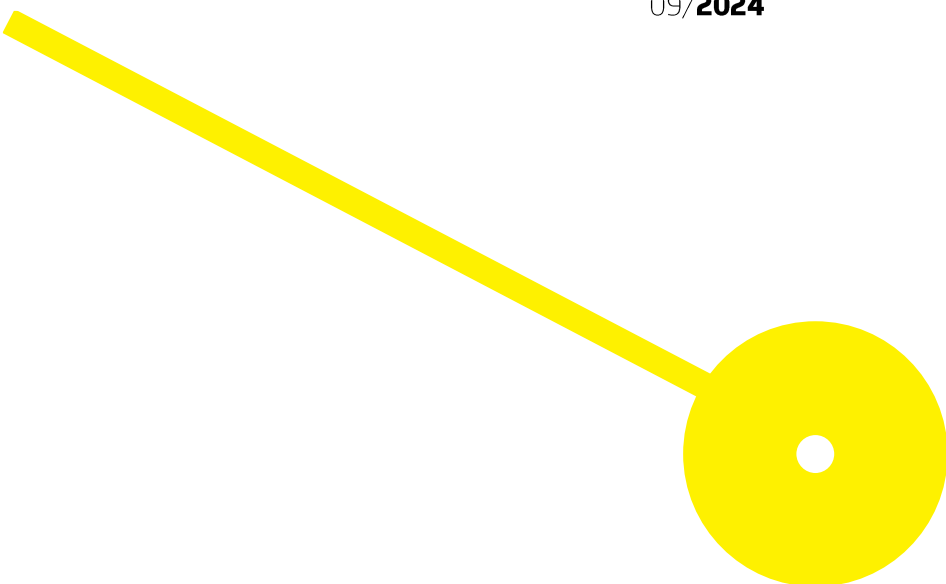




Qualidade do Ar Interior em Edifícios Escolares: Quantificação e Caracterização do Microbiota

Sandra Maria de Carvalho Alves

09/2024





**ESCOLA
SUPERIOR
DE SAÚDE**

**Qualidade do Ar Interior em Edifícios Escolares: Quantificação e Caracterização do
Microbiota**

Autor

Sandra Maria de Carvalho Alves

Orientador(es)

PhD / Prof.(a) Manuela Vieira da Silva / ESS|IPP

PhD / Prof.(a) Joana Carvalho dos Santos / ESS|IPP

Dissertação apresentada(o) para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de **Mestre em Higiene e Segurança nas Organizações** pela Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto.

Agradecimentos

A realização deste trabalho não teria sido possível sem o apoio e incentivo de várias pessoas, às quais expresso a minha sincera gratidão.

Em primeiro lugar, agradeço à minha família pelo constante apoio e força ao longo desta jornada. Ao meu marido, que, com a sua compreensão e encorajamento, me deu o equilíbrio pessoal necessário para chegar até aqui.

Aos meus amigos e colegas de trabalho, agradeço a disponibilidade para me ouvir e pelo apoio ao longo dos momentos mais desafiantes.

Um agradecimento especial às minhas orientadoras, a Prof.(a) Manuela Vieira da Silva e a Prof.(a) Joana Carvalho dos Santos, cujas orientações, conhecimentos e acompanhamento constante foram essenciais para a realização deste trabalho.

Por fim, agradeço à Prof.(a) Ana Paula Martins pelo apoio e pelas sugestões valiosas durante a componente prática deste estudo, que contribuíram significativamente para o seu desenvolvimento.

A todos, o meu profundo agradecimento.

Resumo

Estamos continuamente expostos aos riscos que a má qualidade do ar exterior poderá apresentar. Amplificando esse risco, pela quantidade de tempo que passamos no interior de edifícios, cada vez maior, onde o nível de poluição pode ser até 2 a 5 vezes superiores ao do ar exterior. Este risco favorece o aparecimento de doenças respiratórias e/ou alérgicas, como rinite alérgica, conjuntivite e asma, sobretudo em grupos vulneráveis como crianças, idosos ou doentes. Neste trabalho foram estudados edifícios escolares com o objetivo de caracterizar a QAI, ao nível do perfil microbiológico. Foram selecionados e monitorizados, 8 edifícios escolares, para os parâmetros físico-químicos (CO₂, PM₁₀, PM_{2.5}) e microbiológicos (fungos e bactérias), realizadas provas de caracterização e identificação bacteriana, segundo o Despacho 1618/2022, de 9 de fevereiro e a NP 4489:2015. Quanto aos parâmetros físico químicos, os resultados foram promissores, encontrando-se todas as escolas em conformidade legal para as PM₁₀, PM_{2.5}, 5 das 8 escolas em conformidade legal para o CO₂ e um nível de conforto classificado em elevado a aceitável, quanto à temperatura e % de humidade relativa. Quanto aos parâmetros microbiológicos a maioria apresenta uma carga microbiana no interior superior ao exterior, onde foi possível verificar uma tendência crescente ao longo do dia. As bactérias mesófilas aeróbias isoladas foram identificadas como: *Sphingomonas paucimobilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus Luteus*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus lylae*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus hominis*, que se distribuem em 3% a 26% Gram negativas e 74% a 97% Gram positivas do total das escolas. Face aos resultados obtidos, salienta-se a necessidade de rever o isolamento dos edifícios e os sistemas de ventilação (natural e/ou mecânica), para melhorar o ratio de renovação do ar, assim como aquisição de um sistema de filtragem de ar, com filtros de alta eficiência (HEPA).

Palavras-chave: Qualidade do ar; Poluentes atmosféricos; Crianças; Escolas; Patologias respiratórias e microrganismos.

Abstract

We are continuously exposed to the risks posed by poor outdoor air quality. This risk is amplified by the increasing amount of time spent indoors, where pollution levels can be 2 to 5 times higher than those outdoors. This exposure increases the risk of respiratory and/or allergic diseases, such as allergic rhinitis, conjunctivitis, and asthma, especially in vulnerable groups such as children, the elderly, or the sick. In this study, school buildings were examined with the aim of characterizing indoor air quality (IAQ) in terms of the microbiological profile. Eight school buildings were selected, and physical-chemical parameters (CO₂, PM₁₀, PM_{2.5}) and microbiological parameters (fungi and bacteria) were monitored. Bacterial characterization and identification tests were conducted according to Regulation 1618/2022, of February 9, and NP 4489:2015. Regarding the physical-chemical parameters, the results were promising, with all schools complying with legal standards for PM₁₀ and PM_{2.5}, and 5 out of 8 schools complying with CO₂ regulations, while comfort levels were rated from high to acceptable in terms of temperature and relative humidity %. In terms of microbiological parameters, most schools had a higher microbial load indoors compared to outdoors, with a noticeable increase throughout the day. The isolated aerobic mesophilic bacteria were identified as: *Sphingomonas paucimobilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus lylae*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Staphylococcus hominis*, distributed between 3% to 26% Gram-negative and 74% to 97% Gram-positive across the schools. Given the results obtained, it is emphasized that the buildings' insulation and ventilation systems (natural and/or mechanical) need to be reviewed to improve the air exchange rate, as well as the acquisition of an air filtration system with high-efficiency filters (HEPA).

Keywords: Air quality; Air pollutants; Children; Schools; Respiratory pathologies and microorganisms.

