

Possíveis implicações da contaminação fúngica num aviário

Carla Viegas¹, Susana Viegas¹, C. Veríssimo², Laura Rosado², Carlos Silva Santos³

1. Área Científica de Saúde Ambiental, Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa. carla.viegas@estesl.ipl.pt

2. Laboratório de Micologia, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.

3. Grupo de Disciplinas Saúde Ambiental e Ocupacional, Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade Nova de Lisboa.

RESUMO: Introdução – Apesar de em Portugal se verificar o aumento da indústria da produção de aves para consumo humano, apenas alguns estudos incidem sobre a qualidade do ar interior e as implicações da sua degradação. **Objectivos** – Descrever a contaminação fúngica num aviário, analisar possíveis associações com a temperatura ambiente e a humidade relativa e o possível impacto na saúde dos consumidores e trabalhadores desta unidade. **Métodos** – Foi desenvolvido um estudo descritivo para avaliar a contaminação fúngica num aviário. Colheram-se 5 amostras de ar de 100 litros através do método de compactação e 4 amostras de superfícies, utilizando a técnica da zaragatoa e um quadrado de 10 cm de lado de metal. Simultaneamente, os parâmetros ambientais – temperatura ambiente e humidade relativa – também foram medidos. **Resultados** – Foram identificadas vinte espécies de fungos no ar, sendo os seguintes os quatro géneros mais comumente isolados: *Cladosporium* (40,5%), *Alternaria* (10,8%), *Chrysosporium* e *Aspergillus* (6,8%). Nas superfícies, 21 espécies de fungos foram identificadas, sendo os 4 géneros mais identificados *Penicillium* (51,8%), *Cladosporium* (25,4%), *Alternaria* (6,1%) e *Aspergillus* (4,2%). Importa referir o facto de *Aspergillus flavus*, também isolado no ar, ser reconhecido como produtor de micotoxinas (aflatoxina) e *Aspergillus fumigatus*, uma das espécies isoladas no ar e superfícies, ser capaz de causar aspergilose grave ou fatal. Não se verificou relação significativa ($p > 0,05$) entre a contaminação fúngica e as variáveis ambientais. **Conclusão** – Caracterizou-se a distribuição fúngica no ar e superfícies do aviário e analisou-se a possível influência das variáveis ambientais. Foi reconhecido um potencial problema de Saúde Pública devido à contaminação fúngica e à possível produção de micotoxinas com a eventual contaminação dos produtos alimentares. A contaminação fúngica, particularmente causada pelo *Aspergillus fumigatus*, e a possível presença de micotoxinas no ar, devem ser encaradas também como fatores de risco neste contexto ocupacional.

Palavras-chave: aviário, contaminação fúngica, micotoxinas, saúde pública, saúde ocupacional

Possible implications of a poultry fungal contamination

ABSTRACT: Background – Although there is an increasingly industry that produce whole chickens for domestic consumption in Portugal, only few investigations have reported on the indoor air of these plants and the consequences of their degradation. **Objectives** – Describe one poultry environmental fungal contamination analyse possible associations between temperature and relative humidity and its possible impact on the health of consumers and of the poultry workers. **Methods** – A descriptive study was developed to monitor one poultry fungal contamination. Five air samples of 100 litres through impaction method were collected and 4 swab samples from surfaces were also collected using a 10 cm square of metal. Simultaneously, environmental parameters – temperature and relative humidity – were also measured. **Results** – Twenty species of fungi in air were identified, being the 4 most commonly isolated the following genera: *Cladosporium* (40.5%), *Alternaria* (10.8%), *Chrysosporium* and *Aspergillus* (6.8%). In surfaces, 21 species of fungi were identified, being the 4 genera more identified *Penicillium* (51.8%), *Cladosporium* (25.4%), *Alternaria* (6.1%) and *Aspergillus* (4.2%). In addition, *Aspergillus flavus* also isolated in the poultry air is a well-known producer of potent

mycotoxins (aflatoxin), and *Aspergillus fumigatus*, one of the species isolated in air and surfaces, is capable of causing severe or fatal aspergillosis. There was no significant relationship ($p > 0,05$) between fungal contamination and environmental variables.

Conclusions – Was characterized fungal distribution in poultry air and surfaces and analyzed the association of environmental variables. It was recognized the Public Health problem because of fungal contamination and also due to probable mycotoxins production with the possible contamination of food products. Fungal contamination, particularly due to the presence of *Aspergillus fumigatus* and also the possible presence of mycotoxins in the air, should be seen as risk factor in this occupational setting.

