, reparação de danos causados pela água, etc.). Além disso, o custo anual para os municípios da reabilitação de bens públicos danificados por humidade e bolor é de 5 bilhões de euros. Na Suécia, o Conselho Nacional de Habitação, Construção e Planejamento (2010) estimou que o custo total de ter menos de 5% dos edifícios suecos com danos relacionados à umidade em 2020 seria entre 8 e 10 bilhões de euros.

No Brasil, de acordo com dados fornecidos pelo Sistema Único de Saúde (SUS), entre janeiro de 2017 e dezembro de 2019, ocorreram 260 mil internações em decorrência da asma (um número inferior comparado a internações por pneumonia, bronquite, enfisema e outras doenças pulmonares), somente em redes de saúde pública e complementar, custando 149,3 milhões de reais (NASCIMENTO, 2020).

2.4 REMEDIAÇÃO AMBIENTAL DE FUNGOS INTERIORES

Para minimizar o potencial de exposição a fungos interiores, é essencial remediar o espaço interno com contaminação fúngica visível. Chakravarty e Kovar (2013) afirmam que o processo de remediação envolve a remoção de material de construção visivelmente contaminado e o uso de um agente antifúngico para tratar superfícies, em conjunto com etapas para modificar o ambiente interno e evitar o crescimento futuro de fungos.

Um agente antifúngico pode ser um composto químico ou um organismo biológico, mas sua eficiência depende, essencialmente, da sua capacidade de inibir o crescimento presente e futuro de fungos. Para remover fungos de superfícies contaminadas é comum a utilização de solução de vinagre, solução de álcool e, principalmente, produtos de limpeza multiuso (KEMP; NEUMEISTER, 2015).

Contudo, fungicidas de origem “natural” estão recebendo cada vez mais atenção. Há um interesse crescente na eficácia de compostos como os óleos essenciais em aplicação ambiental. Além do uso agrícola (ROCHA-NETO et al., 2019; NASCIMENTO et al., 2016), já existem alguns estudos sobre seu uso na contaminação fúngica interna (DÍAZ-ALONSO et al., 2021; MISHRA et al., 2021).

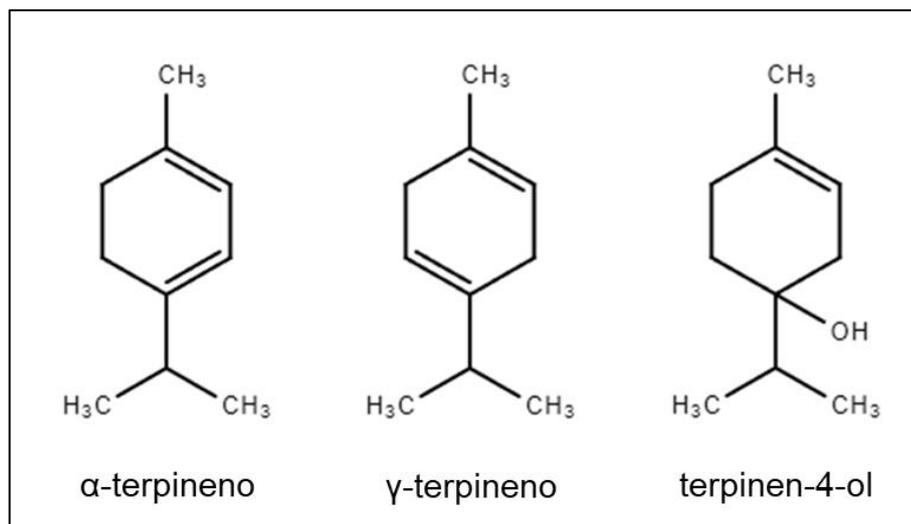
2.4.1 POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais (OEs) são misturas complexas de mais de 60 componentes bioativos diferentes isolados de plantas inteiras ou só de alguma parte, como galhos, folhas, cascas, frutas, sementes ou raízes (PADILLA-CAMBEROS et al., 2022). Com base em sua via metabólica, os componentes são classificados em monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides (aromáticos), podendo ser oxigenados ou não (BAKKALI et al., 2008).

Os OEs têm sido relatados como agentes antifúngicos potentes e de amplo espectro que podem ser considerados candidatos eficazes para complementar ou substituir fungicidas sintéticos e minimizar a contaminação por micotoxinas (BAKKALI et al., 2008; PRAKASH et al., 2015; ZHENG et al., 2019).

Entre os efeitos antifúngicos dos OEs descritos na literatura, alguns estabeleceram a eficácia bactericida e fungicida do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, planta da família *Myrtaceae* da Austrália (et al., 1989; EBANI et al., 2018). Muitos membros desta família são úteis economicamente para uso medicinal e comercial (LANG; BUCHBAUER, 2012). Estudos anteriores sobre os óleos essenciais de muitas *Myrtaceae* mostraram que essas plantas possuem uma ampla gama de atividades biológicas, notadamente seu potencial antimicrobiano associado aos seus principais componentes químicos α -terpineno, γ -terpineno e terpinen-4-ol (**Figura 13**) (NUZHAT; VIDYASAGAR, 2013).

Figura 13 – Estrutura química do α -terpineno, γ -terpineno e terpinen-4-ol.



Fonte: Autoria própria.

Os OEs de cravo e alecrim são conhecidos por possuírem propriedades antifúngicas *in vitro* contra várias espécies de fungos (ANGIONI et al., 2004; FU et al., 2007; OMIDBEYGI et al., 2007). Além disso, nas últimas décadas, um número significativo de pesticidas à base de OEs foi desenvolvido e já está disponível comercialmente em alguns países europeus e nos EUA (PRAKASH et al., 2015). Curiosamente, a maioria desses produtos inclui OEs de cravo e alecrim em sua composição.

Seixas, et al. (2011), relatam a redução do crescimento micelial *in vitro* do fungo *Fusarium subglutinans* pelo OE de capim-citronela (*Cymbopogon nardus*), uma planta originada do Sri Lanka e da Índia. Resultados semelhantes foram alcançados com óleo essencial de manjeriço (*Ocimum gratissimum*), que inibiram totalmente o crescimento dos fungos *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora* sp. e *Alternaria alternata* (Benini et al., 2010). Da mesma forma Diniz, et al. (2008), verificaram a ação fungicida do óleo de *Mentha arvensis* L., a hortelã-japonesa, no crescimento micelial dos fungos *Aspergillus* sp., *Penicillium rubrum* e *Fusarium moniliforme*.

O óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum*) também apresentou ação inibitória ao crescimento do fitopatógeno *Bipolaris sorokiniana*, em baixas concentrações, e para *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides* em concentrações maiores (Zacaroni et al., 2009). Silva e Bastos (2007) obtiveram resultados semelhantes contra os fungos *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora*

palmivora e *Phytophthora capsici*, indicando, portanto, boas perspectivas para uso desses óleos no controle dos fitopatógenos.

2.4.2 MECANISMO DE AÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

O mecanismo de toxicidade dos óleos essenciais em uma célula microbiana é fortalecido pelos tipos e componentes químicos presentes em cada óleo. Por exemplo, a presença de conteúdo fenólico em OEs apresenta maior especificidade para a inibição do crescimento microbiano com base em seu grupo hidroxila efetivo em estruturas químicas, que auxiliam na ruptura da estrutura da membrana plasmática e assim desorganizam a permeabilidade da membrana, interferindo na atividade da enzima do ciclo de Krebs. Por outro lado, os terpenóides em OEs afetam criticamente os ácidos graxos da membrana plasmática, levando à alteração na dinamicidade da membrana, permeabilidade e vazamento de constituintes citoplasmáticos (BOUYAHYA et al., 2019). No entanto, constituintes químicos semelhantes de OEs podem apresentar efeitos diferentes quando aplicados a outro microrganismo, dependendo da variabilidade da espessura da membrana, composição e atividades metabólicas celulares.

A eficácia antifúngica dos OEs depende da presença de diferentes constituintes bioativos, que interagem e apresentam efeitos sinérgicos, aditivos e complementares (SOKOVIĆ et al., 2010). Terpenóides, álcoois e terpenos fenólicos na forma oxigenada aumentam precisamente a atividade antifúngica dos OEs (BASSOLÉ; JULIANI, 2012).

2.4.2.1 EFEITO SOBRE O ERGOSTEROL DA MEMBRANA

A maioria das hipóteses sobre a atividade antifúngica dos OEs foi proposta devido à sua natureza hidrofóbica afetando a síntese de ergosterol na membrana plasmática de fungos (HYLDGAARD et al., 2012; DWIVEDY et al., 2016). O ergosterol é específico da membrana plasmática do fungo e responsável por manter a fluidez, viabilidade e integridade da membrana e útil para a biogênese de diferentes enzimas ligadas à membrana (PEREIRA et al., 2015). Além da desestabilização direta da

membrana plasmática, o efeito dos OEs no ergosterol da membrana é outro mecanismo vital de ação antifúngica.

Tian et al. (2012) estudaram a inibição dose-dependente da produção de ergosterol de membrana em *A. flavus* após aplicação do OE de *Anethum graveolens* e sugeriram a membrana plasmática como um local de ação chave do OE. Eles observaram que o decréscimo na produção de ergosterol estava relacionado à interferência na síntese da parede celular, o que afetaria ainda mais a morfologia celular do *A. flavus*. Vários OEs, como *Rosmarinus officinalis*, *Piper betle*, *M. cardiaca* e *Cistus ladanifer*, foram relatados com ação inibitória a síntese de ergosterol em células fúngicas (BASAK; GUHA, 2017; DWIVEDY et al., 2017; UPADHYAY et al., 2018; BOMFIM et al., 2020).

2.4.2.2 EFEITO NO VAZAMENTO DE ÍONS CELULARES

A desestabilização da membrana plasmática pelos OEs leva ao vazamento de íons celulares vitais, como K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} . Este desequilíbrio citoplasmático de íons vitais através da membrana plasmática causa alteração metabólica e eventual morte celular. O OE de pimenta dioica, por exemplo, pode causar a desorganização da membrana em *A. flavus*, facilitando a liberação de íons K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} em concentrações subletais e letais (CHAUDHARI et al., 2020). Kiran et al. (2016) relataram a atividade de ruptura da membrana celular do óleo de *C. zeylanicum* em *A. flavus*, também levando ao efluxo de íons K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} no meio extracelular.

2.4.2.3 EFEITO NO POTENCIAL DA MEMBRANA MITOCONDRIAL

Os OEs têm um efeito proeminente na permeabilidade e fluidez da membrana plasmática, danificando assim as estruturas proteicas da membrana. Eles podem interagir com organelas celulares, como mitocôndrias, ribossomos, retículo endoplasmático e complexo de Golgi, resultando em redução do potencial da membrana, desintegração da bomba de prótons e, ainda, inibição da enzima H^+ -ATPase, útil para o desenvolvimento de gradientes eletroquímicos e manter o pH celular através da membrana. Além disso, os OEs também afetam a succinato

desidrogenase e a malato desidrogenase nos processos respiratórios (BAKKALI et al., 2008; HU et al., 2017).

Nogueira, et al. (2010), observaram as alterações estruturais na membrana plasmática e no sistema endomembranoso mitocondrial em *A. flavus* após aplicação do OE de *Ageratum conyzoides*. Ju, et al. (2020), investigaram a eficácia sinérgica de eugenol e citral em *Penicillium roqueforti* e demonstraram um aumento significativo do seu potencial na membrana mitocondrial, que colapsou ainda mais as vias metabólicas celulares baseadas em energia. Além disso, distúrbios no potencial de membrana mitocondrial dificultam as vias de sinalização e etapas-chave para a apoptose celular.

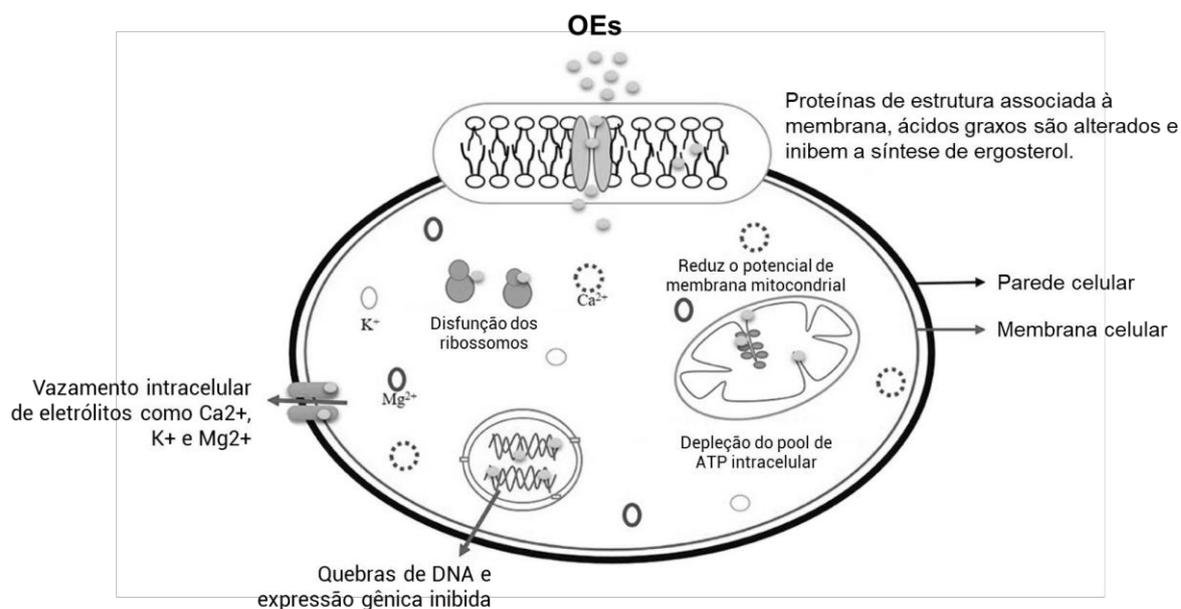
2.4.2.4 EFEITO NO DNA E NA EXPRESSÃO GÊNICA

Os ácidos nucleicos (DNA e RNA) desempenham um papel importante em atividades celulares vitais, como crescimento, desenvolvimento e processos metabólicos subsequentes por regulamentos de transcrição e tradução. Além disso, a expressão de materiais genéticos rege a síntese e o metabolismo das proteínas celulares (LAPPA et al., 2017). Portanto, o crescimento normal e a reprodução das células fúngicas são afetados após a aplicação de OEs, e seus componentes, por danificar o conteúdo nuclear (KHOURY et al., 2016). Zhou et al. (2018) investigaram as mudanças no perfil do transcriptoma de genes diferentemente expressos (GDEs) em *Penicillium expansum* por tratamento com decanal (componente de óleo essencial). O número de GDEs foi aumentado juntamente com a extensão da duração da aplicação com decanal devido ao acúmulo de componentes fungistáticos celulares. A regulação positiva de GDEs foi observada após aplicação a longo prazo de *P. expansum* com decanal que leva ainda à geração de moléculas de estresse celular que culminam na morte celular.