Índice

| | | |
|---------------|---|-----------|
| 1. | Introdução..... | 1 |
| 1.1. | Objetivos do estudo..... | 2 |
| 2. | Revisão Bibliográfica..... | 2 |
| 2.1. | Qualidade do ar interior (QAI)..... | 2 |
| 2.1.1. | Influência da qualidade do ar ambiente na QAI..... | 3 |
| 2.1.2. | Legislação da qualidade do ar interior..... | 6 |
| 2.2. | Poluentes físico-químicos..... | 11 |
| 2.3. | Poluentes biológicos..... | 13 |
| 2.3.1. | Bactérias..... | 14 |
| 2.3.2. | Fungos..... | 16 |
| 2.3.3. | Outros poluentes biológicos..... | 18 |
| 2.3.4. | Endotoxinas..... | 19 |
| 2.3.5. | Micotoxinas..... | 23 |
| 2.4. | Medidas de controlo..... | 24 |
| 2.5. | Edifícios Escolares..... | 27 |
| 3. | Métodos..... | 30 |
| 3.1. | Tipo de estudo..... | 30 |
| 3.2. | Amostra..... | 30 |
| 3.3. | Desenho do estudo / procedimento..... | 30 |
| 3.4. | Questionário..... | 32 |
| 3.5. | Critérios de amostragem..... | 32 |
| 3.6. | Equipamentos e técnicas..... | 33 |
| 3.6.1. | Monitor de Partículas: <i>DustTrack II</i>..... | 34 |
| 3.6.2. | Analizador de CO e CO₂: <i>VelociCalc®</i>..... | 34 |
| 3.6.3. | Amostrador de Ar: <i>MAS-100®</i>..... | 35 |
| 3.6.4. | <i>VITEK® 2 Compact</i>..... | 36 |
| 3.6.5. | Meios de cultura..... | 36 |
| 3.6.6. | Incubação..... | 38 |
| 3.6.7. | Contagem de colónias de bactérias e fungos..... | 38 |
| 3.6.8. | Coloração de Gram..... | 39 |

| | | |
|----------------|---|----|
| 3.6.9. | Catalase..... | 39 |
| 3.6.10. | Oxidase..... | 40 |
| 3.7. | Tratamento de dados..... | 40 |
| 3.7.1. | Verificação da normalidade dos dados..... | 41 |
| 3.7.2. | Comparação das concentrações (UFC/m ³) entre os volumes de 100 L e 250 L..... | 41 |
| 3.7.3. | Comparação das concentrações (UFC/m ³) entre as escolas..... | 41 |
| 3.7.4. | Comparação das concentrações (UFC/m ³) entre os pontos de amostragem (salas) dentro da mesma escola..... | 41 |
| 3.7.5. | Verificar a relação e tendência das concentrações (UFC/m ³) ao longo dos pontos de amostragem dentro da mesma escola..... | 41 |
| 3.8. | Critérios gerais para verificação da conformidade legal dos poluentes - Limiares de proteção, margem de tolerância e condições de referência..... | 42 |
| 4. | Resultados..... | 43 |
| 4.1. | Caracterização dos pontos de medição..... | 43 |
| 4.2. | Resultados parâmetro físico-químicos..... | 44 |
| 4.3. | Resultados parâmetro microbiológicos..... | 45 |
| 4.3.1. | Fungos mesófilos totais..... | 45 |
| 4.3.2. | Bactérias mesófilas aeróbias totais..... | 48 |
| 4.4. | Resultados de identificações VITEK® 2 Compact..... | 53 |
| 5. | Discussão..... | 54 |
| 6. | Conclusão..... | 59 |
| 7. | Referências Bibliográficas..... | 61 |
| 8. | Anexos..... | 69 |

Índice de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Linha temporal da legislação na qualidade do ar interior. (ADENE - Agência para a Energia, 2024)..... | 9 |
| Figura 2 - Fluxograma - Desenho do estudo observacional..... | 31 |
| Figura 3 - DustTrack II..... | 34 |
| Figura 4 - VelociCalc®..... | 35 |
| Figura 5 - MAS-100®..... | 36 |
| Figura 6 - VITEK® 2 Compact..... | 36 |

| | |
|--|----|
| Figura 7 – Diferenças estruturais da membrana das bactérias.(Vetor, 2024)..... | 39 |
| Figura 8 – Colônia de fungos mesófilos encontradas no meio RCBA..... | 46 |
| Figura 9 – Colônias de bactérias mesófilas aeróbias encontradas no meio TSA..... | 49 |
| Figura 10 – Lista de verificação aplicada em cada ponto de amostragem..... | 69 |
| Figura 11 – Lista de verificação aplicada em cada ponto de amostragem (continuação)..... | 70 |
| Figura 12 – Lista de verificação aplicada em cada ponto de amostragem (continuação)..... | 71 |
| Figura 13 – Lista de verificação aplicada em cada ponto de amostragem (continuação)..... | 72 |
| Figura 14 – Tabela Limiares de proteção e margem de tolerância para os poluentes físico-químicos – Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho (Anexo I – Tabela I)..... | 73 |
| Figura 15 – Tabela Condições de referência para os poluentes microbiológicos – Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho (Anexo I – Tabela II)..... | 73 |
| Figura 16 – Tabela Condições específicas para CO, quando há excedência de curta duração – Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho (Anexo I – Tabela III)..... | 73 |
| Figura 17 – Tabela Condições específicas para os poluentes microbiológicos – Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho (Anexo I – Tabela IV)..... | 74 |
| Figura 18 – Tabela Condições específicas para os poluentes microbiológicos – Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho (Anexo I – Tabela IV)..... | 74 |
| Figura 19 – Tabela de Feller(<i>Manual do equipamento MAS-100@</i> , 2022)..... | 75 |

Índice de tabelas

| | |
|---|----|
| Tabela 1 – Categorias de classificação dos poluentes (Exemplos)..... | 12 |
| Tabela 2 – Métodos de medição para parâmetro físico – químicos, segundo o Despacho n.º 1618/2022, de 9 de fevereiro..... | 33 |
| Tabela 3 – Métodos de medição para parâmetro microbiológicos, segundo o Despacho n.º 1618/2022, de 9 de fevereiro..... | 33 |
| Tabela 4 – Caracterização dos pontos de medição (Salas)..... | 43 |
| Tabela 5 – Resultados obtidos para os parâmetros físico-químicos..... | 44 |
| Tabela 6 – Quantificação em UFC/m ³ de fungos mesófilos totais por ponto de amostragem. ... | 45 |
| Tabela 7 – Caracterização morfologia de fungos mesófilos por escola..... | 46 |
| Tabela 8 – Identificação presuntiva dos gêneros, baseado nas características morfológicas das colônias de fungos mesófilos..... | 48 |
| Tabela 9 – Quantificação em UFC/m ³ de bactérias mesófilas aeróbias totais por ponto de amostragem..... | 48 |

| | |
|---|----|
| Tabela 10 – Caracterização morfologia de bactérias mesófilas aeróbias por escola..... | 49 |
| Tabela 11 – Resultados dos testes Gram, oxidase, catalase, realizado aos diferentes grupos morfológicos de colónias bacterianas mesófilas aeróbias..... | 50 |
| Tabela 12 – Resultados da identificação das colónias de bactérias mais prevalentes, no VITEK® 2 Compact..... | 53 |
| Tabela 13 – Valores recomendados pela norma técnica NP EN 16798-1:2019 para temperatura e % de humidade relativa..... | 74 |
| Tabela 14 – Perfil de bioquímico da análise do VITEK® 2 Compact para identificação das colónias bacterianas..... | 76 |

Índice de gráficos

| | |
|---|----|
| Gráfico 1 – Distribuição de bactérias Gram -/+ mesófilas aeróbias por escola no volume de 100L..... | 52 |
| Gráfico 2 – Distribuição de bactérias Gram -/+ mesófilas aeróbias por escola no volume de 250L..... | 53 |

1. Introdução

Assim como a água e o solo, também o ar é uma substância essencial à manutenção da vida na terra. O ar caracteriza-se por uma mistura de gases que constitui a atmosfera. Esta envolve todo o planeta Terra, preenchendo o espaço ao nosso redor e suportando processos vitais para organismos vivos (Almeida et al., 2010). A composição natural do ar é, aproximadamente: 78% de azoto, 21% de oxigénio (essencial para a respiração dos seres vivos) e 1% de outros gases como o argón, o vapor de água e o dióxido de carbono (essencial para a fotossíntese). Para compreendermos a importância deste componente, o ser humano por exemplo consegue passar vários dias sem comer, algumas horas sem beber água, mas poucos minutos sem respirar. Como tal, torna-se essencial que este se encontre livre de poluentes ou contaminantes e o mais próximo possível da sua constituição natural (Agência Portuguesa do Ambiente (APA), 2021).