Keywords: poultry, fungal contamination, mycotoxins, public health, occupational health

Introdução

A presença de fungos requer condições específicas de temperatura, humidade, oxigénio e nutrientes. As atividades biológicas de biodegradação e biodeterioração dos fungos dependem da atividade enzimática, das condições ambientais, do fenómeno de competição entre espécies e, ainda, da natureza do substrato onde os fungos se encontram¹. Em situações onde a contaminação fúngica é elevada ou quando os indivíduos expostos sofrem de problemas respiratórios ou possuem um sistema imunológico fragilizado, a exposição pode causar o aparecimento de sintomas e/ou patologias. Os efeitos estão dependentes das espécies presentes, dos produtos metabólicos, da concentração e da duração da exposição e, não menos importante, da suscetibilidade individual¹.

Até ao momento, os estudos epidemiológicos não conseguiram estabelecer uma relação causal entre a extensão da presença de fungos, o tempo de exposição e os efeitos específicos para a saúde ou na frequência e gravidade dos sintomas relatados. Os estudos tendem a evidenciar apenas a existência de uma ligação entre a presença de fungos num determinado ambiente e o desenvolvimento de sintomas, principalmente do foro respiratório¹. No entanto, as espécies fúngicas são geralmente identificadas como causa de doenças alérgicas, dores de cabeça, irritação ocular, obstrução das vias respiratórias, tosse e outros sintomas².

Acresce, ainda, o facto de alguns fungos em ambientes fechados poderem produzir metabolitos secundários, como as micotoxinas, em resposta às alterações do local em que se encontram. As micotoxinas podem ser pró-inflamatórias, imunossupressoras ou cancerígenas³⁻⁴. Este grupo de toxinas inclui as aflatoxinas, fumonisinas, ocratoxinas, rubratoxinas e os tricotecenos, apresentando, conforme referido, propriedades e toxicidade diferentes³⁻⁵.

As atividades agrícolas, como a produção animal, aumentam o risco de exposição a partículas e a microrganismos, como os fungos⁶⁻⁷. Em Portugal, e segundo dados facultados pelo Ministério da Agricultura em 2009 (não editados), verifica-se o aumento da indústria da produção de aves para consumo humano. Embora diversa pesquisa tenha sido desenvolvida sobre os possíveis contaminantes micro-

biológicos na produção de carne para consumo⁸⁻⁹, poucos estudos descrevem a qualidade do ar interior das instalações^{7,10} e as implicações que a sua degradação poderá representar para os produtos alimentares. Desta forma, reconhecendo o ar como potencial contaminante da carne das aves⁷, a ingestão deste produto alimentar contaminado por fungos e micotoxinas pode ser causa de doença nos consumidores¹¹.

Adicionalmente, além da potencial exposição ocupacional a fungos que ocorre neste contexto ocupacional, a exposição a micotoxinas por via inalatória tem vindo a ser considerada, em vários estudos, como um fator de risco profissional¹²⁻¹⁴.

Face à pertinência do tema, este estudo apresentou como objetivos descrever a contaminação fúngica num aviário e analisar possíveis associações com a temperatura e a humidade relativa, bem como o seu possível impacto na saúde dos consumidores e trabalhadores desta unidade.

Materiais e Métodos

Realizou-se um estudo descritivo que envolveu a avaliação da contaminação fúngica no ar e superfícies de um aviário. Foram colhidas cinco amostras de ar, quatro no interior de diferentes pavilhões onde se encontravam as aves e uma no exterior, por este ser o local considerado como sendo o de referência¹⁵. Em cada amostra foram colhidos 100 litros de ar, através do método de impacto, com velocidade de recolha de 140 litros por minuto e a 1 metro de altura. Foi utilizado como meio o malte agar com cloranfenicol (MEA) e antes de cada colheita os amostradores foram limpos com gaze esterilizada, embebida em álcool etílico a 70%.

Foram também colhidas quatro amostras de superfícies, uma em cada pavilhão, nos seguintes locais: 2 bebedouros, 1 comedouro e 1 parede. As amostras foram obtidas através da técnica de esfregaço por zaragatoa que foi realizada de acordo com os procedimentos constantes na ISO 18593:2004¹⁶, utilizando um quadrado de metal inoxidável de 10 cm, desinfetado com álcool etílico a 70%, entre colheitas.