Hu, et al. (2021), demonstraram a atividade antifúngica do OE de *Perilla frutescens* contra *A. flavus* por análise do transcriptoma de GDEs envolvendo metabolismo de aminoácidos, permeabilidade de membrana, estresse oxidativo e desenvolvimento de esporos. Eles observaram a regulação negativa da expressão dos genes *brlA* e *vosA* após o tratamento com EO, suprimindo assim a germinação de conídios e a reprodução assexuada em *A. flavus*. Além disso, o OE também causou

desregulação de dois genes reguladores do ciclo celular diferentes *mih1* (sintetiza a proteína tirosina fosfatase que promove a entrada na fase M da mitose por reações de desfosforilação) e *nimE* (produz treonina/serina quinase para entrada na fase mitótica) e colapsou as vias reguladoras do ciclo celular, inibindo assim o crescimento e o metabolismo celular.

Figura 14 – Efeitos sobre o ergosterol da membrana celular, no vazamento de íons, no potencial da membrana mitocondrial e no DNA e expressão gênica.



Fonte: Adaptado de Maurya et al. (2021).

3. METODOLOGIA

3.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA E DO OBJETO DE ESTUDO

O Centro de Ciências de Balsas da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), localizado na MA-140, KM 04, foi o local onde se desenvolveram as atividades desse estudo. Os edifícios começaram a ser construídos em 2013, mas o campus só foi inaugurado 7 anos depois, devido a morosidade nos trabalhos e diversos problemas que surgiram na obra, como inundações, infiltrações e outras deficiências, o que tornaram os materiais de construção bons substratos para fungos.

Figura 15 – Imagem de satélite do Centro de Ciências de Balsas da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), localizando o edifício administrativo.



Fonte: Adaptado de Google Earth (2022).

Pouco tempo depois da inauguração do campus foi preciso suspender suas atividades como resposta à pandemia de Coronavírus (COVID-19), como previsto pela Lei nº 13.979, de 6 de fevereiro de 2020, que estabelece as medidas para enfrentamento da emergência de saúde pública de importância internacional (BRASIL, 2020).

A coleta de amostras de microrganismos presentes no ar interior foi realizada no edifício administrativo (**Figura 15**) durante 24 horas, devido ao período no qual

permaneceu fechado, sendo propício para o crescimento e proliferação de fungos em seus ambientes internos.

3.2 MATERIAIS

Em todas as etapas do estudo foi utilizado ágar dextrose Sabouraud (SDA, por sua sigla em inglês), da KASVI®, que é um meio usado para o isolamento, cultivo e manutenção de espécies não patogênicas e patogênicas de fungos e leveduras. O pH foi ajustado para aproximadamente 5,6 ($\pm 0,2$ a 25°C) para aumentar o crescimento de fungos, especialmente dermatófitos, e para inibir levemente o crescimento bacteriano nas amostras.

Já para os ensaios de inibição foram usados quatro agentes antifúngicos, o óleo essencial comercial de *Melaleuca alternifolia*, que foi extraído por destilação a vapor, solução de álcool 70%, solução de ácido acético 4% e um agente multiuso comercial.

3.3 METODOLOGIA DA PESQUISA

O presente estudo possui caráter quali-quantitativo. No primeiro momento foi realizado um levantamento das espécies fúngicas presentes no local de interesse. E, em seguida, com os dados obtidos nos ensaios de inibição, foi possível expressá-los de forma gráfica e comparativa.

3.4 PROCEDIMENTO METODOLÓGICO

3.4.1 AMOSTRAGEM

As amostras foram coletadas em placas SDA. Para o preparo do meio, suspendeu-se 22g do ágar dextrose Sabouraud em 330 mL de água destilada. A suspensão foi deixada em um agitador magnético com aquecimento, a 60°C, até sua completa dissolução. Em seguida foi autoclavado a 120°C por 15 min. O meio SDA foi distribuído em oito placas de Petri esterilizadas.

Após a solidificação do meio, as placas foram distribuídas aos pares em quatro cômodos diferentes do edifício administrativo, do CPBL/UFMA, e mantidas nesses ambientes por 24 horas. Passado esse período, as placas foram recolhidas e incubadas por 7 dias a 26°C.

3.4.2 IDENTIFICAÇÃO E INOCULAÇÃO DAS ESPÉCIES FÚNGICAS

Após 7 dias de incubação, as colônias fúngicas mais comuns, entre todas as placas, foram superficialmente levantadas com fita adesiva em lâminas de vidro e coradas com azul-de-metileno por 5 minutos antes da observação e identificação por microscopia óptica.

Para isolar as culturas, foram feitas raspagens das colônias identificadas, usando hastes flexíveis de algodão, e preparadas suspensões de esporos com 3 mL de uma solução de cloreto de sódio (a 0,9%). Cem microlitros de cada suspensão de esporos foram inoculadas em placas SDA. As placas foram embrulhadas em papel filme, incubadas a 26°C e observadas quanto ao crescimento dos fungos.

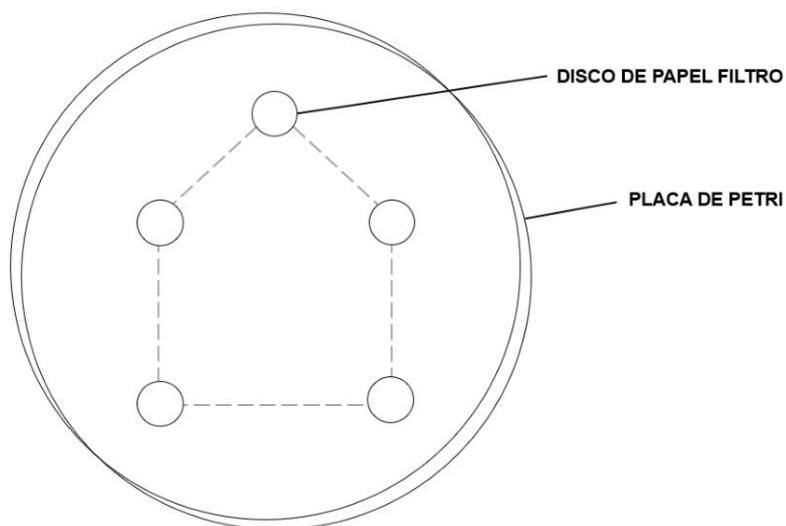
3.4.3 ENSAIOS DE INIBIÇÃO

O ensaio de difusão em disco de Ficker (2003) foi usado para avaliar o efeito inibitório de quatro agentes antifúngicos (óleo essencial comercial de melaleuca, álcool, ácido acético e um limpador multiuso) no crescimento do fungo interior.

Primeiramente foi preparada uma suspensão de esporos em 3 mL de cloreto de sódio (a 0,9%), como no **Item 3.4.2**, mas dessa vez fazendo a raspagem da colônia isolada do fungo. Em seguida, 100µL da suspensão de esporos foram espalhados na placa SDA e deixada secar à temperatura ambiente por 15 min (**Figura 17**).

Em cada teste usou-se 5 discos de papel filtro com 6 mm de diâmetro cada. Os discos foram embebidos com um agente e sobrepostos no meio após os 15 min de secagem, a distribuição foi feita como na **Figura 16**.

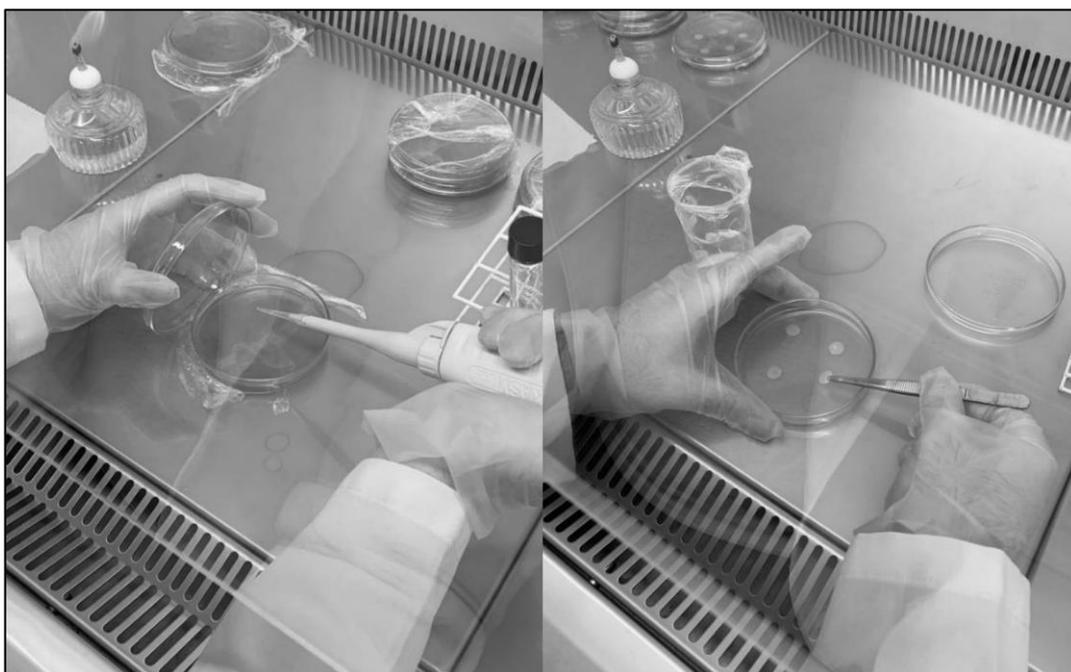
Figura 16 – Distribuição dos discos de papel filtro em forma de pentágono sobre o meio previamente inoculado pela suspensão de esporos.



Fonte: Autoria própria.

Uma solução com concentração a 88% de fenol foi usada como controle positivo e água destilada estéril foi usada como controle negativo. As placas foram seladas com papel filme e incubadas a 26°C por 3 dias antes da observação do crescimento de fungos e formação de zonas de inibição ao redor dos discos.

Figura 17 – O teste de inibição realizado em duas etapas, iniciou-se com a inoculação da suspensão de esporos e, em seguida, feita sobreposição dos discos de papel filtro com o agente antifúngico.



Fonte: Autoria própria.

O teste foi feito em triplicata para cada agente. Um agente foi considerado como tendo atividade antifúngica quando o diâmetro da zona de inibição era maior que 6,5 mm, ou seja, 0,5 mm maior que o diâmetro do disco de papel. É um valor que serve como referência, quanto maior a área da circunferência da zona inibida, maior a eficácia do agente antifúngico.

3.4.4 ANÁLISE DE DADOS

As comparações das zonas de inibição por agentes antifúngicos e controles foram realizadas através de *plotagem* gráfica e cálculo da área de inibição pelos *softwares* Excel e Python V.3. A sequência de algoritmos usada para a análise no Python V.3 é de autoria própria.