Assim como a qualidade do ar ambiente, também a qualidade do ar interior (QAI) é um fator crítico para a saúde e bem-estar dos ocupantes de edifícios, que afeta cada vez mais pessoas e onde passamos, cada vez mais, a maior parte do nosso tempo (Agência Portuguesa do Ambiente (APA), 2021; Almeida et al., 2010; Andualet et al., 2019; Kotzias et al., 2012).

A *World Health Organization* reconhece esta problemática da exposição a poluentes no ar interior, sublinhando a necessidade de monitorar e melhorar a QAI, particularmente em instituições educacionais, onde uma boa QAI é essencial para promover o desempenho académico, a concentração e o conforto. Refere igualmente, que a qualidade do ar em ambientes escolares deve ser preocupação crescente, especialmente considerando a vulnerabilidade das crianças a contaminantes presentes no ar, sendo particularmente sensíveis aos efeitos dos mesmos devido ao seu sistema respiratório ainda em desenvolvimento e a uma maior taxa de respiração face aos adultos (World Health Organization (WHO), 2021). Acrescido o facto de as crianças permanecerem por longos períodos no mesmo ambiente interior, e a exposição prolongada em ambientes com má qualidade do ar ser um fator de risco para o desenvolvimento ou agravamento de doenças respiratórias, alergias, como por exemplo a asma, uma doença crónica (Dales, R. E et al., 2012; Sadrizadeh et al., 2022; Schultz et al., 2017).

A legislação portuguesa tem acompanhado esta preocupação através de normativas específicas que estabelecem limites para os poluentes em ambientes interiores. A Portaria n.º 138-G/2021, de 1 de julho, define os Limiares de Proteção e critérios de referência para vários poluentes em edifícios de serviços, incluindo Edifícios Escolares.

Entre os principais contaminantes que influenciam a QAI estão os poluentes físico-químicos, que incluem partículas em suspensão, compostos orgânicos voláteis (COVs), dióxido de carbono (CO₂) e poluentes microbiológicos como bactérias e fungos (Sundell, 2004). Assim como a ventilação inadequada e manutenção deficiente, que torna o espaço propício para a acumulação de poluentes, um fator várias vezes associado à má QAI (Li et al., 2021; Madureira, J et al., 2016; Pegas et al., 2012) (Li et al., 2021).

O interesse científico na caracterização microbiológica destes ambientes, têm vindo a aumentar, mas carece de estudos recentes neste assunto em concreto, assim como na identificação do microbiota e presença de bactérias Gram negativas. Onde estas ultimas, justificam o seu interesse particular, devido ao seu potencial de liberação de endotoxinas, substâncias que são um outro grande fator de risco no desenvolvimento de doenças alérgicas e respiratórias (Liebers et al., 2020). Surge assim, este trabalho de investigação, como um contributo para o conhecimento da QAI em escolas do 1º Ciclo do Ensino Básico Português.

1.1. Objetivos do estudo

Os objetivos definidos para esta dissertação foram:

- Caracterizar a QAI nos edifícios escolares do 1º Ciclo do Ensino Básico de um município;
 - Verificar a conformidade com os Limiares de Proteção e critérios de referência definidos na Portaria n.º 138-G/2021, de 1 de julho, para os poluentes em análise;
 - Descrever o perfil microbiota presente nos diferentes Edifícios Escolares e a prevalência de Gram negativas e Gram positivas no ar interior dos referidos edifícios;
 - Comparar as características físico-químicas e microbiológicas entre as escolas.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Qualidade do ar interior (QAI)

A qualidade do ar interior é definida como as "condições do ambiente dentro de edifícios e está relacionada com a concentração de poluentes, como compostos químicos, materiais particulados e contaminantes biológicos, além de fatores como temperatura, humidade e ventilação" (World Health Organization (WHO), 2005, p.35). Em outras palavras a QAI caracteriza a pureza e adequação do ar em ambientes fechados, como escolas, escritórios, residência, entre outros, relativamente à saúde e conforto dos seus ocupantes. No entanto, cada microambiente interior é caracterizado de forma única, e a qualidade do mesmo, depende tanto do ar exterior, como das

emissões de fontes interiores, das características específicas dos edifícios e das atividades que neles se realizam (Majd et al., 2019).

Em média, o ser humano inala entre 10 –14 kg de ar por dia e passa cerca de 90% do seu tempo em ambientes fechados. Como tal, a poluição do ar nestes ambientes, torna-se num grave problema na vida quotidiana das pessoas e onde sem as devidas precauções, os níveis de poluentes podem ser até 2 a 5 vezes superiores aos do ar exterior (Agência Portuguesa do Ambiente (APA), 2021; Almeida et al., 2010; Andualet et al., 2019; Kotzias et al., 2012). É por isso necessário que nestes edifícios sejam aplicados métodos corretivos e preventivos eficazes, para combater e minimizar os problemas existentes na qualidade do ar interior como: bactérias, grãos de pólen, fumaça, humidade, substâncias químicas e gasosas liberadas pela atividade antropogénica que tem efeitos adversos à saúde humana (Almeida et al., 2010; Andualet et al., 2019; Kotzias et al., 2012). Métodos como: garantir uma entrada de ar exterior em quantidade suficiente e limpa, manter os espaços interiores ventilados, utilização de purificadores de ar, adoção de práticas de limpeza desses espaços sem a utilização de produtos de limpeza tóxicos, adoção de práticas de limpeza e manutenção aos equipamentos e sistemas em utilização (como: aquecimento, ventilação e ar condicionado) e escolha de materiais de construção, tintas e mobiliário que possuam baixas emissões de poluentes, minimizam o impacto dos poluentes (Mamuya & Bachwenkizi, 2024). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a poluição do ar interior é o 8º fator de risco mais importante, sendo responsável por 2,7% do conjunto de doenças no Mundo (World Health Organization (WHO), 2021). Doenças como, irritação das vias respiratórias, alergias, dores de cabeça, fadiga, asma, pneumonia, doença pulmonar obstrutiva crónica, cancro de pulmão e até mesmo doenças cardiovasculares, podem resultar da exposição a poluentes do ar interior (Mamuya & Bachwenkizi, 2024; World Health Organization (WHO), 2021). E como tal, este tema têm vindo a receber cada vez mais interesse e preocupação, quer por os utilizadores dos edifícios, quer por projetistas, construtores, instaladores, responsáveis pela gestão dos edifícios e investigadores que tem desenvolvido inúmeros estudos para perceber os seus efeitos na saúde (Agência Portuguesa do Ambiente (APA), 2021; Andualet et al., 2019).