Simultaneamente, monitorizaram-se os parâmetros ambientais, designadamente a temperatura ambiente e a humidade relativa, através do equipamento de leitura direta Babouc A, da LSI Systems e segundo a Norma Internacional ISO 7726:1998¹⁷.

Todas as amostras foram transportadas em ambiente refrigerado e processadas no próprio dia. O processamento das zaragatoas foi realizado recorrendo à técnica de espalhamento por estrias em MEA, tendo sido realizadas 3 réplicas por amostra. Posteriormente, as placas de meio (ar e superfícies) foram incubadas a 27° C, durante 5 a 7 dias e controladas periodicamente para verificar a evolução do crescimento das colónias¹⁸.

Após o processamento laboratorial e a incubação das amostras colhidas, foram obtidos resultados qualitativos através da identificação das espécies fúngicas filamentosas isoladas e quantitativos expressos em Unidades Formadoras de Colónias por metro quadrado (UFC/m²) e por metro cúbico (UFC/m³). Sempre que possível, os fungos filamentosos foram identificados ao nível de espécie, dado que os possíveis efeitos adversos para a saúde variam de acordo com as espécies fúngicas¹⁹⁻²⁰.

A identificação de fungos filamentosos foi alcançada através de microscopia ótica mediante a observação das características morfológicas constantes em bibliografia ilustrada²¹.

Com os dados obtidos, realizaram-se tabelas de frequência da distribuição das espécies fúngicas isoladas e analisou-se a dependência da concentração fúngica com as variáveis ambientais estudadas (temperatura ambiente e humidade relativa).

Resultados

Vinte fungos filamentosos foram identificados no ar, tendo sido *Cladosporium* (40,5%), *Alternaria* (10,8%), *Chrysosporium* e *Aspergillus* (6,8%) os quatro géneros mais comumente isolados. Entre o género *Aspergillus*, foram identificadas as espécies de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus fumigatus*. Além destes, também foram identificados: *Fusarium* sp., *Fusarium incarnatum*, *Fusarium oxysporum*, *Exophiala werneckii*, *Stemphylium* sp., *Exophiala* sp., *Phoma* sp., *Scytalidium* sp., *Aureobasidium* sp., *Mucor* sp., *Penicillium* sp., *Ulocladium* sp. e *Rhizopus* sp.

Relativamente às superfícies, foram identificados 21 fungos filamentosos, sendo *Penicillium* sp. (51,8%), *Cladosporium* sp. (25,4%), *Alternaria* sp. (6,1%) e *Aspergillus* sp. (4,2%) os 4 géneros mais identificados.

Entre o género *Aspergillus*, foram identificadas as espécies *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus niger*. Além destes, foram também identificados: *Cladosporium sphaerosperma*, *Chrysosporium* sp., *Trichothecium roseum*, *Graphium* sp., *Scopulariopsis* sp., *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma* sp., *Exophiala* sp., *Chrysonilia* sp.,

Scytalidium sp., *Gliocladium* sp., *Ulocladium* sp., *Mucor* sp. e *Scedosporium prolificans* sp. (cf. Tabela 1).

Tabela 1: Fungos mais frequentes no ar e superfícies do aviário

Ar	Frequência (%)
<i>Cladosporium</i> sp.	40,5
<i>Alternaria</i> sp.	10,8
<i>Chrysosporium</i> sp.	6,8
<i>Aspergillus</i> sp.	6,8
<i>Mucor</i> sp.	2,7
<i>Penicillium</i> sp.	2,7
<i>Scytalidium</i> sp.	2,7
Outros	27
Superfícies	Frequência (%)
<i>Penicillium</i> sp.	51,8
<i>Cladosporium</i> sp.	25,4
<i>Alternaria</i> sp.	6,1
<i>Aspergillus</i> sp.	4,2
<i>Chrysosporium</i> sp.	2,9
Outros	9,6

Quanto à comparação entre a contaminação fúngica existente no ar dos pavilhões e no exterior, verificou-se que todos os espaços interiores apresentaram menor contaminação do que o exterior. No entanto, todos os pavilhões apresentaram fungos diferentes dos isolados no exterior. Alguns dos fungos que apenas se isolaram no interior foram: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Phoma* sp., *Aureobasidium* sp., *Mucor* sp., *Fusarium clamosporos*, *Fusarium incarnatum*, *Fusarium oxysporum* e *Rhizopus* sp.

No exterior, os géneros mais frequentes foram *Cladosporium* (70,2%) e *Exophiala* (12,2%).