Para o tratamento das imagens capturadas das placas utilizou-se a biblioteca OpenCV. Os algoritmos a seguir foram usados na etapa de importação das imagens e remoção do plano de fundo, deixando somente as placas:

```
import cv2
import numpy as np
import os

def mask(img):
    gray = cv2.cvtColor(img, cv2.COLOR_BGR2GRAY)
    th, threshold = cv2.threshold(gray, 0, 255,
cv2.THRESH_BINARY_INV|cv2.THRESH_OTSU)
    contours = cv2.findContours(threshold, cv2.RETR_TREE,
cv2.CHAIN_APPROX_SIMPLE)[-2]
    contours = sorted(contours, key=cv2.contourArea)
    for contour in contours:
        if cv2.contourArea(contour) > 10000:
            break
    mask = np.zeros(img.shape[:2], np.uint8)
    cv2.drawContours(mask, [contour], -1, 255, -1)
    mask = cv2.bitwise_and(img, img, mask = mask)
    gray = cv2.cvtColor(mask, cv2.COLOR_BGR2GRAY)
    th, threshold = cv2.threshold(gray, 0, 255,
cv2.THRESH_BINARY+cv2.THRESH_OTSU)
    (y, x) = np.where(threshold == 255)
    (t_y, t_x) = (np.min(y), np.min(x))
    (b_y, b_x) = (np.max(y), np.max(x))
    cut = mask[(t_y-5):(b_y+5), (t_x-5):(b_x+5)]
    rename = "_CUT".join(os.path.splitext(data))
    cv2.imwrite(os.path.join('cortes/', rename), cut)

for data in os.listdir('testes/'):
    img = cv2.imread(os.path.join('testes/', data))
    mask(img)
```

Em seguida, para a binarização das imagens, processo no qual as cores da imagem são convertidas em preto e branco:

```
def binario(img):

    img = cv2.cvtColor(img, cv2.COLOR_BGR2GRAY)
    blur1 = cv2.GaussianBlur(img, (7, 7), 0)
    (T, bin) = cv2.threshold(blur1, 190, 255, cv2.THRESH_BINARY_INV)
    bin1 = cv2.bitwise_and(img, img, mask = bin)
    imgb1 = cv2.cvtColor(bin1, cv2.COLOR_BGR2GRAY)
    blur2 = cv2.GaussianBlur(imgb1, (7, 7), 0)
    (T, bin2) = cv2.threshold(blur2, 30, 255, cv2.THRESH_BINARY)

    rename = "_BIN".join(os.path.splitext(data))
    cv2.imwrite(os.path.join('bin/', rename), bin2)

for data in os.listdir('cortes/'):
    img = cv2.imread(os.path.join('cortes/', data))
    binario(img)
```

E por fim, para cálculo do percentual da cor branca, que se refere a área de inibição:

```
def inibido(img):

    branco = [255, 255, 255]
    diff = 0
    limites = ([[branco[2]-diff, branco[1]-diff, branco[0]-diff],
                [branco[2]+diff, branco[1]+diff, branco[0]+diff]])

    for (inferior, superior) in limites:
        inferior = np.array(inferior, dtype=np.uint8)
        superior = np.array(superior, dtype=np.uint8)
        mask = cv2.inRange(img, inferior, superior)
        resultado = cv2.bitwise_and(img, img, mask=mask)

        taxa_branco = cv2.countNonZero(mask)/(img.size/3)
        print('Porcentagem inibida: ', np.round(taxa_branco*100, 2))

        cv2.imshow("images", np.hstack([img, resultado]))
        cv2.waitKey(0)

for data in os.listdir('bin/'):
    img = cv2.imread(os.path.join('bin/', data))
    inibido(img)
```

Os resultados obtidos no Python V.3 foram exportados para o Excel, onde foi calculada a área de inibição e plotados os gráficos comparativos, tanto para as áreas quanto para os diâmetros de inibição medidos manualmente.

4. RESULTADOS

4.1 AMOSTRAGEM

As placas foram distribuídas em quatro salas, nomeadas aqui como S1, S2, S3 e S4, todas com sistema de ar-condicionado. Entretanto, ao longo de todo o edifício já é possível observar a presença do mofo preto, causado pelo fungo *Aspergillus niger* (Figura 18).

Figura 18 – Mofo preto observado no ambiente interno do edifício administrativo.

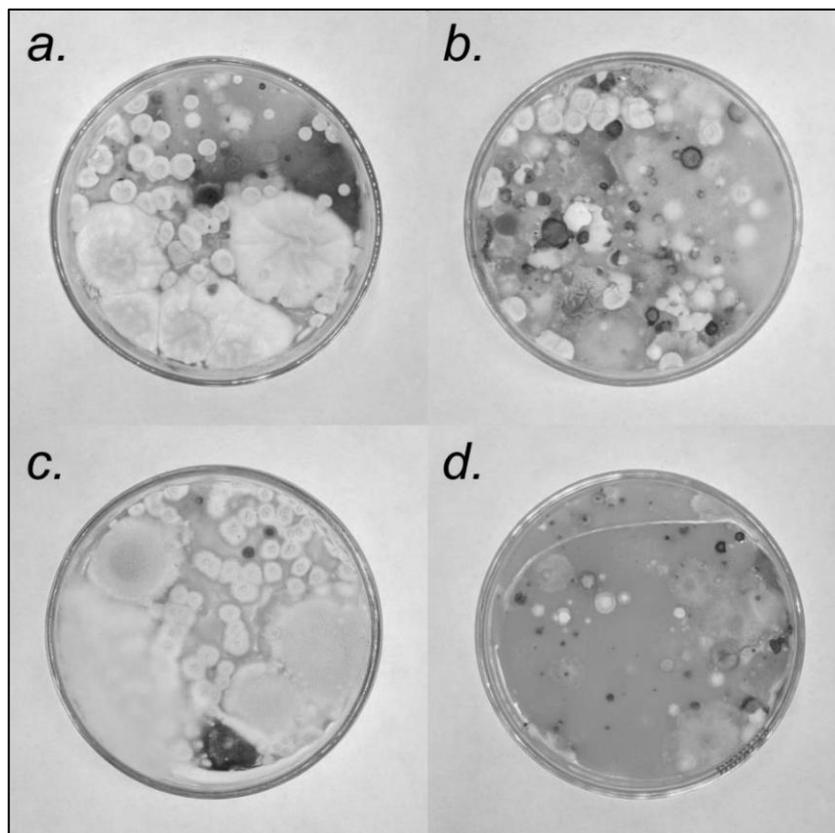


Fonte: Autoria própria.

Passadas as 24 horas de exposição ao ar interior desses ambientes e os 7 dias de incubação, as placas apresentaram um crescimento não só do *Aspergillus niger*, mas diversos outros gêneros de fungos, alguns identificados no **Item 4.2**. As placas

que apresentaram maior crescimento e diversidade de colônias foram as expostas nas salas S1, S3 e S4 (**Figura 19**).

Figura 19 – Crescimento dos fungos nas placas expostas em (a) S1, (b) S3, (c) S4, e (d) S2 com o menor crescimento.



Fonte: Autoria própria.

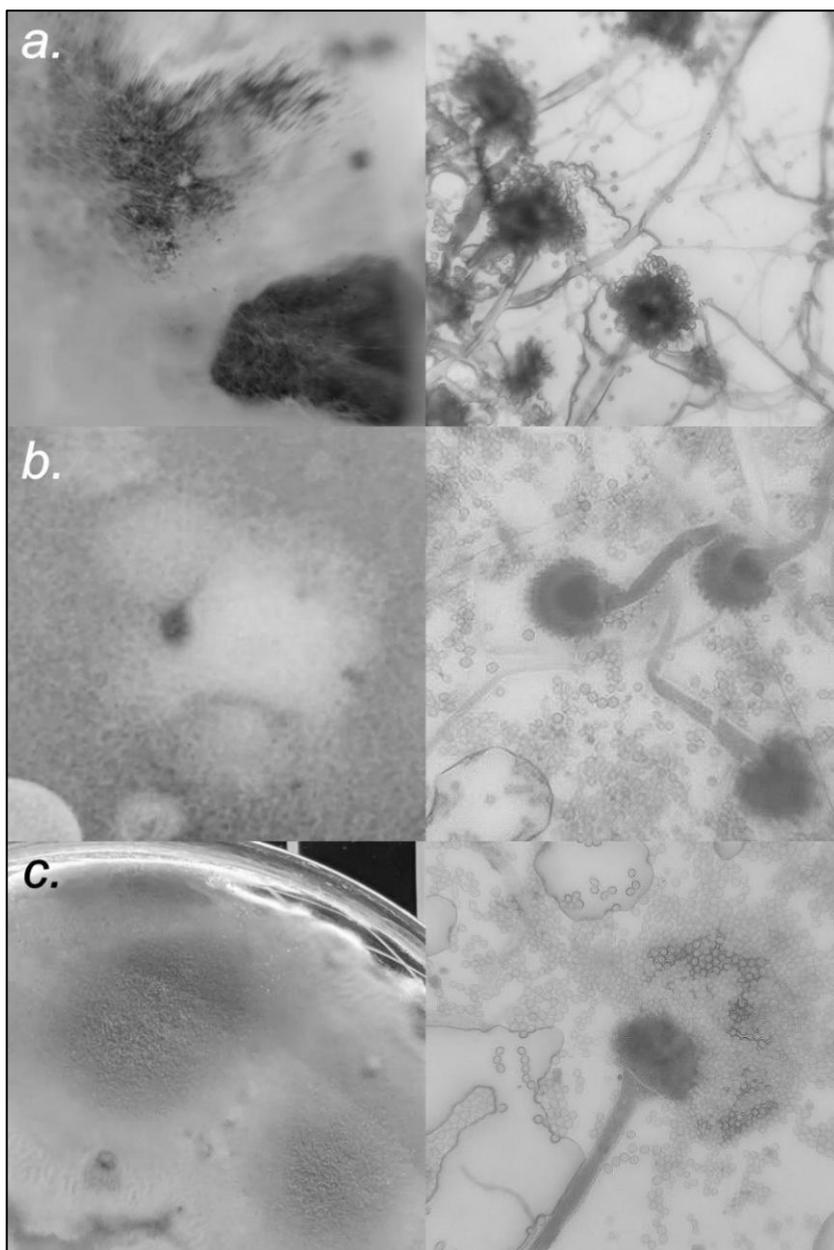
Além do *Aspergillus niger*, consequência das infiltrações no edifício, diversos outros fungos presentes nas placas são causadores de micoses sistêmicas oportunistas, cutâneas e subcutâneas. Essa quantidade elevada é também um indicador de baixa qualidade do ar e indício da síndrome do edifício doente.

4.2 IDENTIFICAÇÃO E INOCULAÇÃO DAS ESPÉCIES FÚNGICAS

Para a análise no microscópio óptico (utilizando objetivas de 10X e 40X), foram selecionadas as colônias que visivelmente eram mais comuns entre todas as placas. Os gêneros identificados com maior ocorrência foram *Aspergillus*, *Fusarium* e *Trichosporon*.

O gênero *Aspergillus*, comum em ambientes internos e responsável pela aspergilose e hialohifomicose (consultar **Itens 2.2.1.4 e 2.2.3.4**), estava presente em todas as placas. Foram identificadas pelo menos três espécies, o *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus terreus* (**Figura 20**).

Figura 20 – Visão macroscópica e microscópica (objetiva de 40X) dos fungos (a) *Aspergillus niger*, (b) *Aspergillus flavus* e (c) *Aspergillus terreus*.



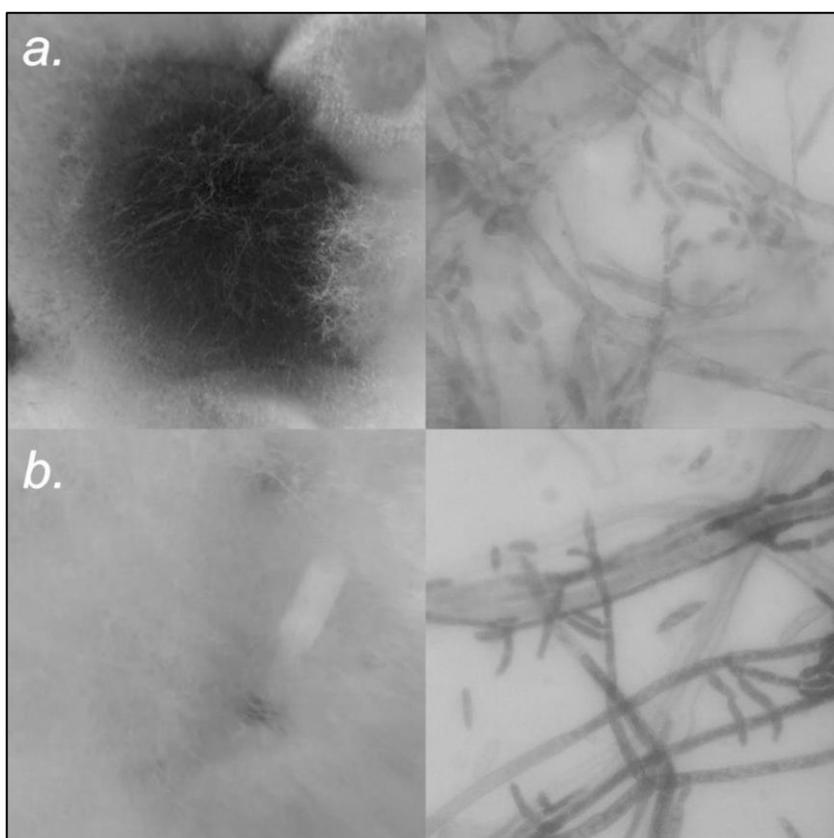
Fonte: Autoria própria.

A observação macroscópica do *A. niger* (**Figura 20.a**) revela que seu crescimento inicial é branco, com textura similar ao algodão, mas muda para preto após alguns dias produzindo esporos conidiais; microscopicamente, os conidióforos

são saliências de hifas septadas e hialinas, e as cabeças dos conídios são radiais, que é uma característica comum entre as espécies desse gênero (MOKOBI, 2021). O *A. flavus* também produziram colônias brancas e veludas, mas que se tornam verde-amareladas (**Figura 20.b**), um pigmento dos esporos dos conídios. E o *A. terreus* produziram colônias marrom-amareladas (**Figura 20.c**).

Já o gênero *Fusarium*, que costuma ocorrer no solo e vegetações, responsável pela fusariose e também hialohifomicose, estava presente em todas as placas, contudo, em menor quantidade e crescimento. Foram identificadas duas espécies, o *Fusarium oxysporum* e *Fusarium proliferatum* (**Figura 21**).

Figura 21 – Visão macroscópica e microscópica (objetiva de 40X) dos fungos (a) *Fusarium oxysporum* e (b) *Fusarium proliferatum*.



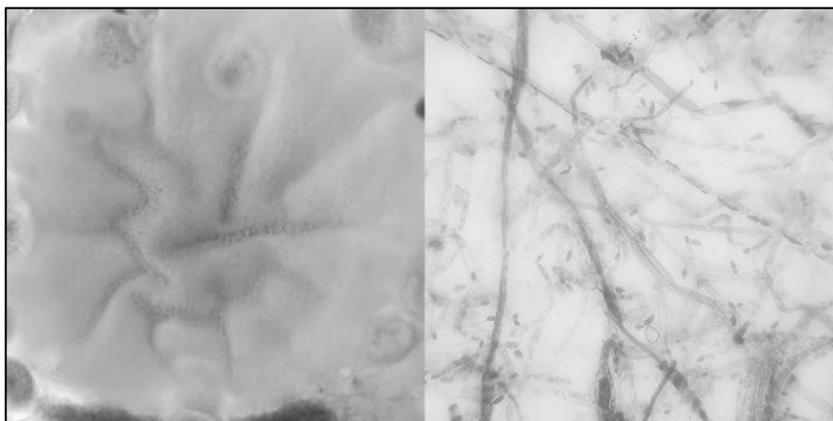
Fonte: Autoria própria.