2.1.1. Influência da qualidade do ar ambiente na QAI

A qualidade do ar ambiente (ou exterior) tem uma influência significativa na Qualidade do Ar Interior (QAI), especialmente em edifícios onde há trocas frequentes de ar com o exterior, como em escolas e outros espaços públicos. Os poluentes presentes no ar exterior podem ser facilmente transportados para o interior através de janelas, portas, ou sistemas de ventilação.

Esta troca de ar entre o interior e o exterior é essencial para manter a qualidade do ar interior saudável. A ventilação natural (abertura de janelas) ou mecânica (sistemas HVAC) pode ajudar a diluir contaminantes interiores. No entanto, se o ar exterior estiver poluído, essa ventilação pode, na verdade, piorar a QAI. Para além da possível entrada de poluentes, também as condições exteriores de temperatura e humidade afetam diretamente o ambiente interior. Onde temperaturas altas levaram a um aumento no uso de aquecimento ou ar condicionado, o que pode afetar a qualidade do ar, especialmente se os sistemas de ventilação e filtragem não forem adequados. Assim como a área geográfica e a localização do edifício são igualmente fatores influenciadores, como por exemplo: edifícios localizados próximos a fontes de poluição, como estradas de tráfego intenso, fábricas ou áreas agrícolas, podem sofrer uma maior entrada de contaminantes externos, físico-químicos e biológicos, influenciando negativamente a QAI. Nessas situações, o controle da ventilação e o uso de sistemas de filtragem mais robustos são essenciais (World Health Organization (WHO), 2021).

Vários estudos demonstram estas interações entre o meio ambiente exterior e interior. Li et al., 2021, evidencia que a presença de partículas e microrganismos do ar exterior afeta a microbiota presente no ar interior em escolas, mostrando que a ventilação pode introduzir bactérias e fungos transportados pelo vento ou pelas pessoas que entram e saem do edifício. Pegas et al., 2012, mostram uma forte correlação entre os níveis de poluição do ar exterior e os compostos detetados no ar interior. A concentração de partículas finas ($PM_{2.5}$ e PM_{10}) foi mais alta nas escolas urbanas, enquanto escolas suburbanas apresentaram menores concentrações. Compostos orgânicos voláteis (COVs) também foram encontrados tanto no ar exterior quanto no interior.

Devido ao desenvolvimento industrial, económico e tecnológico assim como o aumento da população mundial, os impactos ambientais, são cada vez maiores (Campos, 2021). A poluição atmosférica, um dos maiores impactos ambientais, é caracterizada pela presença na atmosfera exterior de um ou mais poluentes, ou a sua combinação em quantidades ou com uma duração tal que possam vir a ser considerados nocivos para a vida humana, vegetal e animal ou bens (Campos, 2021). E é a principal causa de um conjunto de graves problemas atuais, tais como: a degradação da qualidade do ar e seus consequentes efeitos na saúde humana (como problemas respiratórios), a degradação dos ecossistemas, a deterioração da camada de ozono estratosférico e as alterações climáticas (Agência Portuguesa do Ambiente (APA), 2021; Direção-Geral da Saúde (DGS), 2024).

O controlo dos poluentes presentes na atmosfera é essencial para proteger a saúde pública, preservar o meio ambiente e garantir a sustentabilidade dos recursos naturais. Medidas como regulamentação de emissões, tratamento de resíduos, tecnologias de descontaminação e consciencialização pública são fundamentais para mitigar os efeitos dos poluentes. É neste ponto que o conceito qualidade do ar é aplicado e definido como: "a medida da pureza ou poluição do ar, determinada pela presença e concentração de certos poluentes em comparação com padrões de qualidade do ar estabelecidos por autoridades de saúde pública e ambientais"(World Health Organization (WHO), 2005, p. 42). Esta avaliação da qualidade do ar é indispensável para que possam ser implementadas as medidas mais adequadas com vista à melhoria dos níveis dos vários poluentes (Agência Portuguesa do Ambiente (APA), 2021). Segundo a Agência Portuguesa do Ambiente (APA), 2021 a qualidade do ar em Portugal é monitorizada através de uma rede de estações de monitorização da qualidade do ar que medem diferentes poluentes atmosféricos e comparam os valores medidos com os padrões de qualidade do ar definidos na legislação. Está atribuída a esta agência, pelo Decreto-Lei n.º 102/2010, de 23 de setembro, a responsabilidade de gestão da qualidade do ar, agindo como autoridade nacional, onde se inclui as seguintes responsabilidades: promoção e implementação de políticas de avaliação e gestão da qualidade do ar ambiente, assegurar o cumprimento das obrigações europeias e internacionais relevantes, acompanhar as matérias relacionadas com a poluição atmosférica e informar e sensibilizar a população, visando a proteção da saúde pública e a qualidade de vida da população. De entre as informações fornecidas pela APA, está igualmente detalhado o índice de Qualidade do ar (AQI), como este é calculado, e quais os limites máximos aceitáveis para os diferentes poluentes (Agência Portuguesa do Ambiente (APA), 2021; Decreto-Lei n.º 102/2010, de 23 de setembro, 2010).

O Índice de Qualidade do Ar (AQI, sigla em inglês para *Air Quality Index*) facilita a comunicação do nível de poluição do ar e risco associado ao público num determinado momento e região, é um valor numérico, que reflita a qualidade do ar numa determinada região, que se converte em Muito Bom, Bom, Médio, Fraco, Mau. É calculado com base nas concentrações de poluentes como: Partículas em suspensão (PM) (PM_{10} e $PM_{2.5}$), Ozono (O_3), Dióxido de Azoto (NO_2), Dióxido de enxofre (SO_2) e Monóxido de carbono (CO) (Agência Portuguesa do Ambiente (APA), 2021). O Decreto-Lei n.º 102/2010, de 23 de setembro, transposto da diretiva 2008/50/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 21 de Maio, define o regime de avaliação e gestão da qualidade do ar ambiente. São aqui definidos, conceitos importantes, responsabilidades das

entidades nacionais, regionais e locais na gestão da qualidade do ar, valores-limite para poluentes atmosféricos e mecanismos que evitam, previnam e reduzam os efeitos nocivos quer para a saúde humana, quer para o meio ambiente em Portugal (Agência Portuguesa do Ambiente (APA), 2021; Decreto-Lei n.º 102/2010, de 23 de setembro, 2010; DIRECTIVA 2008/50/CE, 2008).

A interação entre o ar externo e interno, deve por isso, ser considerada nos estudos sobre QAI, visto que tanto as condições ambientais externas quanto as práticas de ventilação e ocupação influenciam os resultados.

2.1.2. Legislação da qualidade do ar interior

A legislação que regula a QAI visa garantir que os ambientes interiores sejam seguros e saudáveis, protegendo a saúde dos ocupantes contra os efeitos adversos de poluentes. Em Portugal, a política de controlo da qualidade do ar interior, surge na sequência da transposição para o direito interno das Diretivas Europeias, sob a forma de Decreto-Lei.