Em relação aos resultados quantitativos, a maior contaminação fúngica encontrada no interior foi 240 UFC/m³ e no exterior 740 UFC/m³.

Quanto aos resultados sobre a influência das variáveis ambientais medidas, não se verificou uma relação estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre a contaminação fúngica (fungos filamentosos no ar) e a temperatura ambiente ($r=0,17$) e a humidade relativa ($r=0,77$). Com base nas Figuras 1 e 2, pode constatar-se que a contribuição destes dois parâmetros ambientais para a explicação da variação das UFC/m³ é de apenas 2,75% no caso da temperatura ambiente e de 59,0% no caso da humidade relativa.

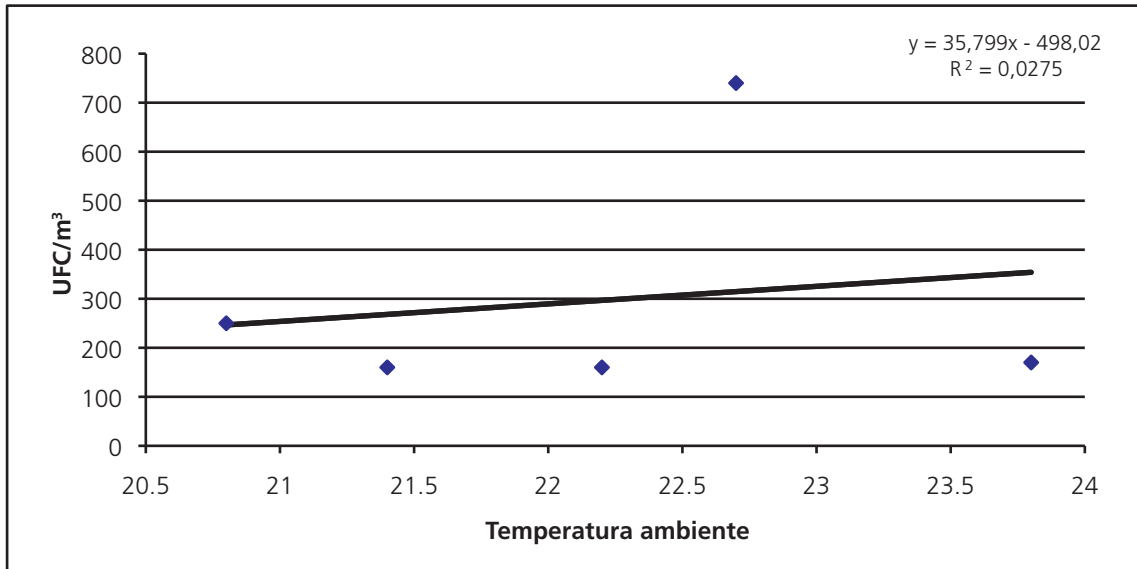


Figura 1: Influência da temperatura ambiente nas UFC/m³

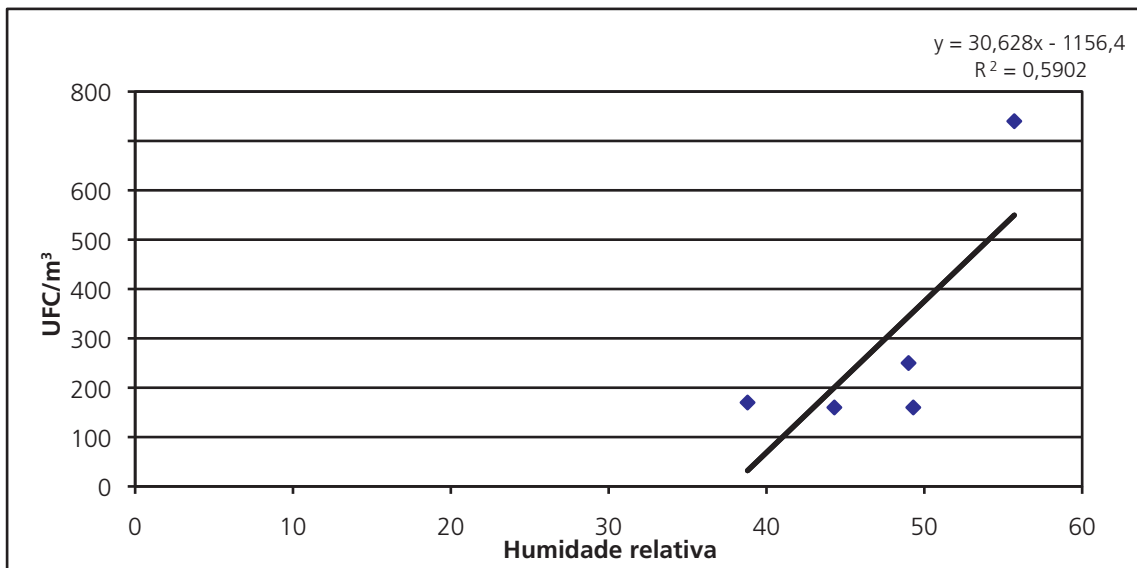


Figura 2: Influência da humidade relativa nas UFC/m³

Discussão

O género *Cladosporium*, fungo predominante no ar, é provavelmente o fungo que ocorre com mais frequência em todo o mundo, especialmente em países com climas temperados²², como é o caso de Portugal. O mesmo género está relacionado com problemas de condensação interior²³. No caso do género *Penicillium*, o mais frequente nas superfícies do aviário analisado, são vários os potenciais riscos associados com a inalação das toxinas que produz. No que concerne ao género *Alternaria*, o segundo mais frequente no ar e o terceiro nas superfícies, têm sido descritos vários efeitos alérgicos devido apenas à presença dos seus esporos no ar²⁴.

No que diz respeito à avaliação qualitativa da contaminação fúngica do ar, Samson *et al.*, em 1994, sugerem que,

entre outras espécies, *Aspergillus fumigatus* e espécies de *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium* e *Ulocladium*, todas elas isoladas no presente estudo, sejam consideradas como indicadoras de problemas de humidade ou potencial risco para a saúde¹. Além disso, de acordo com a American Industrial Hygiene Association (AIHA), em 1996, para a determinação de contaminação biológica em amostras ambientais, a presença confirmada das espécies *Aspergillus flavus* e *Aspergillus fumigatus*, ambas identificadas no presente estudo, requer a aplicação de medidas corretivas²⁵. É importante também salientar, que *Aspergillus fumigatus*, isolado no ar e superfícies, é um dos fungos saprófitas mais difundido no ar e é capaz de causar aspergilose grave ou, por vezes, fatal²⁶. A presença desta espécie fúngica em locais de trabalho representa elevado risco de doença profes-