As colônias do gênero *Fusarium* formaram micélios aéreos cotonosos de coloração roxa (*Fusarium oxysporum*, **Figura 21.a**) e branca-rosada (*Fusarium proliferatum*, **Figura 21.b**). Microscopicamente, foi possível observar os macroconídios hialinos, septados, fusiformes ou com típico aspecto “em forma de

foice”, característico do gênero, muitas vezes com célula apical alongada e célula basal pedicelada (APARECIDO; ROSA, 2019).

Por último, o gênero *Trichosporon*, grupo responsável por causar micoses superficiais (consultar **Item 2.2.2**), estava bastante presente nas amostras da sala S1. A única espécie identificada foi o *Trichosporon asahii* (**Figura 22**).

Figura 22 – Visão macroscópica e microscópica (objetiva de 10X) do fungo *Trichosporon asahii*.



Fonte: Autoria própria.

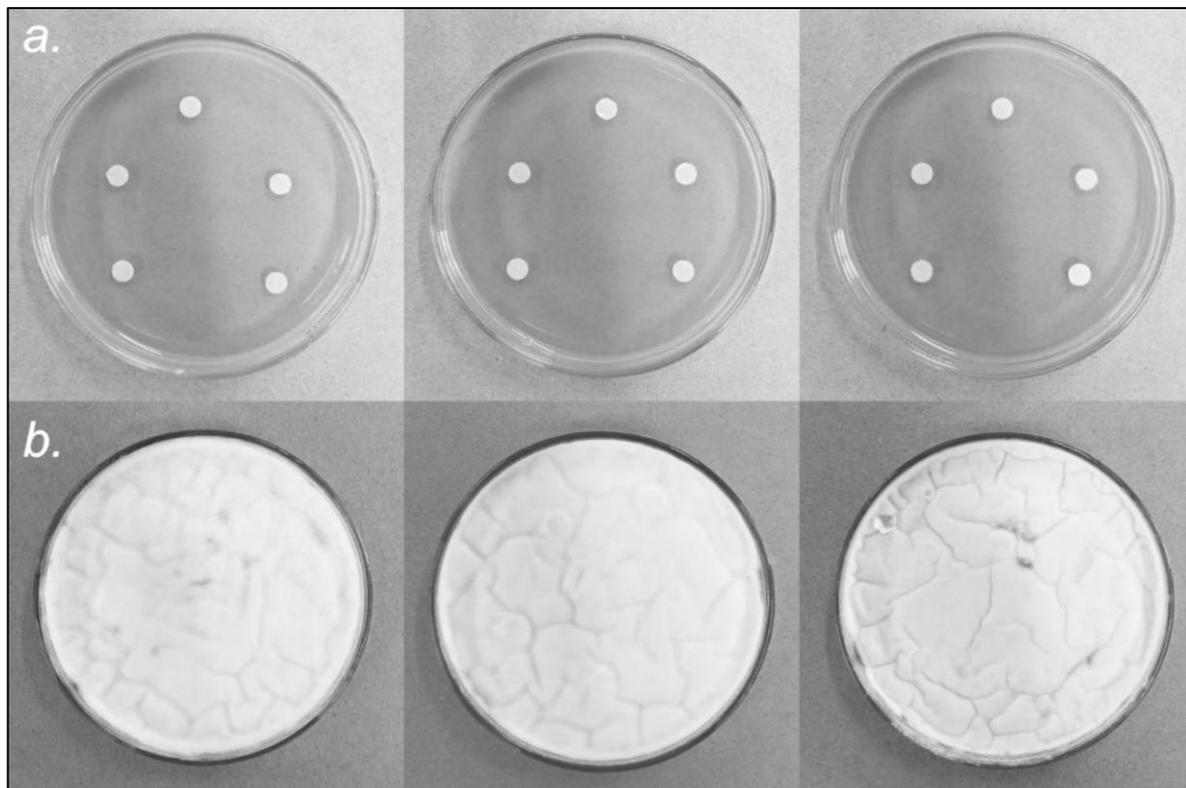
As características macromorfológicas encontradas no *T. asahii* incluem textura veludosa, topografia rugosa, aspecto seco e opaco, e coloração amarela e branca. Microscopicamente, havia a presença de blastoconídios, hifas e pseudo-hifas (SANTOS; SILVA, 2011).

O gênero selecionado para os ensaios de inibição foi o *Aspergillus*, considerado onipresente em ambientes ocupacionais e domésticos. Além da sua provável ligação com as infiltrações sofridas pelo edifício, seu crescimento é visível em muitas salas e corredores, e podem secretar numerosas micotoxinas no ambiente (KELLER et al., 2005).

4.3 ENSAIOS DE INIBIÇÃO

Os testes com os controles positivo e negativo tiveram resultados esperados. Nas placas com fenol não houve crescimento fúngico (**Figura 23.a**), em contrapartida, nas placas com água destilada, a inibição foi imperceptível (**Figura 23.b**).

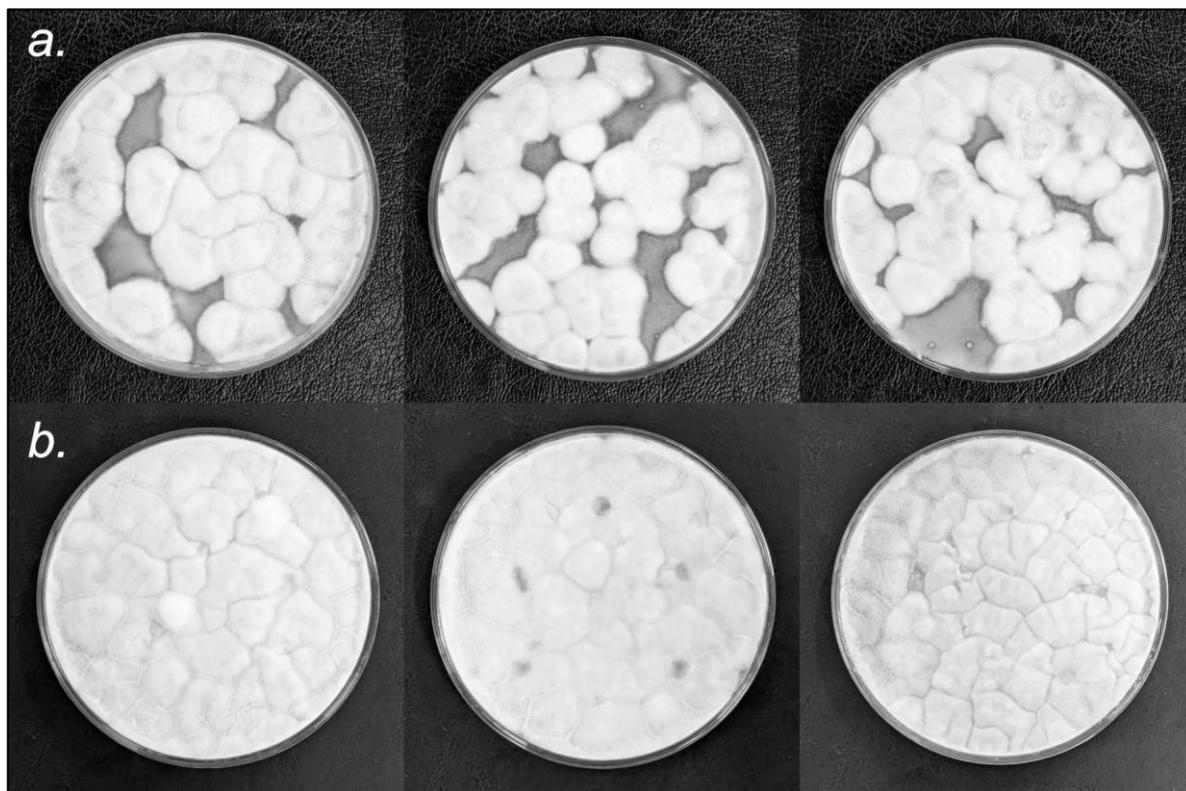
Figura 23 – Resultados para os testes realizados com o (a) controle positivo (88% de fenol) e (b) controle negativo (água destilada).



Fonte: Autoria própria.

Nos testes com álcool, na concentração de 70%, as culturas cresceram sobre os discos, impossibilitando sua identificação no meio (**Figura 24.a**). Dessa forma, os discos com álcool, em contato direto, não possuem efeito inibitório considerável. E o ácido acético, a 4%, tampouco teve efeito inibitório no crescimento fúngico (**Figura 24.b**).

Figura 24 – Resultados para os testes realizados com (a) 70% de álcool, e (b) 4% de ácido acético.



Fonte: Autoria própria.

Já o agente multiuso comercial apresentou efeito inibitório, criando uma zona de inibição média de 9,8 mm de diâmetro (**Figura 25**). Mas tendo em vista o propósito antimicrobiano do produto, seu potencial de inibição contra um gênero comum de fungo interior é limitado.

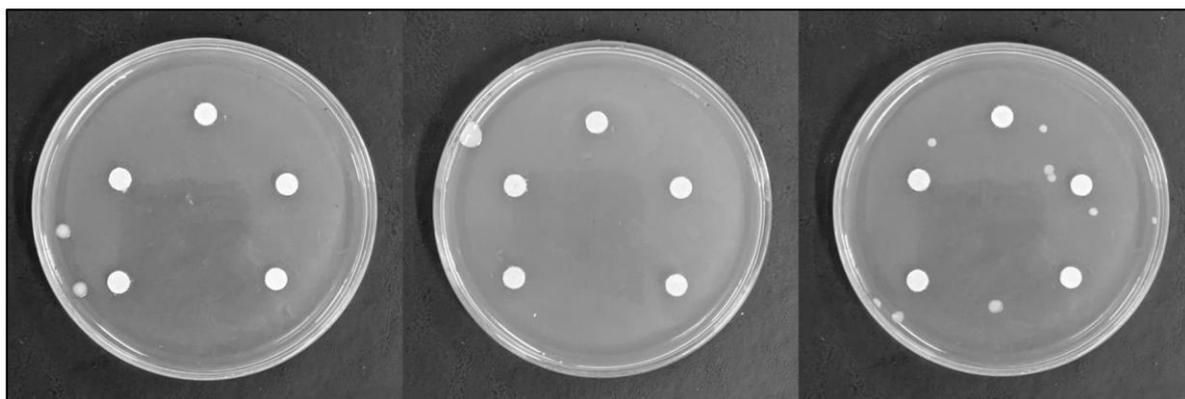
Figura 25 – Resultados para os testes realizados com o limpador multiuso.



Fonte: Autoria própria.

Em contra partida, os discos com o óleo essencial comercial de *Melaleuca alternifolia* em contato direto mostrou ter o maior efeito inibitório sobre o crescimento fúngico após o período de incubação (**Figura 26**), em comparação com os outros agentes testados. O diâmetro médio da zona de inibição foi de 40,2 mm, significativamente maior do que os demais e comparável aos resultados do fenol.

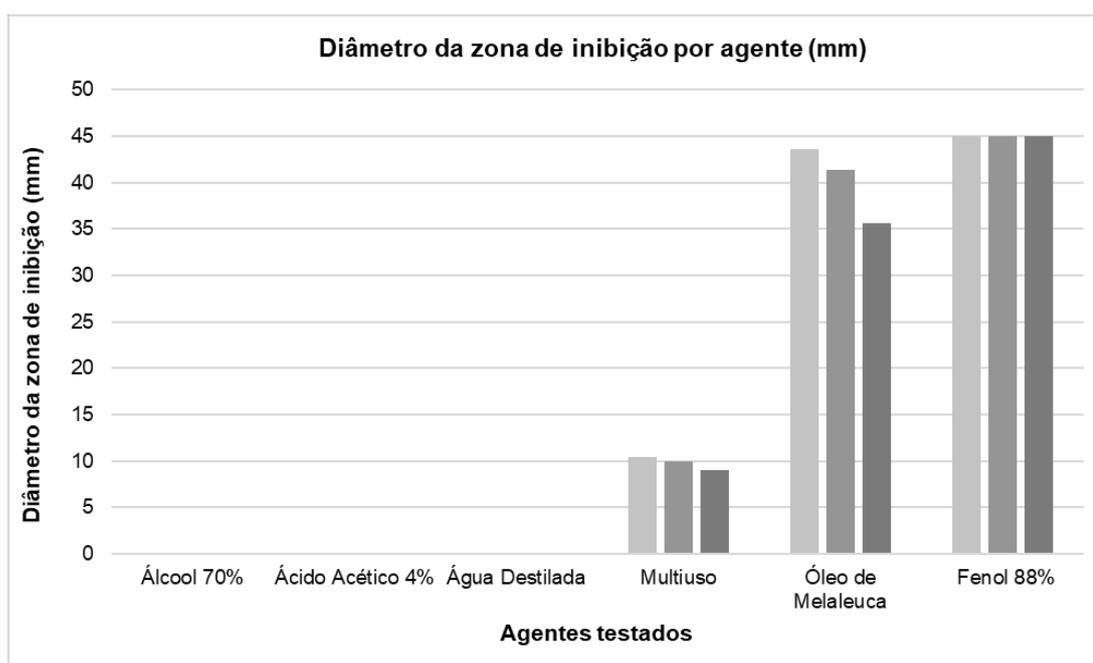
Figura 26 – Resultados para os testes realizados com o óleo de melaleuca, próximos aos obtidos no controle positivo da **Figura 22.a**.



Fonte: Autoria própria.