A Diretiva n.º 2002/91/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 16 de dezembro, relativa ao desempenho energético dos edifícios, foi transposta para a legislação portuguesa pelo Decreto-Lei n.º 78/2006, de 4 de abril, em conjunto com os Decretos-Leis n.º 79/2006 e n.º 80/2006. Estes diplomas foram os primeiros a criar o enquadramento legal para estabelecer o Sistema de Certificação Energética e regulação da Qualidade do Ar Interior dos Edifícios (SCE) em Portugal. Posteriormente, a Diretiva 2010/31/EU, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 19 de maio, vêm substituir a Diretiva 2002/91/CE, introduzindo requisitos mais rigorosos e abrangentes para o desempenho energético dos edifícios na União Europeia. Esta diretiva foi transportada para Decreto-Lei n.º 118/2013, de 20 de agosto, que consolidou e atualizou os regimes anteriores, revogando-os (Decretos-Leis n.º 78/2006, n.º 79/2006 e n.º 80/2006). Atualmente, encontram-se em vigor os Decreto-Lei n.º 101-D/2020, Portaria n.º 138-G/2021, e o Despacho n.º 1618/2022. Nestes são definidos os requisitos legais para os edifícios, as metodologias de medição de poluentes, os limiares de proteção, condições de referência e critérios de conformidade, assim como a obrigatoriedade dos proprietários realizarem uma Avaliação Simplificada Anual (ASA) da qualidade do ar interior, que inclua, no mínimo, a medição dos poluentes físico-químicos CO₂, PM₁₀ e PM_{2,5}, realizada por Técnicos de Saúde Ambiental e os resultados devem ser verificados pela ASAE (Autoridade de Segurança Alimentar e Económica) em Grandes Edifícios de Comércio e Serviços (GES) ou uma Avaliação voluntária solicitada à ASAE para Pequenos Edifícios de Comércio e Serviços (PES). Assim como são definidas as

responsabilidades das várias entidades competentes, envolvidas na QAI (Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE), 2024; Decreto-Lei n.º 101-D/2020 de 7 de dezembro, 2020; Despacho n.º 1618/2022, 2022; Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho, 2021).

O Decreto-Lei n.º 101-D/2020 é o diploma atualmente em vigor que define as exigências de desempenho energético e a qualidade do ar interior nos edifícios em Portugal e que revogou o Decreto-Lei n.º 118/2013 e a Portaria n.º 353-A/2013, de 4 de dezembro. Neste decreto atualizado, são definidos os requisitos mínimos de eficiência energética e qualidade do ar interior para edifícios novos, bem como para edifícios existentes sujeitos a grandes renovações. Constitui igualmente neste decreto, a instalação obrigatória, nestes edifícios, de sistemas de ventilação mecânica ou natural adequados que garantam a renovação contínua do ar interior e a manutenção de níveis seguros de poluentes como CO₂, PM₁₀, PM_{2.5} e compostos orgânicos voláteis (COVs), a obrigatoriedade de realização de inspeções periódicas e manutenção aos sistemas de ventilação e climatização (HVAC). A avaliação da qualidade do ar interior surge também como obrigatória, uma vez que é parte integrante do processo de certificação energética dos edifícios, assegurando que as melhorias na eficiência energética não comprometem a saúde e o conforto dos ocupantes. São atribuídas responsabilidades às seguintes entidades: ADENE – Agência para a Energia, como gestora do Sistema de Certificação Energética dos Edifícios (SCE), emissora dos certificados energéticos e responsável pela supervisão da aplicação dos regulamentos sobre a QAI (como avaliação, manutenção e gestão dos sistemas de climatização); DGS – Direção-Geral da Saúde, supervisora das condições de saúde pública, em edifícios públicos e privados, define orientações e recomendações, podendo colaborar na fiscalização. São também definidos conceitos fundamentais para a QAI como:

«Edifício», a construção coberta, com paredes e pavimentos, destinada à utilização humana e com vista a propiciar condições de conforto térmico que abrange as frações autónomas e as frações suscetíveis de utilização independente;

«Edifício de comércio e serviços», o edifício, ou parte, licenciado ou que seja previsto licenciar para utilização em atividades de comércio, serviços ou similares;

«Edifício de utilização mista», o edifício utilizado, em partes distintas, como edifício de habitação e edifício de comércio e serviços;

«Envolvente do edifício», o conjunto dos elementos de um edifício que separam o seu espaço interior útil, dos espaços não úteis do exterior, do solo e de outros edifícios;

«Grande Edifício de Comércio e Serviços» ou «GES», o edifício de comércio e serviços cuja área útil de pavimento, não considerando os espaços interiores não úteis, iguala ou ultrapassa 1000 m², ou 500 m² no caso de conjuntos comerciais, hipermercados, supermercados e piscinas cobertas;

«Pequeno Edifício de Comércio e Serviços» ou «PES», o edifício de comércio e serviços que não seja um GES; (Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE), 2024; Decreto-Lei n.º 101-D/2020 de 7 de dezembro, 2020).

A Portaria n.º 138-G/2021, de 1 de julho, estabelece os requisitos para a avaliação da qualidade do ar interior nos edifícios de comércio e serviços novos, sujeitos a grande intervenção e existentes, incluindo os limiares de proteção para os níveis de poluentes no ar interior como dióxido de carbono (CO₂), partículas finas (PM₁₀ e PM_{2.5}) e compostos orgânicos voláteis (COVs), as condições de referência para os poluentes do ar interior, a respetiva metodologia de avaliação, critérios de conformidade e para a fiscalização do cumprimento das normas aprovadas. Esta portaria atualiza os regulamentos técnicos sobre ventilação e qualidade do ar interior, reforçando as obrigações impostas aos edifícios, especialmente em contextos críticos para a saúde pública. Introduce diretrizes mais rigorosas para a ventilação natural e mecânica, incluindo a necessidade de sistemas de filtragem e a redução da recirculação de ar contaminado, que diminui a exposição a poluentes. Define critérios técnicos para a atualização das instalações de ventilação, garantindo que estas se mantêm adequadas às necessidades de saúde e eficiência energética (Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho, 2021).

O Despacho n.º 1618/2022, de 9 de fevereiro, introduz medidas adicionais de controlo e monitorização da qualidade do ar interior, com foco em edifícios de uso público, como escolas, hospitais e outros espaços com grande afluência pública e em contextos de maior risco, como no período pandémico. Define os métodos de medição para os poluentes e a definição de zonas e locais de amostragem. Exige igualmente, a realização de uma avaliação simplificada anual para monitorização da qualidade do ar interior, que deverá incluir os níveis de CO₂, PM_{2.5}, PM₁₀ e COVs cujos resultados devem ser reportados periodicamente as autoridades competentes. Menciona igualmente a necessidade de inclusão da medição do radão nos seguintes distritos: Braga, Vila Real, Porto, Guarda, Viseu e Castelo Branco. Se e quando sejam obtidos níveis elevados destes poluentes, é obrigatório a implementação imediata de medidas corretivas, como a melhoria da ventilação e a substituição de filtros nos sistemas HVAC. Atribui aos gestores e proprietários de edifícios a responsabilidade por garantir o cumprimento das normas de QAI, incluindo a

manutenção e inspeção regular dos sistemas de ventilação e por implementar ações corretivas quando necessário (Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE), 2024; Despacho n.º 1618/2022, 2022).

De acordo com Decreto-Lei n.º 101-D/2020, de 7 de dezembro, os responsáveis por edifícios GES têm a obrigatoriedade de proceder à Avaliação Simplificada Anual (ASA). Tendo por base o Despacho 1618/2022, de 9 de fevereiro, a ASA deve incluir na medição os seguintes poluentes: dióxido de carbono e partículas em suspensão. E para efeitos de fiscalização deve-se medir o dióxido de carbono, as partículas em suspensão, os compostos orgânicos voláteis, o monóxido de carbono, o radão e as bactérias e fungos (Decreto-Lei n.º 101-D/2020 de 7 de dezembro, 2020; Despacho n.º 1618/2022, 2022; Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho, 2021).