sional, dado poder induzir sensação alérgica e doença alérgica pulmonar e, igualmente, poder provocar aspergilose broncopulmonar, especialmente em indivíduos imunocomprometidos²⁷.

Relativamente ao *Aspergillus flavus*, também isolado no ar, é um conhecido produtor de micotoxinas (aflatoxina) e, além desta espécie, foram também isolados outros géneros produtores de micotoxinas, designadamente *Fusarium* e *Penicillium*²⁸.

Para a avaliação quantitativa da contaminação fúngica do ar (UFC/m³), Miller, em 1992, sugeriu a aplicação de medidas corretivas, sempre que, em determinado espaço, uma ou mais das seguintes condições sejam verificadas: a) > 50 UFC/m³ de uma única espécie fúngica; b) > 150 UFC/m³ se várias espécies de fungos forem isoladas; c) > 300 UFC/m³ se existirem, principalmente, fungos filamentosos²⁹. A condição a) foi encontrada no caso dos géneros *Cladosporium* e *Exophiala* e a condição b) foi observada em todos os espaços interiores avaliados. No entanto, e porque a contaminação fúngica do ar nos espaços interiores foi consideravelmente menor do que no exterior, alguns autores consideram que não deve haver preocupação com uma possível contaminação fúngica²⁴. A concentração máxima de referência para o ar interior mencionada na legislação Portuguesa – 500 UFC/m³ – também não é excedida nos espaços interiores avaliados, tendo sido 240 UFC/m³ a maior concentração obtida.

Apesar disso, a American Conference of Government Industrial Hygienists (ACGIH) Bioaerosol Committee³⁰ indica que a concentração fúngica no interior não deverá ultrapassar os 20 a 25% do exterior, sendo que a maior concentração obtida – 240 UFC/m³ – ultrapassa esta referência, tendo em conta que a concentração exterior apresentou 740 UFC/m³.

O ar exterior é a principal fonte de fungos no interior¹⁵, justificando, assim, a coincidência entre o género predominante em ambos os ambientes, designadamente *Cladosporium*. No entanto, em todos os espaços interiores avaliados verificou-se a presença de fungos diferentes dos isolados no exterior, sugerindo contaminação fúngica proveniente do interior²⁴.