No gráfico da **Figura 27** está a comparação entre os diâmetros das zonas de inibição do crescimento das colônias de *Aspergillus* com os agentes antifúngicos e os controles.

Figura 27 – Comparação entre os diâmetros das zonas de inibição nos testes realizado com cada agente antifúngico.

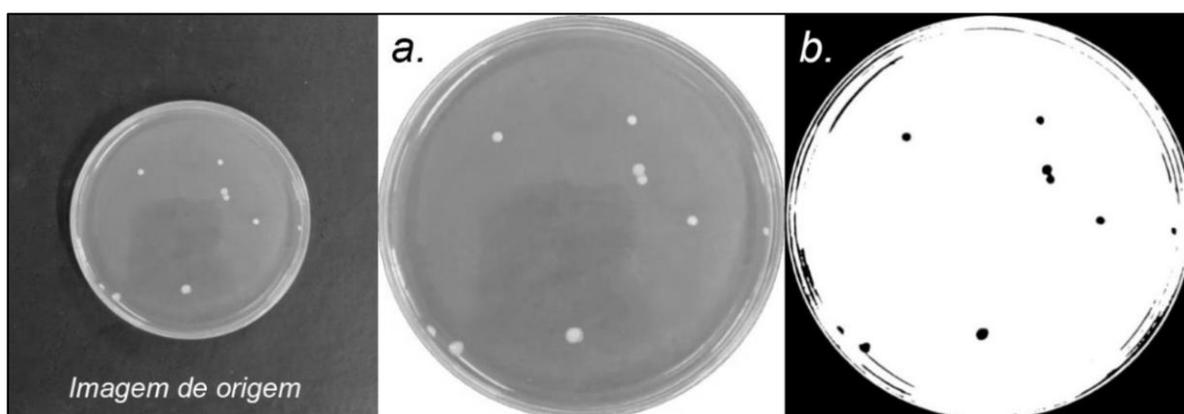


Fonte: Autoria própria.

Como as zonas de inibição não eram exatamente circulares, o que ocasiona em alguns erros de medição e uma baixa precisão, a aplicação da biblioteca OpenCV, do Python, visou solucionar esse problema e trouxe maior acurácia ao calcular a porcentagem da área em que o crescimento fúngico foi inibido.

No tratamento prévio das imagens, o programa foi capaz de contornar o objeto de interesse (a placa) na imagem e remover o plano de fundo (**Figura 28.a**). Em seguida, realizou a binarização, ou seja, converteu as cores para preto e branco com base no contraste da imagem e no limiar determinado no código, como visto na **Figura 28.b**. Por fim, o programa calculou a porcentagem de pixels brancos na imagem binarizada.

Figura 28 – Tratamento de imagem realizado usando a biblioteca OpenCV, em (a) o objeto de interesse foi isolado da imagem de origem e em (b) a imagem binarizada para calcular a porcentagem da área na cor branca.

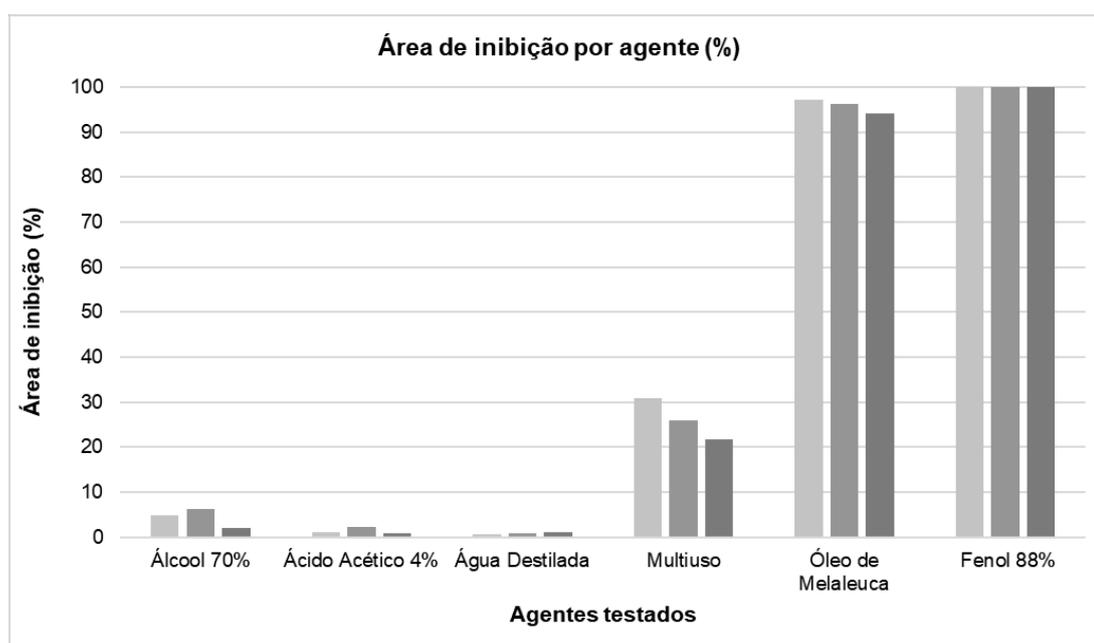


Fonte: Autoria própria.

Os dados obtidos para os testes T1, T2 e T3 em cada agente estão dispostos na **Tabela 1** e expressos no gráfico da **Figura 29**. Para não interferir nos resultados, os discos que permaneceram visíveis após o período de incubação foram removidos. Além disso, a área correspondente a borda da placa, aproximadamente 4,2% da área branca calculada, foi desconsiderada.

Tabela 1 – Área inibida e a porcentagem de inibição obtidas através dos algoritmos.

Agente	Área inibida (cm ²)			Inibição (%)		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3
Álcool 70%	2,82	3,74	1,14	4,77	6,32	1,94
Ácido Acético 40%	0,67	1,32	0,47	1,14	2,24	0,79
Água destilada	0,40	0,46	0,70	0,68	0,79	1,18
Agente multiuso comercial	18,30	15,35	12,85	30,95	25,96	21,73
Óleo de Melaleuca	57,41	56,94	55,65	97,09	96,28	94,11
Fenol 88%	59,13	59,13	59,13	100	100	100

Figura 29 – Comparação entre o potencial de inibição (%) do controle positivo (fenol), controle negativo (água destilada) e cada agente antifúngico testado.

Fonte: Autoria própria.

Embora o álcool 70%, o ácido acético 4% e água destilada apresentem algum percentual de inibição, o mesmo não deve ser considerado, porque são zonas de inibição quase imperceptíveis, que se formaram sem motivo aparente e afastadas dos discos com esses agentes.

Além de serem um indicador de baixa qualidade do ar, a presença das espécies identificadas, principalmente do gênero *Aspergillus*, nos espaços internos do edifício oferece risco a saúde e bem estar dos seus ocupantes, que passam parte substancial do seu horário de trabalho expostos a elas. As infecções fúngicas oferecem um risco ainda maior para quem já está acometido por outras doenças, pois podem ser oportunistas em situações de imunossupressão, ou seja, quando se já tem alguma doença pulmonar, está sob tratamento com antibióticos ou com o sistema imunológico debilitado (CURBELO et al., 2015).

O álcool 70% é um agente recomendado e amplamente utilizado pelos serviços de saúde devido ao seu potencial germicida (GRAZIANO et al., 2013). Mas, no estudo atual, foi considerado completamente ineficaz contra o crescimento de um gênero comum de fungo interior. Outro agente relatado como desinfetante micobactericida, segundo Cortesia *et al.* (2014), é o vinagre. No entanto, esse estudo demonstra que o vinagre (ácido acético 4%) foi tão ineficaz quando o álcool.

O agente comercial multiuso pode ser considerado um desinfetante de baixo nível, pois apresentou um efeito temporário contra o crescimento fúngico, sendo incapaz de agir nos esporos em estado vegetativo. O seu princípio ativo é o cloreto de benzalcônio (0,3%), um composto com propriedades antimicrobianas de amplo espectro, mas com eficácia limitada a bactérias gram-positivas (FAZLARA; EKHTLAT, 2012). Basaran (2011) apresenta um estudo sobre a utilização do cloreto de benzalcônio contra o crescimento fúngico de *Aspergillus niger* em concentrações de 0,5-1%, maiores que a concentração encontrada no agente comercial multiuso, e mesmo assim os diâmetros de inibição são comparáveis aos que foram encontrados nesse estudo.

O óleo essencial comercial de *Melaleuca alternifolia*, em contato direto, foi o mais eficaz na inibição do crescimento de fungos do gênero *Aspergillus* entre todos os agentes avaliados, sendo capaz de neutralizar os esporos vegetativos. Seus principais componentes químicos são α -terpineno, γ -terpineno e terpinen-4-ol. Jesus et al. (2007) afirmam que quanto maior for o teor de terpinen-4-ol, melhor será a ação antimicrobiana. No geral, terpenóides, álcoois e terpenos fenólicos na forma oxigenada aumentam precisamente a atividade antifúngica dos óleos (BASSOLÉ e JULIANI, 2012). Andrade et al. (2019) relataram a melhor eficácia antifúngica dos constituintes fenólicos devido à desintegração da permeabilidade da membrana, que

é um mecanismo de ação associado ao óleo de melaleuca já visto na literatura (COX et al., 2000). Isso o configura como um agente com grande potencial para aplicação industrial na remediação de contaminação fúngica em edifícios residenciais e ocupacionais.

5. CONCLUSÃO

O esforço investigativo empregado no desenvolvimento deste Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) sobre o uso potencial do óleo de melaleuca para remediação ambiental de fungos interiores permitiu constatar a ineficiência das soluções de álcool 70% e ácido acético 4%, e a limitação do agente multiuso comercial na remediação de fungos interiores. Por outro lado, o óleo essencial comercial de melaleuca foi o agente antifúngico mais eficaz, com resultados comparáveis ao controle positivo, podendo ter aplicação difundida para a remediação de ambientes internos, ocupacionais e domésticos, com contaminação fúngica.

Através do uso da biblioteca OpenCV, do Python, foi possível tratar as imagens capturadas das placas e trazer maior precisão aos dados calculando a porcentagem das áreas em que o crescimento fúngico foi inibido pelos agentes utilizados, por meio da contagem de pixels brancos nas imagens binarizadas. Com a versatilidade do Python, ainda é possível aprimorar essa técnica, podendo realizar capturas e obter os dados em tempo real. Além das aplicações de *machine learning* para identificação de espécies fúngicas em curto espaço de tempo.

Outras perspectivas para o futuro desse trabalho é ampliar os testes, realizá-los com uma diversidade maior de agentes comerciais e óleos essenciais, com diferentes tipos de aplicação, como a emulsão do óleo em uma ampla faixa de concentrações. Também se faz necessário realizar a testagem em mais espécies fúngicas comuns de ambientes internos.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, J.C.; SILVA, A.R.P.; FREITAS, M.A.; RAMOS, B.A.; FREITAS, T.S.; SANTOS, F.A.G.; et al. Control of bacterial and fungal biofilms by natural products of *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae). **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 65, p. 226-233, 2019. ISSN 0147-9571. DOI <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.06.006>.

APARECIDO, C.C.; ROSA, E.C. Avaliação morfológica e molecular para identificação de *Fusarium sp.* **Biológico**, v. 81, p. 1-7, 2019. DOI <https://doi.org/10.31368/1980-6221v81a10014>.

AQIL, N.; BAYBAY, N.; MOUSTAIDE, K.; DOUHI, Z.; et al. A prospective study of tinea capitis in children: making the diagnosis easier with a dermoscope. **J Med Case Reports**, v. 12, p. 383, 2018.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; AND IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils—a review. **Food Chem. Toxicol.**, v. 46, p. 446–475, 2008. DOI <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–475, 2008. DOI <https://doi.org/10.1016/J.FCT.2007.09.106>.

BASAK, S., AND GUHA, P. Use of predictive model to describe sporicidal and cell viability efficacy of betel leaf (*Piper betle* L.) essential oil on *Aspergillus flavus* and *Penicillium expansum* and its antifungal activity in raw apple juice. **LWT**, v. 80, p. 510–516, 2017. DOI <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.024>.

BASARAN, P. Inhibition effect of belzalkonium chloride treatment on growth of common food contaminating fungal species. **J Food Sci Technol.**, v. 48, n. 4, p. 515-519, 23 fev. 2011. DOI <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0268-5>.

BASSOLÉ, I. H.; JULIANI, H. R. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. **Molecules**, v. 17, n. 4, p. 3989–4006, 2 abr. 2012. DOI <https://doi.org/10.3390/molecules17043989>.

BATALHA, P.; MARQUES, S.; BRITTO, J.; MOURA, C.; CAMARGO, R. Paracoccidioidomycosis simulating a soft tissue tumor. **Int J Dermatol.**, v. 53, p. 319-320, 2014.

BAYALA, B.; BASSOLE, I. H. N.; GNOULA, C.; NEBIE, R.; YONLI, A.; MOREL, L.; SIMPORE, J. Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative activities of essential oils of plants from Burkina Faso. **PLoS one**, v. 9, n. 3, p. 92122, 2014.

BENINI, P.C. et al. Efeito in vitro do óleo essencial e extrato aquoso em *Ocimum gratissimum* colhido nas quatro estações do ano sobre fitopatógenos. **Arquivos Instituto Biológico**, v.77, n.4, p.677-83, 2010.

BOLLÉE, G.; SARFATI, C.; THIÉRY, G.; BERGERON, A.; DE MIRANDA, S.; MENOTTI J, et al. Clinical picture of *Pneumocystis jiroveci* pneumonia in cancer patients. **Chest**, v. 132, p. 1305–10, 2007.

BOMFIM, N.; KOHIYAMA, C. Y.; NAKASUGI, L. P.; NERILO, S. B.; MOSSINI, S. A. G.; ROMOLI, J. C. Z., et al. Antifungal and antiaflatoxic activity of rosemary essential oil (*Rosmarinus officinalis* L.) against *Aspergillus flavus*. **Food Additi. Contam.**, v. 37, p. 153–161, 2020. DOI <https://doi.org/10.1080/19440049.2019.1678771>.