Para além das entidades ADENE e DGS, mencionadas anteriormente, convém salientar as seguintes, algumas das quais mencionadas anteriormente, como a: Agência Portuguesa do Ambiente (APA), responsável pela monitorização da qualidade do ar exterior, adquire na QAI um papel consultivo e informativo, em questões de poluição do ar, que afetem o interior; Inspeção-Geral do Ambiente e Ordenamento do Território (IGAOT), fiscalizadores de incumprimentos das normas ambientais ou de segurança pública, tornando-se intervenientes quando estes se encontrem em risco ou ameaça; Câmaras Municipais, assumem um papel ativo na gestão dos edifícios públicos, sendo a principal entidade responsável, por garantir o cumprimento das obrigações legais, associados aos proprietários, assim como a gestão urbanística e à fiscalização de edifícios quanto à verificação do cumprimento de normas de construção (licenças de utilização), licenciamento de atividades e manutenção de infraestruturas em edifícios (certificação de edifícios) (Agência Portuguesa do Ambiente (APA), 2021).

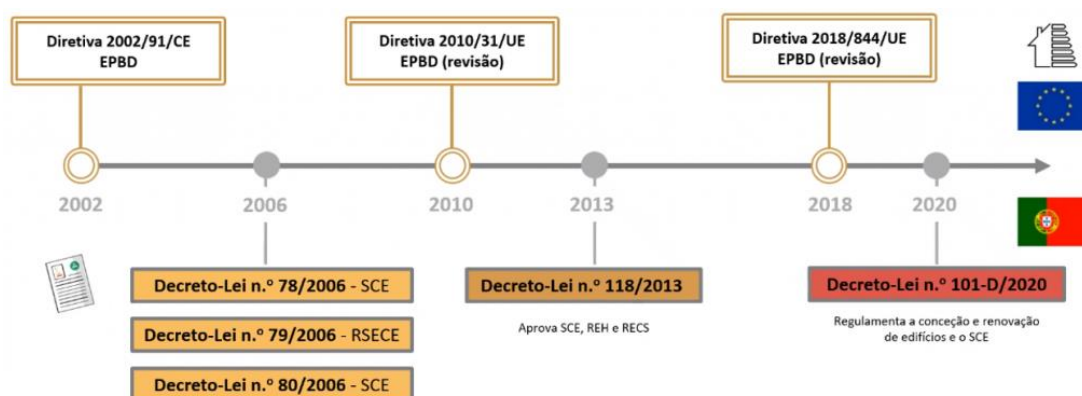


Figura 1 – Linha temporal da legislação na qualidade do ar interior. (ADENE – Agência para a Energia, 2024)

Para além da legislação, as normas e normas técnicas orientam, igualmente o controlo da qualidade do ar interior, como as normas da Entidade Nacional de Certificação (IPAC), normas da Associação Portuguesa de Normalização (IPQ) e da Agência para a Energia (ADENE). São inclusive referidas na legislação mencionada anteriormente e são fundamentais para garantir a conformidade legal, especificar critérios de desempenho e fornecer diretrizes para a avaliação e manutenção da QAI. Facilitam e orientam os profissionais na aplicação da legislação, gestão e manutenção da qualidade do ar interior em edifícios. Encontram-se em vigor em Portugal as seguintes normas: EN 13098:2019, NP 4489:2015, NP EN 16798-1:2019, NP EN 16798-3:2019, EN 16484-1:2014, EN 16484-2:2014, série NT-SCE-(01 – 05), NP EN 15780:2011 e a serie ISO 16000, onde as EN são normas europeias e NP normas portuguesas (ADENE – Agência para a Energia, 2024; Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE), 2024; Decreto-Lei n.º 101-D/2020 de 7 de dezembro, 2020; Despacho n.º 1618/2022, 2022; Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho, 2021).

A EN 13098:2019, especifica os métodos para a medição de microrganismos, como bactérias e fungos, no ar interior. Inclui métodos de amostragem e análise, assim como a sua versão portuguesa a NP 4489:2015. Esta última, aborda igualmente a amostragem e análise de microrganismos (bactérias e fungos) no ar interior, fornecendo métodos para avaliar a presença e a concentração destes, assim como fornece orientações sobre as medidas a serem tomadas para controlar e reduzir a presença de microrganismos no ar interior, se necessário.

A Norma Portuguesa NP EN 16798-1:2019, possui na sua base a homónima norma europeia EN 16798-1:2019, que define critérios e parâmetros para o ambiente interno, incluindo qualidade do ar interior, aplicáveis ao projeto e à avaliação de eficiência energética dos edifícios. estabelece os limites para concentrações de poluentes interiores, ventilação e outros parâmetros que afetam a qualidade do ar interior como o conforto térmico, bem como serve de base para a avaliação da QAI nos processos de certificação energética.

A Norma Portuguesa NP EN 16798-3:2019 tem por foco a ventilação de edifícios não residenciais, como escritórios e escolas, estabelecendo requisitos para o desempenho dos sistemas de ventilação e climatização. Define as condições de qualidade do ar, níveis de ventilação e procedimentos de manutenção para garantir ambientes interiores saudáveis. Especifica as taxas de renovação de ar e os métodos de controlo de poluentes.

A EN 16484-1:2014, define métodos para medir compostos orgânicos voláteis (COVs) no ar interior, que podem afetar a saúde e o conforto dos ocupantes.

A EN 16484-2:2014, especifica os métodos para a medição de partículas finas no ar interior, que são importantes para avaliar a qualidade do ar e os riscos para a saúde.

A serie NT-SCE-(01-05), são instrumentos imitados no âmbito do Sistema de Certificação Energética (SCE) de edifícios em Portugal. Estas notas estabelecem orientações técnicas e clarifica aspetos regulatórios para os intervenientes no processo de certificação energética de edifícios quanto a eficiência energética dos mesmos. Na qualidade do ar, obtemos orientações para avaliar o isolamento térmico, ventilação, sistemas de aquecimento, entre outros.

A NP EN 15780:2011 define os procedimentos e critérios para a inspeção, limpeza e manutenção das redes de condutas em sistemas de ventilação, fundamentais para manter a qualidade do ar interior, com o objetivo de minimizar a presença de contaminantes no ar transportado pelos sistemas HVAC.

A NP 1037-1:2002, define os parâmetros de qualidade do ar interior e os métodos para a medição de poluentes em ambientes fechados. Embora que ainda se encontre em vigor, realça-se a importância de considerar normas mais recentes, especialmente para os métodos de medição, que poderão estar nesta, desatualizados, como por exemplo a série ISO 16000 (Partes 1 a 28).

A Série ISO 16000 é amplamente reconhecida e adotada para a avaliação da qualidade do ar interior, oferecendo diretrizes detalhadas sobre métodos de amostragem, análise de poluentes, avaliação da qualidade do ar em ambientes fechados e inclui especificações para medições de vários poluentes, estratégias de amostragem e métodos de teste microbiológico. Cobre uma ampla gama de parâmetros, incluindo CO₂, partículas, compostos orgânicos voláteis (COVs), e outros poluentes relevantes para a saúde (ADENE – Agência para a Energia, 2024; Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE), 2024; Decreto-Lei n.o 101-D/2020 de 7 de dezembro, 2020; Despacho n.o 1618/2022, 2022; Portaria n.o 138-G/2021 de 1 de julho, 2021).