Entre as espécies mais frequentes isoladas no ar e nas superfícies, os géneros *Cladosporium*, *Alternaria*³¹, *Aspergillus* e *Penicillium* foram também os mais frequentes noutros estudos realizados no mesmo contexto profissional³¹⁻³².

As colheitas de amostras de superfícies, além das do ar, são essenciais para permitir caracterizar e avaliar a contaminação fúngica e, ainda, para identificar as fontes de contaminação³³⁻³⁴. Neste âmbito, salienta-se a coincidência verificada entre alguns dos fungos isolados no ar e nas superfícies, importando considerar também que os fungos presentes apenas nas superfícies podem aerossolizar, dependendo de situações que a promovam, nomeadamente as atividades realizadas³⁵ e a taxa de ocupação³⁶, devendo, neste caso, serem considerados os agricultores e as aves.

Verificou-se o isolamento de espécies fúngicas produtoras de micotoxinas, estando demonstrado que as mesmas po-

dem causar patologias no Homem através de inalação e da ingestão de alimentos contaminados^{11,37}. Esta última situação poderá significar risco para a saúde dos consumidores da carne das aves, podendo, assim, ser perspectivada como um problema de Saúde Pública. Esta observação é suportada pelo facto de atualmente existir evidência científica a demonstrar que o aumento da prevalência de carcinoma hepatocelular está associado com o aumento do consumo de alimentos contaminados com aflatoxinas³⁸.

Não são específicas as condições necessárias para que ocorra a produção de micotoxinas pelos fungos, uma vez que são produzidas em praticamente qualquer produto alimentar, podendo verificar-se em intervalos de concentração alargados, variando desde menos que 1 p.p.b. a 12 p.p.m³⁹.

Considerando os fungos isolados no ar e superfícies do aviário avaliado, como é o caso de *Aspergillus fumigatus* e igualmente a possível presença de micotoxinas no ar (aflatoxina), devido à presença de *Aspergillus flavus*, pode também prever-se a exposição dos trabalhadores dos aviários a estes dois fatores de risco e, conseqüentemente, a ocorrência de eventuais efeitos para a saúde. No caso concreto da exposição a aflatoxina, importa avaliar a exposição contemplando as diferentes vias de penetração – a ingestão e, ainda, a inalação para o caso da exposição profissional – para permitir o conhecimento da intensidade da exposição e, desta forma, uma avaliação do risco mais real^{12-14,40}. A avaliação da exposição a este fator de risco tem sido realizada frequentemente recorrendo a Indicadores Biológicos de Exposição (dose), mais concretamente através da quantificação na urina do aducto de proteína AFB₁-N⁷-guanina. Embora não permitindo diferenciar a via de penetração, apresenta-se como um instrumento mais exato para a avaliação da exposição⁴¹⁻⁴³.

Os resultados referentes à influência das variáveis ambientais não foram os esperados⁴⁴, pois a relação entre a contaminação fúngica do ar e a temperatura ambiente e a humidade relativa não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Esta situação pode ser justificada pela influência de outras variáveis não estudadas, como por exemplo os trabalhadores e as aves, que transportam no seu próprio corpo (flora comensal) ou no vestuário, no caso dos agricultores, uma grande diversidade de espécies de fungos³⁶, o tipo de cobertura do pavimento dos pavilhões⁴⁵ e, ainda, o desenvolvimento de algumas atividades muito específicas deste contexto profissional³⁵, como a muda da cobertura do pavimento⁴⁵.

Conclusões

Foi possível caracterizar a distribuição fúngica no ar e superfícies do aviário e analisar a influência das variáveis ambientais.

Identificou-se um potencial problema de Saúde Pública, não só devido à contaminação fúngica, mas também à possível produção de micotoxinas e à conseqüente contaminação dos produtos alimentares. Poderá ser equaciona-

do, igualmente, como um eventual problema de Saúde Ocupacional pela exposição dos trabalhadores aos fatores de risco de natureza biológica e química presentes, designadamente a presença de *Aspergillus fumigatus* no ar e superfícies e a possível exposição por via inalatória a micotoxinas (em particular, a aflatoxina), respectivamente.