BONIFAZ, A.; SÁNCHEZ, A.T. Cutaneous Disseminated and Extracutaneous Sporotrichosis: Current Status of a Complex Disease. **Journal of Fungi**, v. 3, n. 1, 10 fev. 2015. DOI <https://doi.org/10.3390/jof3010006>.

BONIFAZ, A.; VÁZQUEZ-GONZÁLEZ, D.; PERUSQUÍA-ORTIZ, A.M. Endemic systemic mycoses: Coccidioidomycosis, histoplasmosis, paracoccidioidomycosis and blastomycosis. **J Dtsch Dermatol Ges.**, v. 9, p. 705-714, 2011.

BORDOLOI, P.; NATH, R.; BORGOHAIN, M., *et al.* Subcutaneous mycoses: An aetiological study of 15 cases in a tertiary care hospital at Dibrugarh, Assam, Northeast India. **Mycopathologia**, v. 179, p. 425-435, 2015.

BOUYAHYA, A.; ABRINI, J.; DAKKA, N.; BAKRI, Y. Essential oils of *Origanum compactum* increase membrane permeability, disturb cell membrane integrity, and suppress quorum-sensing phenotype in bacteria. **J. Pharma. Anal.**, v. 9, p. 301–311, 2019. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2019.03.001>.

BRASIL. Lei nº 13.589, de 4 de janeiro de 2018. Institui o Código Civil. **Diário Oficial da União**: Brasília, DF.

BRASIL. Lei nº 13.979, de 6 de fevereiro de 2020. Institui o Código Civil. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 7 fev. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 3.523, de 28 de agosto de 1998. Institui o Código Civil. **Diário Oficial da União**: Brasília, DF.

BRASIL. Ministério da Saúde. RE nº 9, de 16 de janeiro de 2003. Institui o Código Civil. **Diário Oficial da União**: Brasília, DF.

BROOKS, G.F.; CARROLL, K.C.; BUTEL, J.S.; MORSE, S.A.; MIETZNER, T.A. **Microbiologia Médica**. 26. ed. Porto Alegre: AMGH, 2014. 874 p. ISBN 978-85-8055-335-2.

BROPHY, J.J.; DAVIES, N.W.; SOUTHWELL, I.A. et al. Gas chromatographic quality control for oil of *Melaleuca terpinen-4-ol* type (Australian tea tree). **J. Agric. Food. Chem.**, v. 37, ed. 5, p. 1330-1335, 1 set. 1989. DOI <https://doi.org/10.1021/jf00089a027>.

BURGE, H. Bioaerosols: Prevalence and health effects in the indoor environment. **Journal of allergy and clinical immunology**, v. 86, n. 5, p. 687–701, 1990.

BURGE, P.S. Sick building syndrome. **Occupational and environmental medicine**, v. 61, n. 2, p. 185-190, 2004.

BUTT, S. Blastomycosis presenting as an isolated progressive painless verrucous skin lesion. **Clin Case Rep.**, v. 8: p. 778– 779, 2020.

CAILLAUD, D.; LEYNAERT, B.; KEIRSBULCK, M.; NADIF, R. Indoor mould exposure, asthma and rhinitis: findings from systematic reviews and recent longitudinal studies. **European Respiratory Review**, v. 27, 2018.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.F.; BEVILAQUA, C.M.L.; MORAIS, S.M. et al. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. **Veterinary Parasitology**, v. 148, ed. 3, p. 288-294, 30 set. 2007. DOI <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.06.012>.

CARRASCO-ZUBER, J.E; NAVARRETE-DECHENT, C.; BONIFAZ, A.; et al. Cutaneous involvement in the Deep Mycoses. **Actas Dermo-Sifiliográficas**, v. 107, p. 816-822, 2016. ISSN 1578-2190. DOI <https://doi.org/10.1016/j.adengl.2016.05.027>.

CARSON, C. F.; HAMMER, K. A.; RILEY, T. V. Melaleuca alternifolia (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, n. 1, p. 50-62, 2006.

CARVALHAES, J. **Micologia Médica**. Rio de Janeiro: J. Carvalhaes de Oliveira, 1999. 255 p. ISBN 85-900986-1-3.

CASTILLO, C.G; KAUFFMAN, C.A.; MICELI, M.H. Blastomycosis. **Infect Dis Clin North Am**, v. 30, p. 247-264, 2016. DOI <https://doi.org/10.1016/j.idc.2015.10.002>.

CERÓN, I.; RABAGLIATI, R.; LANGHAUS, J.; SILVA, F.; GUZMÁN, AM.; LAGOS, M. Características clínicas, diagnósticas y pronósticas de pacientes con neumonía por *Pneumocystis jiroveci* en individuos infectados por virus de inmunodeficiencia humana e individuos inmunocomprometidos por otra etiología. **Rev Chilena Infectol.**, v. 31, p. 417–24, 2014.

CHADE, M.; MERELES, B.; MEDVEDEFF, M.; VEDOYA, M. Micosis subcutánea postraumática por *Fusarium solani*. **Rev Iberoam Micol**, v. 20, p. 29-30, 2003.

CHAKRAVARTY, P.; KOVAR, B. Evaluation of five antifungal agents used in remediation practices against six common indoor fungal species. **Journal of occupational and environmental hygiene**, v. 10, n. 1, p. 11–16, 2013.

CHANG, P.; RODAS, C. Skin lesions in histoplasmosis. **Clin Dermatol.**, v. 30, p. 592-598, 2012.

CHAUDHARI, A. K.; SINGH, V. K.; DAS, S.; PRASAD, J.; DWIVEDY, A. K.; et al. Improvement of in vitro and in situ antifungal, AFB1 inhibitory and antioxidant activity of *Origanum majorana* L. essential oil through nanoemulsion and recommending as novel food preservative. **Food Chem. Toxicol.**, v. 143, 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111536>.

CLEAN AIR SOCIETY OF AUSTRALIA AND NEW ZEALAND (CASANZ). **Summary of Indoor Air Quality in Australia: A Strategy for Action**. CASANZ: Sydney, Austrália, 2002.

CONTRUCCI, B. A.; SILVA, R.; JUNIOR, R. A.; KOZUSNY-ANDREANI, D. I. Efeito de óleos essenciais sobre bactérias gram-negativas isoladas de alimentos. **Ensaio em Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 23, n. 3, p. 180-184, 2019.

COOLEY, J.D.; WONG, W.C.; JUMPER, C.A.; STRAUS, D.C. Correlation between the prevalence of certain fungi and sick building syndrome. **Occupational and environmental medicine**, v. 55, n. 9, p. 579-584, 1998.

CORTESIA, C.; VILCHÈZE, C.; BERNUT, A.; CONTRERAS, W.; GÓMEZ, K.; WAARD, J.; JACOBS-JUNIOR, W.R.; KREMER, L.; TAKIFF, H. Acetic Acid, the Active Component of Vinegar, Is an Effective Tuberculocidal Disinfectant. *mBio*, v. 5, n. 2, 1 mai. 2014. DOI <https://doi.org/10.1128/mBio.00013-14>.

CRIADO, P.R.; DELGADO, L.; PEREIRA, G.A. Dermoscopy revealing a case of Tinea Nigra. **An Bras Dermatol.**, v. 88, p. 128-129, 2013.

CURBELO, J.; GALVÁN, J.M.; ASPA, J. Updates on Aspergillus, Pneumocystis and Other Opportunistic Pulmonary Mycoses. **Archivos de Bronconeumología**, v. 51, p. 647-653, 2015. ISSN 1579-2129. DOI <https://doi.org/10.1016/j.arbr.2015.09.012>.

DHARMAGE, S.; BAILEY, M.; RAVEN, J.; ABEYAWICKRAMA, K.; CAO, D.; GUEST, D.; ROLLAND, J.; FORBES, A.; THIEN, F.; ABRAMSON, M.; et al. Mouldy houses influence symptoms of asthma among atopic individuals. **Clinical and experimental allergy**, v. 32, n. 5, p. 714–720, 2002.

DIAS, N.M.; OLIVEIRA, M.M.; SANTOS, M.; ZANCOPE-OLIVEIRA, R.N.; LIMA, N. Sporotrichosis caused by Sporothrix Mexicana. **Portugal Emerg Infect Dis**, v. 17, p. 1975-1976, 2011.

DÍAZ-ALONSO, J.; BERNARDOS, A.; REGIDOR-ROS, J.L.; et al. Innovative use of essential oil cold diffusion system for improving air quality on indoor cultural heritage spaces. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 162, 2021.

DWIVEDY, A. K.; KUMAR, M.; UPADHYAY, N.; PRAKASH, B.; DUBEY, N.K. Plant essential oils against food borne fungi and mycotoxins. **Curr. Opin. Food Sci.**, v. 11, p. 16–21, 2016. DOI <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.08.010>.

DWIVEDY, A. K.; PRAKASH, B.; CHANOTIYA, C. S.; BISHT, D.; DUBEY, N. K. Chemically characterized Mentha cardiaca L. essential oil as plantbased preservative in view of efficacy against biodeteriorating fungi of dry fruits, aflatoxin secretion, lipid peroxidation and safety profile assessment. **Food Chem. Toxicol.**, v. 106, p. 175–184, 2017. DOI <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.05.043>.

DYLEWSKI, J. Acute pulmonary histoplasmosis. **CMAJ**, v. 183, 2011.

EBANI, V.V.; NAJAR, B.; BERTELLONI, F. et al. Chemical Composition and In Vitro Antimicrobial Efficacy of Sixteen Essential Oils against Escherichia coli and Aspergillus

fumigatus Isolated from Poultry. **Veterinary Sciences**, v. 5, ed. 3, 25 jun. 2018. DOI <https://doi.org/10.3390/vetsci5030062>.

EDRIS, A.E. Pharmaceutical and therapeutic Potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy Research**, v. 21, ed. 4, p. 308-323, 2 jan. 2007. DOI <https://doi.org/10.1002/ptr.2072>.

FAWAY, E.; LAMBERT, C.; DIAZ, P.; MIGNON, B.; POUMAY, Y.. Infection by dermatophytes of reconstructed human epidermis is impaired via inhibition of fungal growth. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 139, 2019. ISSN 0022-202X. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jid.2019.07.384>.

FAZLARA, A.; EKHTELAT, M. The Disinfectant Effects of Benzalkonium Chloride on Some Important Foodborne Pathogens. **American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.**, v. 12, n. 1, p. 23-29, 2012. ISSN 1818-6769.

FICKER, C.E.; AMASON, J.T.; VINDAS, L.P.; AKPAGANA, K.; GBEASSOR, M.; SOUZA, C.D.; SMITH, M.L. Inhibition of human pathogenic fungi by ethnobotanically selected plant extracts. **Mycoses**, v. 46, p. 29–37, 2003.

FILLATRE, P.; DECAUX, O.; JOUINEAU, S.; REVEST, M.; GACOUIN, A.; ROBERT-GANGNEUX, F, et al. Incidence of Pneumocystis jiroveci pneumonia among groups at risk in HIV negative patients. **Am J Med**, v. 127, p. 11–17, 2014.

FISK, W.J.; LEI-GOMEZ, Q.; MENDELL, M.J. Meta-analyses of the associations of respiratory health effects with dampness and mold in homes. **Indoor Air**, v. 17, p. 284-296, 2007.

FONTENELLE, R.O.S.; MORAIS, S.M.; BRITO, E.H.S. et al. Antifungal activity of essential oils of Croton species from the Brazilian Caatinga biome. **Journal of Applied Microbiology**, v. 104, p. 1383-1390, 14 out. 2007. DOI <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03707.x>.

FORTÚN, J.; MEIJE, Y.; FRESCO, G.; MORENO, S. Aspergilosis: formas clínicas y tratamiento. **Enferm Infecc Microbiol Clin**, v. 30, p. 201–8, 2012.

FRAMIL, V.M.S.; MELHEM, M.S.C.; SZESZS, M.W. et al. Pitiríase versicolor circinada: isolamento de Malassezia sympodialis - Relato de caso. **An Bras Dermatol.**, v. 85 p. 227-8, 2010.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 186 p. ISBN 978-8573791211.

FUNG, F.; HUGHSON, W.G. Health effects of indoor fungal bio aerosol exposure. **Applied occupational and environmental hygiene**, v. 18, n. 7, p. 535-544, 2003.

GARNACHO-MONTERO, J.; OLAECHEA, P.; ALVAREZ-LERMA, F.; ALVAREZ-ROCHA, L.; BLANQUER, J.; GALVÁN, B, et al. Epidemiology, diagnosis and treatment of fungal respiratory infections in the critically ill patient. **Rev Esp Quimioter**, v. 26, p. 173–88, 2013

GHAFFARIANHOSEINI, A., et al. Sick building syndrome: are we doing enough?. **Architectural Science Review**, v. 61, p. 99-121, 2018.

GONÇALVES JR, A. C. Descontaminação e monitoramento de águas e solos na região amazônica utilizando materiais adsorventes alternativos, visando remoção de metais pesados tóxicos e pesticidas. **Inclusão Social**, v. 6, n. 2, 2013.

GRAZIANO, M.U.; GRAZIANO, K.U.; PINTO, F.M.G.; BRUNA; C.Q.M.; LASCALA, C.A. Effectiveness of disinfection with alcohol 70% (w/v) of contaminated surfaces not previously cleaned. **Rev. Latino-Am. Enfermagem**, v. 21, n. 2, p. 618-623, mar. 2013. DOI <https://doi.org/10.1590/S0104-11692013000200020>.

GROSSMAN, M.; FOX, L.; KOVARIK, C.; ROSENBAACH, M. Hyalohyphomycosis – Cutaneous manifestations of infections in the immunocompromised host. **Springer**, New York, p. 65-88, 2012.