2.2. Poluentes físico-químicos

Os poluentes são substâncias ou agentes que, tal como mencionado anteriormente, quando introduzidos num ambiente, alteram a sua constituição natural e podendo causar efeitos adversos ou nocivos. Os poluentes mais associados à qualidade do ar são: Partículas em suspensão (PM) (como PM₁₀ e PM_{2.5}), Ozono (O₃), Compostos Orgânicos Voláteis (COV) (como benzeno, formaldeído, tolueno), Óxidos de Azoto (NO_x), Dióxido de enxofre (SO₂), Monóxido de carbono (CO), Amoníaco (NH₃), Benzeno (C₆H₆) e Metais pesados (como Chumbo (Pb), Mercúrio (Hg), Cádmio (Cd)). Mediante a sua origem, natureza e composição química terão impactos diferentes na atmosfera, que associado ainda à sua quantidade e duração da sua presença,

influenciará o seu nível de efeito nocivo. Estas diferentes características e impactos permitem classificá-los em diferentes categorias, que permite uma melhor compreensão destes contaminantes e como estes interagem com o meio ambiente e saúde pública, facilitando o desenvolvimento e adoção de políticas e estratégias de controlo adequadas para conter a poluição ambiental (Agência Portuguesa do Ambiente (APA), 2021; European Environment Agency, 2024; World Health Organization (WHO), 2021).

Tabela 1 – Categorias de classificação dos poluentes (Exemplos)

| Categoria | Classificação dos poluentes |
|--------------------------------|--|
| Origem | Primários , quando são emitidos diretamente para a atmosfera; |
| | Secundários , quando resultam de reações químicas, na atmosfera, entre os poluentes primários ou entre estes e os constituintes naturais desta; |
| Estado físico | Gasosos , quando se encontram na forma gasosa em condições atmosféricas normais; |
| | Particulados , quando se encontram em estado sólido ou líquido, suspensos no ar, conhecidos como partículas em suspensão (MP); |
| Composição química | Orgânicos , quando contém a ligação carbono e hidrogénio; |
| | Inorgânicos , quando não existe essa ligação; |
| Efeito no meio ambiente | Climáticos , quando o contaminante contribui diretamente para o aquecimento global e mudanças climáticas; |
| | Saúde pública quando o seu impacto age diretamente e negativamente na saúde humana; |
| Fontes emissoras | Fontes antropogénicas , todas as que resultam de atividades humanas, como a atividade industrial ou o tráfego automóvel; |
| | Fontes naturais , englobam fenómenos da natureza tais como emissões provenientes de erupções vulcânicas, incêndios florestais de origem natural e tempestades de areia em regiões áridas. |

(European Environment Agency, 2024; World Health Organization (WHO), 2021)

Nas últimas décadas assistiu-se a um aumento das concentrações de pólenes e poluentes no ar. Este aumento acompanha o aumento do número de pessoas que apresentam sintomas alérgicos (por exemplo, rinite alérgica, conjuntivite e asma). Globalmente, 3,8 milhões de mortes foram atribuídas à poluição do ar em ambientes fechados em 2016. Mais de 90% das mortes relacionadas com a poluição atmosférica ocorrem em países de baixo e médio rendimento,

principalmente na Ásia e África, seguidos por países de baixo e médio rendimento da região do Mediterrâneo Oriental, Europa e Américas (Almeida et al., 2010; Anduaem et al., 2019; European Environment Agency, 2024; Kotzias et al., 2012). Então controlar é a palavra-chave.

2.3. Poluentes biológicos

Os poluentes biológicos, também conhecidos como bioaerossóis, podem ser definidos como partículas de origem biológica presentes na atmosfera. Sendo uma denominação bastante ampla, inclui por isso, uma vasta gama de organismos e substâncias biológicas, como: bactérias, vírus, fungos, esporos de fungos, pólen, endotoxinas, micotoxinas e fragmentos de plantas e animais. Podem causar diversos problemas de saúde, especialmente doenças respiratórias e alérgicas, como doença dos legionários, tuberculose, aspergilose, rinoconjuntivite alérgica, asma, entre outras. Sendo de modo geral as infecções respiratórias causadas por vírus e bactérias e as alergias por de alérgenos como pólen e esporos de fungos (Jomehzadeh et al., 2019; Monoson et al., 2023). Apesar da sua importância, em possíveis contaminações na atmosfera, é sobretudo nos ambientes fechados que surgem riscos mais significativos, devido há alta concentração de pessoas, menor circulação de ar, temperaturas e humidades mais elevadas. São transportados pelo ar em ambientes internos e provêm de diferentes fontes: humanos, animais, plantas, sistemas de aquecimento, ventilação e ar condicionado (HVAC) e materiais de construção, onde espaços com poucas ou ineficazes medidas corretivas e preventivas de manutenção da qualidade do ar, facilitarão a propagação e presença (Anduaem et al., 2019; Jomehzadeh et al., 2019). Só os bioaerossóis contribuem com cerca de 5 a 34% da poluição do ar interior, sendo por isso um poluente de interesse a controlar, quer pela sua presença, quer pelo impacto significativo na saúde pública (Anduaem et al., 2019). Tornam-se assim, de elevada importância a controlar em locais públicos ou privados onde possam estar presentes pessoas imunodeprimidas, tais como doentes oncológicos ou outros, ou seja, hospitais, ou pessoas com sistemas imunológicos mais sensíveis ou menos ineficientes, como o sistema imunológico de crianças e idosos, ou seja lares, escolas e creches. Nestes locais estes poluentes podem ser extremamente perigosos, pois um sistema imunológico menos eficiente, não conseguirá combater os mesmos, sendo desenvolvidos quadros de doenças mais graves (Simon et al., 2015). Para além da importância do perfil das pessoas que poderão ocupar os espaços, também cada espaço terá um perfil de características específico (perfil bacteriano, fúngico, temperatura, humidade e outros), influenciado pelo número de pessoas, atividades realizadas e condições ambientais exteriores).

2.3.1. Bactérias

As bactérias estão entre as formas de vida mais primitivas e podem ser encontradas em praticamente todos os ambientes da terra, incluindo solo, água, ar e no interior de outros organismos vivos. São microrganismos unicelulares e procariotas (possuem apenas a molécula circular de DNA situada numa zona da célula, denominada nucleóide) e possuem diferentes características quanto a sua forma, constituição, resistências, entre outras (Argyropoulos et al., 2023; Engelkirk & Duben-Engelkirk, 2012; Madigan et al., 2018; Willey et al., 2020). Possuem parede celular, como proteção, que pode ser mais ou menos rígida, mediante a bactéria e algumas possuem inclusive cápsula, o que afeta diretamente a resistência das bactérias a possíveis ataques do sistema imunológico, agentes químicos como antibióticos, agentes físicos como a temperatura e humidade, entre outros, sendo mais resistentes as que possuem cápsula e as que possuem paredes mais rígidas. Algumas possuem ainda estruturas externas a mesma que a facilitam a sua locomoção ou adesão a superfícies ou células, como flagelos, pili ou fímbria. Podem assumir diferentes tamanhos entre 0,5 a 5,0 micrômetros, visíveis por isso apenas em microscópio e adquirindo diferentes formas, como: esféricas (Cocos), cilíndricas ou em bastonetes (Bacilos), forma de espiral ou hélice (Espiroquetas ou Espirilos) ou em forma de virgula (vibriões). Através da coloração de Gram e do tipo de estrutura da parede celular, é possível caracterizá-las em duas grandes classificações: Gram negativas e Gram positivas. As bactérias podem ser autotróficas (produzir o seu próprio alimento, por fotossíntese ou quimiossíntese) ou heterotróficas (obtêm nutrientes de outros organismos). Na sua maioria possuem uma reprodução assexuada, por fissão binária, onde uma célula se divide em duas geneticamente idênticas, característica que permite a evolução das mesmas, onde qualquer resistência que adquiram, será passada às seguintes no processo de divisão. Vários fatores, ambientais, nutricionais e biológicos, podem influenciar a sua capacidade de crescimento e propagação, tais como: temperatura, humidade, pH, oxigénio, nutrientes, luz e presença de outras bactérias. Cada género de bactéria possui a sua faixa ótima de temperatura de crescimento, sendo classificadas em psicrófilas (crescem em baixas temperaturas, -5°C e 15°C), mesófilas (temperaturas moderadas, 20°C a 45°C), termófilas (altas temperaturas, 45°C e 70°C) e hipertermófilas (temperaturas extremamente altas, acima de 70°C). Onde as mesófilas têm especial interesse para nós, uma vez que é nestas faixas que as patogênicas para os humanos se encontram, pois, a temperatura corporal humana (37°C) está dentro dessa faixa. A presença de água é crucial para o crescimento bacteriano, pois é essencial para as suas funções metabólicas,