Referências Bibliográficas

- Goyer N, Lavoie J, Lazure L, Marchand G. Bioaerosols in the workplace: evaluation, control and prevention guide. Québec: Institut de Recherche en Santé et en Sécurité du Travail du Québec; 2001.
- Daisey JM, Angell WJ, Apte MG. Indoor air quality, ventilation and health symptoms in schools: an analysis of existing information. *Indoor Air*. 2003;13(1):53-64.
- Speijers GJ, Speijers MH. Combined toxic effects of mycotoxins. *Toxicol Lett*. 2004;153(1):91-8.
- Brera C, Caputi R, Miraglia M, Lavicoli I, Salerno A, Carelli G. Exposure assessment to mycotoxins in workplaces: aflatoxins and ochratoxin A occurrence in airborne dusts and human sera. *Microchem J*. 2002; 73(1):167-73.
- Jarvis BB. *Stachybotrys chartarum*: a fungus of our time. *Phytochemistry*. 2003;64:53-60.
- Moloczniak A. Qualitative and quantitative analysis of agricultural dust in working environment. *Ann Agric Environ Med*. 2002;9(1):71-8.
- Lues JF, Theron MM, Venter P, Rasephei MH. Microbial composition in bioaerosols of a high-throughput chicken-slaughtering facility. *Poult Sci*. 2007;86(1):142-9.
- Buys EM, Nortjé GL, Jooste PJ, Von Holy A. Bacterial populations associated with bulk packaged beef supplemented with dietary vitamin E. *Int J Food Microbiol*. 2000;56(2-3): 239-44.
- Borch E, Arinder P. Bacteriological safety issues in red meat and ready-to-eat meat products, as well as control measures. *Meat Sci*. 2002;62(3):381-90.
- Whyte P, Collins JD, McGill K, Monahan C, O'Mahony H. Distribution and prevalence of airborne microorganisms in three commercial poultry processing plants. *J Food Prot*. 2001;64(3):388-91.
- Shlosberg A, Zadikov I, Perl S, Yakobson B, Varod Y, Elad D, et al. *Aspergillus clavatus* as the probable cause of a lethal mass neurotoxicosis in sheep. *Mycopathologia*. 1991;114(1): 35-9.
- Olsen JH, Dragsted L, Autrup H. Cancer risk and occupational exposure to aflatoxins in Denmark. *Br J Cancer*. 1988;58(3):392-6.
- Autrup JL, Schmidt J, Seremet T, Autrup H. Determination of exposure to aflatoxins among Danish workers in animal-feed production through the analysis of aflatoxin B₁ adducts to serum albumin. *Scand J Work Environ Health*. 1991;17(6):436-40.
- Brera C, Caputi R, Miraglia M, Lavicoli L, Salerno A, Carelli G. Exposure assessment to mycotoxins in workplace: aflatoxins and ochratoxin A occurrence in airborne dusts and human sera. *Microchem J*. 2002;73(1-2):167-73.
- Nevalainen A. Bio-aerosols as exposure agents in indoor environment in relation to asthma and allergy. Section 3 Asthma and allergy. In Proceedings of the First ENVIE Conference on Indoor Air Quality and Health for EU Policy, Helsinki, Finland, 2007.
- International Standard ISO 18593:2004 – Microbiology of food and animal feeding stuffs: horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs. Geneva: ISO; 2004.
- International Standard ISO 7726:1998 – Ergonomics of the thermal environment: instruments for measuring physical quantities. Geneva: ISO; 1998.
- Kaur R, Kashyap B, Bhalla P. Onychomycosis: epidemiology, diagnosis and management. *Indian J Med Microbiol*. 2008;26(2):108-16.
- Ghannoum MA, Hajjeh RA, Scher R, Konnikov N, Gupta AK, Summerbell R, et al. A large-scale North American study of fungal isolates from nails: the frequency of onychomycosis, fungal distribution and antifungal susceptibility patterns. *J Am Acad Dermatol*. 2000;43(4):641-8.
- Gianni C, Cerri A, Crosti C. Non-dermatophytic onychomycosis: an underestimated entity? A study of 51 cases. *Mycoses*. 2000;43(1-2):29-33.
- De Hoog GS, Cuarro GJ, Figueras MJ. Atlas of clinical fungi. 2nd ed. ASM Press; 2001.
- Cooley JD, Wong WC, Jumper CA, Straus DC. Correlation between the prevalence of certain fungi and sick building syndrome. *Occup Environ Med*. 1998;55(9):579-84.
- Garrett MH, Rayment PR, Hooper MA, Abramson MJ, Hooper BM. Indoor airborne fungal spores, house dampness and associations with environmental factors and respiratory health in children. *Clin Exp Allergy*. 1998;28(4): 459-67.
- Kemp PC, Neumeister-Kemp HG, Esposito B, Lysek G, Murray F. Changes in airborne fungi from the outdoors to indoor air; large HVAC systems in nonproblem buildings in two different climates. *AIHA J*. 2003;64(2):269-75.
- American Industrial Hygiene Association. Field guide for the determination of biological contaminants in environmental samples. AIHA; 1996.
- Yao M, Mainelis G. Analysis of portable impactor performance for enumeration of viable bioaerosols. *J Occup Environ Hyg*. 2007;4(7):514-24.
- Douwes J, Thorne P, Pearce N, Heederik D. Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects. *Ann Occup Hyg*. 2003;47(3):187-200.
- Hedayati MT, Pasqualotto AC, Warn PA, Bowyer P, Denning DW. *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology*. 2007;153(Pt 6): 1677-92.
- Miller JD. Fungi as contaminants of indoor air. *Atmos Environ*. 1992;26 A(12):2163-72.
- Morey P. Bioaerosols in the indoor environment: current practices and approaches. In Weeks D, Gammage R, editors. The practitioner's approach to indoor air quality investigations. Akron, OH: American Industrial Hygiene Association; 1990. p. 51-72.