HAYASHI, S, et al. Pulmonary Colonization by *Chrysosporium zonatum* Associated with Allergic Inflammation in an Immunocompetent Subject. **Journal of clinical microbiology**, v. 40, 2002.

HU, Y.; ZHANG, J.; KONG, W.; ZHAO, G.; YANG, M. Mechanisms of antifungal and anti-aflatoxigenic properties of essential oil derived from turmeric (*Curcuma longa* L.) on *Aspergillus flavus*. **Food Chem.**, v. 220, p. 1–8, 2017. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.179>.

HU, Z.; YUAN, K.; ZHOU, Q.; LU, C.; DU, L.; LIU, F. Mechanism of antifungal activity of *Perilla frutescens* essential oil against *Aspergillus flavus* by transcriptomic analysis. **Food Control**, v. 123, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107703>.

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R.L. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Front. Microbiol.**, v. 3, n. 12, 2012. DOI <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00012>.

JACOBS, D. E. Environmental health disparities in housing. **American Journal of Public Health**, v. 101, 2011.

JESUS, E. R.; ELLEN SOHN, R. M.; BARIN, C. S. Óleo essencial de *Melaleuca Alternifolia*: otimização do método analítico. **UNOPAR Cient., Ciênc. Exatas. Tecnol.**, Londrina, v. 6, p. 67-72, nov. 2007.

JU, J.; XIE, Y.; YU, H.; GUO, Y.; CHENG, Y.; ZHANG, R.; et al. Major components in Lilac and *Litsea cubeba* essential oils kill *Penicillium roqueforti* through mitochondrial apoptosis pathway. **Indus. Crops Prod.**, v. 149, 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112349>.

KALI R. IYER, NICOLE ROBBINS, LEAH E. COWEN. The role of *Candida albicans* stress response pathways in antifungal tolerance and resistance. **iScience**, v. 25, n. 3, 2022. ISSN 2589-0042. DOI <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.103953>.

KANCHONGKITTIPHON, W.; MENDELL, M.J; GAFFIN, J.M.; et al. Indoor Environmental Exposures and Exacerbation of Asthma: An Update to the 2000 Review

by the Institute of Medicine. **Environmental Health Perspectives**, v. 123, p. 6-20, 2015.

KAUR, I.; JAKHAR, D.; SINGAL, A. Dermoscopy in the Evaluation of Pityriasis Versicolor: A Cross Sectional Study. **Indian Dermatol Online J.**, v. 10, p. 682-685, 2019.

KELLER, NP; TURNER, G; BENNETT, JW. Fungal secondary metabolism-from biochemistry to genomics. **Nat Rev Microbiol.**, v. 3, p. 937–47, 2005.

KEMP, P.; NEUMEISTER, K.H. **Australian Mould Guidelines**. Disponível em: < http://inspectapedia.com/sickhouse/Australian_Mold_Guideline-2005.pdf >. Acesso em 20 de junho de 2022.

KHOURY, R.; ATOUI, A.; VERHEECKE, C.; MAROUN, R.; EL KHOURY, A.; MATHIEU, F. Essential oils modulate gene expression and ochratoxin A production in *Aspergillus carbonarius*. **Toxins**, v. 8, 2016. DOI <https://doi.org/10.3390/toxins8080242>.

KHUDOR, M.H.; ABBAS, B.A.; ALKHURSAN, R.N. **Poultry Feed Fungi – A Practical Guide Polutry Feed Fungi**. 2021. ISBN 978-99-2221-001-8.

KIRAN, S.; KUJUR, A.; PRAKASH, B. Assessment of preservative potential of *Cinnamomum zeylanicum* Blume essential oil against food borne molds, aflatoxin B1 synthesis, its functional properties and mode of action. **Innov. Food Sci. Emerg. Technol.**, v. 37, p. 184–191, 2016. DOI <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.08.018>.

KLEPEIS, N.; NELSON, W.; OTT, W. The National Human Activity Pattern Survey (NHAPS): a resource for assessing exposure to environmental pollutants. **Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology**, v. 11, p. 231-252, 6 jul. 2001. DOI <https://doi.org/10.1038/sj.jea.7500165>.

KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. *Neotropical Biology and Conservation*, v. 5, n. 2, 2010.

KONDO, R.N., et al. Case for diagnosis – Work performed at the Dermatology Service, of North Paraná Regional University, Londrina State University (HURNP-UEL) - Londrina, PR, Brazil . **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 89, n. 1, p. 169-170, 2014.

KOSMIDIS, C.; DENNING, DW. The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. **Thorax**, v. 70, p. 270–7, 2015.

KOVACS, JA.; HIEMENZ, JW.; MACHER, AM.; STOVER, D.; MURRAY, HW.; SHELHAMER, J, et al. *Pneumocystis carinii* pneumonia: a comparison between patients with the acquired immunodeficiency syndrome and patients with other immunodeficiencies. **Ann Intern Med.**, v. 100, p. 663–71, 1984.

LANG, G.; BUCHBAUER, G. A Review on Recent Research Results on Essential Oils as Antimicrobials and Anti-Fungals. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 27, p. 13-19, 2012.

LANTHIER-VEILLEUX, M. G. *et al.* Prevalence of Residential Dampness and Mold Exposure in a University Student Population. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 13, p. 194, 2016. DOI 10.3390/ijerph13020194.

LAPPA, I. K.; SIMINI, E.; NYCHAS, G. J. E.; PANAGOUE, E. Z. In vitro evaluation of essential oils against *Aspergillus carbonarius* isolates and their effects on Ochratoxin A related gene expression in synthetic grape medium. **Food Control**, v. 73, p. 71–80, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.08.016>.

LEDFORD, D.K.; LOCKEY, R.F. Building- and home-related complaints and illnesses: “sick building syndrome”. **J Allergy Clin Immunol**, v. 94, p. 275-276, 1994.

LEWIS, RE; WIEDERHOLD, NP; CHI, J; HAN, XY; KOMANDURI, KV; KONTOYIANNIS, DP, *et al.* Detection of gliotoxin in experimental and human aspergillosis. **Infect Immun.**, v. 73, p. 635–7, 2005.

LI, C.S.; HSU, C.W.; TAI, M.L. Indoor pollution and sick building syndrome symptoms among workers in day-care centers. **Archives of environmental health**, v. 53, n. 3, p. 200–207, 1997.

LOCKEY, J.E.; ROSS, C.S. Radon and man-made vitreous fibers. **J Allergy Clin Immunol**, v. 94, p. 310-317, 1994.

LYON, GM.; ZURITA, S.; CASQUERO, J., *et al.* Population-based surveillance and a case-control study of risk factors for endemic lymphocutaneous sporotrichosis in Peru. **Clin Infect Dis**, v. 36, p. 34-39, 2003.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; BENDER, K.S.; BUCKLEY, D.H.; STAHL, D.A. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. ISBN 978-85-8271-298-6.

MAHAJAN, G. **Hortaea werneckii**. Alchetron, 2022. Disponível em: < <https://alchetron.com/Hortaea-werneckii> >. Acesso em 14 de julho de 2022.

MANDRAS, N.; ROANA, J.; CERVETTI, O. *et al.* A case report of tinea capitis in infant in first year of life. **BMC Pediatr**, v. 19, 2019.

MARQUES, S.A. Paracoccidioidomycosis. **Clin Dermatol.**, v. 30, p. 610-615, 2012.

MARTÍNEZ-LAMAS, L.; ÁLVAREZ, M.; LLOVO, J., *et al.* Phaeohyphomycosis caused by *Cladophialophora bantiana*. **Rev Iberoam Micol**, v. 31, p. 203-206, 2014.

MARTY, A.J.; WÜTHRICH, M.; CARMEN, J.C.; SULLIVAN, T.; KLEIN, B.S.; CUOMO, C.A.; GAUTHIER, G.M. Isolation of *Blastomyces dermatitidis* yeast from lung tissue during murine infection for in vivo transcriptional profiling. **Fungal Genetics and Biology**, v. 56, p. 1-8, 3 mar. 2013. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.fgb.2013.03.001>.

MAURYA, A.; PRASAD, J.; DAS, S.; DWIVEDY, A.K. Essential Oils and Their Application in Food Safety. **Front. Sustain. Food Syst.**, 20 mai. 2021. DOI <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.653420>.

MCBRIDE, J.A.; GAUTHIER, G.M.; KLEIN, B.S. Clinical manifestations and treatment of blastomycosis. **Clin Chest Med**, v. 38, p. 435-449, 2017. DOI 10.1016/j.ccm.2017.04.006.

MEHRAD, B.; PACIOCCO, G.; MARTINEZ, F.J.; OJO, T.C.; IANNETTONI, M.D.; LYNCH, J.P. Spectrum of *Aspergillus* infection in lung transplant recipients: case series and review of the literature. **Chest**, v. 119, p. 169–75, 2001.

MENDELL, M.J.; MIRER, A.G.; CHEUNG, K.; et al. Douwes, Respiratory and Allergic Health Effects of Dampness, Mold, and Dampness-Related Agents: A Review of the Epidemiologic Evidence. **Environmental Health Perspectives**, v. 119, p. 748-756, 2011.

MENDES, G.V. **Paracoccidioidomicose - Relevância do diagnóstico precoce**. Monografia (Especialização em Microbiologia Aplicada às Ciências da Saúde) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, p. 38, 2015.

MICHAELS, B.D.; DEL-ROSSO, J.Q. Tinea capitis in infants: recognition, evaluation, and management suggestions. **J Clin Aesthetic Dermatol.**, v. 5, p. 49-59, 2012.

MISHRA, D.; YADAV, R.; SINGH, R.P., et al. The incorporation of lemongrass oil into chitosan-nanocellulose composite for bioaerosol reduction in indoor air. **Environmental Pollution**, v. 285, 2021.

MOKOBI, F. ***Aspergillus niger* - An Overview**. Microbre Notes, 2021. Disponível em: < <https://microbenotes.com/aspergillus-niger/> >. Acesso em 10 de julho de 2022.

MORAES, R.G.; LEITE, I.C.; GOULART, E.G. **Parasitologia e Micologia Humana**. 5. ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica: Guanabara Koogan, 2008. 609 p. ISBN 978-85-7006-414-1.

MORRIS, A.; WEI, K.; AFSHAR, K.; HUANG, L. Epidemiology and clinical significance of pneumocystis colonization. **J Infect Dis**, v. 197, p. 10–7, 2008.

MULLBACHER, A; EICHNER, RD. Immunosuppression in vitro by a metabolite of a human pathogenic fungus. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.81, p. 3835–7, 1984.

MURRADI, D.H. Valuing the Economic Costs of Allergic Rhinitis, Acute Bronchitis, and Asthma from Exposure to Indoor Dampness and Mold in the US. **Journal of environmental and public health**, 2016.

MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K.S.; PFALLER, M.A. **Microbiologia Médica**. 7. ed. Elsevier, 2014. 888 p. ISBN 978-8535271065.

NASCIMENTO, D. M.; VIEIRA, G. H. C.; KRONKA, A. Z. Inibição do crescimento micelial de *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 3, n. 4, p. 65-68, 2016.

NASCIMENTO, E.C. **Revisão sistemática e metanálise sobre associação entre exposição ao mofo e umidade na habitação e asma: estimativa do impacto econômico para a sociedade brasileira**. 2020.

NAVARRETE-DECHENT, C.; ORTEGA, R.; FICH, F.; CONCHA, M. Dermatologic manifestations associated with HIV/AIDS. **Rev Chilena Infectol.**, v. 32, p. 57-71, 2015.

NEGRONI, R. Cryptococcosis. **Clin Dermatol.**, v. 30, p. 599-609, 2012.

NISHIYAMA, Y. *Malassezia sympodialis*. diArk, 2015. Disponível em: < https://www.diark.org/diark/species_list/Malassezia_sympodialis_ATCC_96806 >. Acesso em 14 de julho de 2022.

NOGUEIRA, J. H.; GONÇALEZ, E.; GALLETI, S. R.; FACANALI, R.; MARQUES, M. O.; FELÍCIO, J. D. Ageratum conyzoides essential oil as aflatoxin suppressor of *Aspergillus flavus*. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 137, p. 55–60, 2010. DOI <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.10.017>.

NUZHAT, T.; VIDYASAGAR, G. M. Antifungal investigations on plant essential oils. A review. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.5, n.2, p.19-28, 2013.

OGAWA, M.; REIS, V.; GODOY, P.; GATTI DE MENEZES, F., et al. Feohifomicosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* y *Alternaria* infectoria en un paciente trasplantado renal. **Rev Chilena Infectol**, v. 31, p. 468-472, 2014.

OLIVEIRA, M.M.; ALMEIDA-PAES, R.; GUTIERREZ-GALHARDO, M.C. ZANCOPE-OLIVEIRA, R.M. Molecular identification of the *Sporothrix schenckii* complex. **Rev Iberoam Micol**, v. 31, p. 2-6, 2014.

PADILLA-CAMBEROS, E.; SANCHEZ-HERNANDEZ, I.M.; TORRES-GONZALEZ, O.R. et al. Natural essential oil mix of sweet orange peel, cumin, and allspice elicits anti-inflammatory activity and pharmacological safety similar to non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, ed. 5, p. 3830-3837, 1 maio 2022. DOI <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.03.002>.

PARLAMENTO FINLANDÊS. Relatório do Comitê de Auditoria Finlandês, 2013.

PATTERSON, K.; STREK, ME. Diagnosis and treatment of pulmonary aspergillosis syndromes. **Chest**, v. 146, p. 1358–68, 2014.