31. Lonc E, Plewa K. Comparison of indoor and outdoor bioaerosols in poultry farming. In Moldoveanu AM, editor. *Advanced topics in environmental health and air pollution case studies*. InTech; 2011. p. 339-52.
32. Rimac D, Macan J, Varnai VM, Vucemilo M, Matkovic K, Prester L, et al. Exposure to poultry dust and health effects in poultry workers: impact of mould and mite allergens. *Int Arch Occup Environ Health*. 2010;83(1):9-19.
33. Stetzenbach LD, Buttner MP, Cruz P. Detection and enumeration of airborne biocontaminants. *Curr Opin Biotechnol*. 2004;15(3):170-4.
34. Klánová K, Hollerová J. Hospital indoor environment: screening for micro-organisms and particulate matter. *Indoor Built Environ*. 2003;12(1):61-7.
35. Buttner MP, Stetzenbach LD. Monitoring airborne fungal spores in an experimental indoor environment to evaluate sampling methods and the effects of human activity on air sampling. *Appl Environ Microbiol*. 1993;59(1):219-26.
36. Scheff PA, Paulius VK, Curtis L, Conroy LM. Indoor air quality in a middle school, Part II: development of emission factors for particulate matter and bioaerosols. *Appl Occup Environ Hyg*. 2000;15(11):835-42.
37. Williams JH, Phillips TD, Jolly PE, Stiles JK, Jolly CM, Aggarwal D. Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *Am J Clin Nutr*. 2004;80(5):1106-22.
38. Bosch FX, Muñoz N. Prospects for epidemiological studies on hepatocellular cancer as a model for assessing viral and chemical interactions. *IARC Sci Publ*. 1988;(89):427-38.
39. Ellis WO, Smith JP, Simpson BK, Oldham JH. Aflatoxins in food: occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection, and methods of control. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 1991;30(4):403-39.
40. Liao C, Chen S. A probabilistic modelling approach to assess human inhalation exposure risks to airborne aflatoxin B₁ (AFB₁). *Atmos Environ*. 2005;39:6481-90.
41. Groopman JD, Zhu JQ, Donahue PR, Pikul A, Zhang LS, Chen JS, et al. Molecular dosimetry of urinary aflatoxin-DNA adducts in people living in Guangxi Autonomous Region, People's Republic of China. *Cancer Res*. 1992;52(1):45-52.
42. Nayak S, Sashidhar RB, Bhat RV. Quantification and validation of enzyme immunoassay for urinary aflatoxin B₁-N⁷-guanine adduct for biological monitoring of aflatoxins. *Analyst*. 2001;126(2):179-83.
43. Groopman JD, Johnson D, Kensler TW. Aflatoxin and hepatitis B virus biomarkers: A paradigm for complex environmental exposures and cancer risk. *Cancer Biomark*. 2005;1(1):5-14.
44. Kakde UB, Kakde HU, Saoji AA. Seasonal variation of fungal propagules in a fruit market environment, Nagpur (India). *Aerobiologia*. 2001;17(2):177-82.
45. Fernandes F. Poeiras em aviários. *Rev Bras Med Trabalho, Belo Horizonte*. 2004;2(4):253-62. Portuguese

Artigo recebido em 07.07.2010 e aprovado em 07.11.2011.