PEREIRA, F. D. O.; MENDES, J. M.; LIMA, I. O.; MOTA, K. S. D. L.; OLIVEIRA, W. A. D.; LIMA, E. D. O. Antifungal activity of geraniol and citronellol, two monoterpenes alcohols, against *Trichophyton rubrum* involves inhibition of ergosterol biosynthesis. **Pharm. Biol.**, v. 53, p. 228–234, 2015. DOI <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.913299>.

PEREZ, M.; BITAR, H.; VALENZUELA, D.; RODRIGUEZ, D. Histoplasmosis pulmonar: presentación de un caso. **Rev Chil Enfermedades Respir.**, v. 28, p. 150-152, 2012.

PERUSQUÍA-ORTIZ, A.M.; VÁZQUEZ-GONZÁLEZ, D.; BONIFAZ, A. Opportunistic filamentous mycoses: Aspergillosis, mucormycosis, phaeohyphomycosis and hyalohyphomycosis. **J Dtsch Dermatol Ges**, v. 10, p. 611-621, 2012.

PINDYCKA-PIASZCZYŃSKA, M.; KRZYŚCIAK, P.; PIASZCZYŃSKI, M., *et al.* Chromoblastomycosis as an endemic disease in temperate Europe: First confirmed case and review of the literature. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 33, p. 391-398, 2014.

PITT, JI. The current role of *Aspergillus* and *Penicillium* in human and animal health. **J Med Vet Mycol**, v. 32, p. 17-23, 1994.

PRAKASH, B.; KEDIA, A.; MISHRA, P. K.; & DUBEY, N. K. Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities - potentials and challenges. **Food Control**, v. 47, p. 381-391, 2015. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.023>.

QUEIROZ-TELLES, F. *et al.* Chromoblastomycosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 30, 2016.

R. MARIMON, R.; CANO, J.; GENÉ, J.; SUTTON, M.A., *et al.* *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. **J Clin Microbiol**, v. 45, p. 3198-3206, 2007.

RAMOS-E-SILVA, M.; LIMA, C.M.; SCHECHTMAN, R.M., *et al.* Systemic mycoses in immunodepressed patients (AIDS). **Clin Dermatol**, v. 30, p. 616-627, 2012.

RECIO, R.; PEREZ-AYALA, A. *Cryptococcus neoformans* Meningoencephalitis. **The New England Journal of Medicine**, v. 379, n. 3, p. 281-281, 19 jul. 2018. DOI <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMicm1801051>.

REDDY, G.K.K.; PADMAVATHI, A.R.; NANCHARAI, Y.V. Fungal infections: Pathogenesis, antifungals and alternate treatment approaches. **Current Research in Microbial Sciences**, v. 3, 2022. ISSN 2666-5174. DOI <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2022.100137>.

RENATI, S.; CUKRAS, A.; BIGBY, M. Pityriasis versicolor. **BMJ**, v. 350, 2015.

RIOS, ME; SUAREZ, J; MORENO, J, *et al.* Zoonotic Sporotrichosis Related to Cat Contact: First Case Report from Panama in Central America. **Cureus**, v. 10, 2018.

ROCHA-NETO, A.C.; NAVARRO, B.B.; CANTON, L., *et al.* Antifungal activity of palmarosa (*Cymbopogon martinii*), tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and star anise (*Illicium verum*) essential oils against *Penicillium expansum* and their mechanisms of action. **LWT**, v. 105, p. 385-392, 2019.

RODRIGUES, A.M.; HOOG, S.; CAMARGO, Z.P. Emergence of pathogenicity in the *Sporothrix schenckii* complex. **Med Mycol**, v. 51, p. 405-412, 2013.

RODRIGUEZ, M.; FISHMAN, JA. Prevention of infection due to *Pneumocystis* spp. in human immunodeficiency virus-negative immunocompromised patients. **Clin Microbiol Rev**, v. 17, p. 770-82, 2004.

ROGAWANSAMY, S.; SHARYN, G.; MICHAEL, T.; DINO, P. An evaluation of antifungal agents for the treatment of fungal contamination in indoor air environments.

International Journal of Environmental Research and Public Health, v. 12, n. 6, p. 6319-6332, 2015.

ROSENSTOCK, L. et al. **Textbook of clinical occupational and environmental medicine**. 2004.

ROSSETTO, A.L.; CORRÊA, P.R.; CRUZ, R.C.B, et al. A case of Tinea nigra associated to a bite from a European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*, Leporidae): the role of dermoscopy in diagnosis. **An. Bras. Dermatol.**, v. 89, p. 165-166, 2014.

ROSSETTO, A.L; CRUZ, R.C.B. Tinea nigra: successful treatment with topical butenafine. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 87, n. 6, p. 939-941, 2012.

ROUX, A.; CANET, E.; VALADE.; S.; GANGNEUX-ROBERT, F.; HAMANE, S.; LAFABRIE, A, et al. Pneumocystis jirovecii pneumonia in patients with or without AIDS, France. **Emerg Infect Dis.**, v. 20, p. 1490–7, 2014.

RUDNICKA, L.; RAKOWSKA, A.; KERZEJA, M.; OLSZEWSKA, M. Hair shafts in trichoscopy: clues for diagnosis of hair and scalp diseases. **Dermatol Clin.**, v. 31, p. 695-708, 2013.

RUSSO, J.P.; RAFFAELI, R.; INGRATTA, S.M., et al. Cutaneous and subcutaneous phaeohyphomycosis. **Skinmed**, v. 8, p. 366-369, 2010.

SACCENTE, M.; WOODS, G.L. Clinical and laboratory update on blastomycosis **Clin Microbiol Rev**, v. 23, p. 367-381, 2010. DOI 10.1128/CMR.00056-09.

SAMAILA, M.O.; ABDULLAHI, K. Cutaneous manifestations of deep mycosis: An experience in a tropical pathology laboratory. **Indian J Dermatol**, v. 56, p. 282-286, 2011.

SANTOS, E.P.T.E.; SILVA, S.H.M. Gênero Trichosporon: características bioquímicas e fisiológicas de isolados recuperados de espécimes clínicos diversos. In: CONGRESSO MÉDICO AMAZÔNICO, 16., 2012, Belém. **Anais...** Belém; Sociedade Médico Cirúrgica do Pará, 2012.

SEIFOLLAHI-AGHMIUNI, S.; KALANTARI, Z.; EGIDI, G. Urbanisation-driven land degradation and socioeconomic challenges in peri-urban areas: Insights from Southern Europe. **Ambio**, v. 51, p. 1446–1458, 29 jan. 2022. DOI <https://doi.org/10.1007/s13280-022-01701-7>.

SEIXAS, P.T.L.; CASTRO, H.C.; SANTOS, G.R.; CARDOSO, D.P. Controle fitopatológico do Fusarium subglutinans pelo óleo essencial do capim-citronela (*Cymbopogon nardus* L.) e do composto citronelal. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.13, especial, p. 523-526, 2011.

SELTZER, J.M. Effects of the indoor environment on health. **Occup Med**, v. 10, p. 26-45, 1995.

SEPKOWITZ, KA. Opportunistic infections in patients with and patients without Acquired Immunodeficiency Syndrome. **Clin Infect Dis**, v. 34, p. 1098–107, 2002.

SERRA, D.S.; GOMES, M.D.M.; CAVALCANTE, F.S.A.; LEAL-CARDOSO, J.H. Essential oil of *Croton Zehntneri* attenuates lung injury in the OVA-induced asthma model. **Journal of Asthma**, v. 56, p. 1-10, 13 fev. 2018. DOI <https://doi.org/10.1080/02770903.2018.1430828>.

SHAFAGHAT, A, et al. Enhancing staff's satisfaction with comfort toward productivity by sustainable Open Plan Office Design. **Sustainable Cities and Society**, v. 19, 2015.

SILVA, A.E.S. **Síndrome do edifício doente**. 2017. Tese de Doutorado.

SILVA, D.M.M.H.; BASTOS, C.N. Atividade Antifúngica de Óleos Essenciais de Espécies de *Piper* Sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatol. Bras.**, v. 32, 2007

SOKOVIĆ, M.; GLAMOČLIJA, J.; MARIN, P.D.; BRKIĆ, D.; VAN GRIENSVEN, L. J. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. **Molecules**, v. 15, p. 7532–7546, 2010. DOI <https://doi.org/10.3390/molecules15117532>.

SOLÓRZANO, S.; GARCÍA, R.; HERNÁNDEZ-CÓRDOVA, G. Chromomycosis: Report of a disabling case. **Rev Peru Med Exp Salud Publica**, v. 28, p. 552-555, 2011.

SOUZA, A.N.C.; LAHLOU, S.; BARRETO, J.E.F. et al. Essential oil of *Croton zehntneri* and its major constituent anethole display gastroprotective effect by increasing the surface mucous layer. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 27, ed. 3, p. 288-298, 3 jan. 2012. DOI <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2011.01021.x>.

TABASSUM, S.; RAHMAN, A.; HEREKAR, F.; MASOOD, S. Cryptococcal meningitis with secondary cutaneous involvement in an immunocompetent host. **J Infect Dev Ctries**, v. 7, p. 680-685, 2013.

TANGODA, L.K.; MARQUES, S.A.; CAMARGO, R.M.; STOLF, H.O.; MARQUES, M.E. Paracoccidioidomycosis of external genitalia: Report of six new cases and review of the literature. **An Bras Dermatol.**, v. 87, p. 235-240, 2012.

TAYLOR, M.; GASKIN, S.; BENTHAM, R.; PISANIELLO, D. Airborne fungal profiles in office buildings in metropolitan Adelaide, South Australia: Background levels, diversity and seasonal variation. **Indoor Built Environment**, v. 23, n. 7, p. 1002-1011, 2013.

TEIXEIRA, D.B. **Síndrome dos edifícios doentes em recintos com ventilação e climatização artificiais: revisão de literatura**. 2005.

TIAN, J.; BAN, X.; ZENG, H.; HE, J.; CHEN, Y.; WANG, Y. The mechanism of antifungal action of essential oil from dill (*Anethum graveolens* L.) on *Aspergillus flavus*. **Plos One**, 2012. DOI <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030147>.

TORRES-GUERRERO, E.; ISA-ISA, E.; ISA, M., et al. Chromoblastomycosis. **Clin Dermatol**, v. 30, p. 403-408, 2012.

TORTORA, Gerard J. **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 962 p. ISBN 978-85-8271-354-9.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 6. ed. São Paulo: Atheneu, 2015. 920 p. ISBN 978-85-388-0677-6.

TRISTANO, A.G. Cryptococcal meningitis and systemic lupus erythematosus: a case report and review. **Rev Chilena Infectol.**, v. 27, p. 155-159, 2010.

TUNNICLIFFE, G.; SCHOMBERG, L.; WALSH, S.; BRENDAN, T.; HARRISON, T.; CHUA, F. Airway and parenchymal manifestations of pulmonary aspergillosis. **Respir Med**, v. 107, p. 1113–23, 2013.

UPADHYAY, N.; SINGH, V. K.; DWIVEDY, A. K.; DAS, S.; CHAUDHARI, A. K.; DUBEY, N. K. *Cistus ladanifer* L. essential oil as a plant based preservative against molds infesting oil seeds, aflatoxin B1 secretion, oxidative deterioration and methylglyoxal biosynthesis. **LWT**, v. 92, p. 395–403, 2018. DOI <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.040>.

VINU, R.; MADRAS, G. Environmental remediation by photocatalysis. **Journal of the Indian Institute of Science**, v. 90, n. 2, p. 189-230, 2010.

WALSH, T.J.; ANAISSIE, E.J.; DENNING, D.W.; HERBRECHT, R.; KONTOYIANNIS, D.P.; MARR, K.A, et al. Treatment of aspergillosis: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. **Clin Infect Dis**, v. 46, p. 327–60, 2008.

WANG, M.; ZHAO, Y.; CAO, L.; LUO, S.; NI, B.; ZHANG, Y.; CHEN, Z. Transcriptome sequencing revealed the inhibitory mechanism of ketoconazole on clinical *Microsporum canis*. **Journal of Veterinary Science**, ed. 4, 22 jan. 2021. DOI <https://doi.org/10.4142/jvs.2021.22.e4>.

WELSH, O.; ARENAS, R. Subcutaneous mycoses. **Clin Dermatol**, v. 30, p. 367-368, 2012.

WORLD HEALTH ORGANISATION EUROPE. **WHO Guidelines for Indoor Air Quality: Dampness and Mould**. Disponível em: <<http://www.euro.who.int/en/home>>. Acesso em 24 de março de 2022.

YALE, S.H.; LEMPER, A.H. Pneumocystis carinii pneumonia in patients without acquired immunodeficiency syndrome: associated illness and prior corticosteroid therapy. **Mayo Clin Proc**, v. 71, p. 5–13, 1996.

YÜKSEL, A.; ARICI, M.; CIVAN, M, et al. A review on thermal comfort, indoor air quality and energy consumption in temples. **J. Build. Eng.**, v. 35, 2021.

ZACARONI, L.M.; CARDOSO, M.G.; SOUZA, P.E.; PIMENTEL, F.A.; GUIMARÃES, L.G.L.; SALGADO, A.P.S.P. Potencial fungitóxico do óleo essencial de *Piper hispidinervum* (pimenta longa) sobre os fungos fitopatogênicos *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Amazonica**, v. 39, p. 193–198, 2009.

ZHENG, J.; LIU, T.; GUO, Z.; ZHANG, L.; MAO, L.; ZHANG, Y.; et al. Fumigation and contact activities of 18 plant essential oils on *Villosiclava virens*, the pathogenic fungus of rice false smut. **Scientific Reports**, v. 9, p. 1–10, 2019. DOI <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43433-x>.

ZHOU, T.; WANG, X.; YE, B.; SHI, L.; BAI, X.; LAI, T. Effects of essential oil decanal on growth and transcriptome of the postharvest fungal pathogen *Penicillium expansum*. **Postharvest Biol. Technol.**, v. 145, p. 203–212, 2018. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.07.015>.