como tal ambientes mais húmidos, com percentagens de humidades relativas superiores a 60–70%, são ideais para a maioria das bactérias e favorecedores da proliferação bacteriana. Tal como a temperatura, cada género de bactéria têm uma faixa de pH adequada ao seu crescimento, onde a maioria das bactérias, têm a sua zona ótima de crescimento em pH neutros (pH 7), mas algumas estão adaptadas a crescer em ambientes ácidos ou alcalinos, ambientes mais inóspitos. As necessidades de oxigênio afeta diferentemente cada género de bactéria, algumas requerem obrigatoriamente a presença de oxigênio para crescerem (Aeróbios obrigatórios), enquanto outras crescem na ausência do mesmo (anaeróbios obrigatórios) e outras são independentes da sua presença (facultativas). A presença de nutrientes adequados, como o carbono, nitrogênio, vitaminas e minerais, é essencial para o crescimento bacteriano, onde a sua disponibilidade limita ou promove o crescimento conforme o ambiente em que se encontrem. A luz afeta as bactérias de duas formas, necessário para a proliferação das bactérias, ou seja, todas as que são autotróficas por fotossíntese, e que como tal, necessitam de luz para o seu crescimento e em contrapartida, uma ação inibitória, como o caso da luz ultravioleta (UV), que inibe o crescimento bacteriano ao danificar o seu DNA. As bactérias interagem com o meio que a rodeia, assim como outros organismos, podendo estabelecer relações entre si de competição, cooperação ou inibição, onde podem até produzir substâncias que inibam o crescimento de outras bactérias, as bacteriocinas. Como tal, a presença de outras bactérias e organismos afetam o crescimento e propagação da bactéria, podendo favorecer ou inibir. Estes fatores, afetam por isso o género de bactérias que encontramos em diferentes ambientes, como por exemplo: ambientes frios com pouca ou nenhuma luz solar como caso de águas profundas do oceano e regiões polares, ambientes quentes e húmidos como o caso de fontes termais, hidrotermais e geiseres, ambientes quentes, húmidos como pouca luz solar, florestas tropicais e outros. Esses mesmos fatores, tornam-se características que facilitam a identificação destas bactérias, pois bactérias presentes em locais com águas profundas dos oceanos, não terão a capacidade de propagar em ambientes amenos ou quentes, assim como bactérias de ambientes mais amenos, não estarão presentes em ambientes mais inóspitos, e vice-versa. Para além deste carácter identificativo, estes fatores também permitem uma melhor compreensão do comportamento das mesmas e podem ser usados como medidas preventivas e corretivas de redução e combate a contaminações das mesmas. Medidas como manter a temperatura, abaixo de 20°C e uma humidade relativa abaixo de 60% sempre que possível, são um exemplo dessa utilidade(Engelkirk & Duben-Engelkirk, 2012; Madigan et al., 2018; Willey et al., 2020). Estes seres, podem ser patogénicos e como tal

altamente perigosos para nós, mas são, ao mesmo tempo, extremamente importantes, desempenhando papéis vitais no ecossistema como a reciclagem de nutrientes (pois decompõem a matéria orgânica e a fixam o nitrogênio), a relação simbiótica com outros organismos (como as bactérias intestinais que ajudam na digestão e síntese de vitaminas em humanos e animais), a sua utilização na biotecnologia (como produção de alimentos fermentados e bebidas) e a sua utilidade como biorremediação (onde são usadas para a limpeza de ambientes contaminados, degradando poluentes tóxicos) (Argyropoulos et al., 2023; Engelkirk & Duben-Engelkirk, 2012; Madigan et al., 2018; Willey et al., 2020). Estudos demonstram que o ar interior pode abrigar uma grande diversidade de espécies bacterianas, sobretudo aquelas que fazem parte da microbiota humana, mas também de origem ambiental (Chawla et al., 2023).

2.3.2. Fungos

Os fungos são microrganismos eucariotas, possuindo um núcleo, outros organelos envoltos por membranas e parede celular. São por isso organismos mais complexos que as bactérias. Mas em contrapartida, não possuem a capacidade de produzir o seu próprio alimento, sendo denominados heterotróficos, absorvendo os nutrientes que necessitam do ambiente. E como tal, necessitam de estabelecer relações com outros microrganismos e o meio ambiente. Na sua maioria, os fungos, estabelecem relações saprófitas, sendo os responsáveis pela decomposição da matéria morta e reciclando nutrientes no ambiente, um papel ecológico vital para ecossistema. Mas existem também fungos que estabelecem relações de simbiose, sendo parasitas (prejudicando o organismo hospedeiro) ou mutualistas (ambos os intervenientes são beneficiados). Um exemplo importante para o ecossistema, de uma relação mutualista, é o caso da micorrizas, nesta relação, os fungos interagem com as raízes de plantas e auxiliam a mesma na absorção de água e minerais do solo, obtendo em troca, carboidratos produzidos pela planta através da fotossíntese, esta relação é essencial para a saúde do solo e a produtividade agrícola. Para além destes dois papéis cruciais para o ecossistema, em função do tipo de relação que estabelecem e os processos que desenvolvem para captação dos nutrientes do meio, podem ser ainda ser utilizados nas indústrias alimentares, farmacêuticas e biotecnológicas. Os fungos possuem a capacidade de se reproduzir de forma sexual (entre dois indivíduos diferentes) ou de forma assexual (um único indivíduo) por processos como: esporulação, fragmentação das hifas ou brotamento. Fazem parte deste grupo igualmente: as leveduras, bolores e cogumelos (Engelkirk & Duben-Engelkirk, 2012; Madigan et al., 2018; Willey et al., 2020). Para além do importante impacto na saúde humana, também deve ser tido em consideração, a possibilidade

de os mesmos afetarem a integridade das edificações. Assim como as bactérias, fatores ambientais e biológicos como humidade, nutrientes, temperatura, pH, presença de oxigénio, luz e outros microrganismos, influenciam o crescimento e propagação fúngica. A humidade é essencial ao crescimento fúngico, que necessitam de humidades relativas superiores a 60%. Os nutrientes, devido a falta de capacidade de autoprodução dos fungos, adquirem aqui, um papel importante, na qual necessitam de uma fonte de carbono, nitrogénio, vitaminas e minerais, tais como substratos ricos em matéria orgânica (madeira, folhas em decomposição e solo), para subsistirem. Tal como as bactérias, também os fungos possuem temperaturas ótimas, sendo que a maioria tem a sua faixa de temperatura ótima entre 20°C e 30°C. Os fungos, ao contrário das bactérias, têm uma maior capacidade de se adaptar a diferentes condições ambientais, e quanto ao pH, conseguem tolerar uma ampla faixa de pH, sendo que são mais ativos em ambientes ligeiramente ácidos (entre 4 e 6). O oxigénio, para a maioria dos fungos que são aeróbios, sendo por isso um fator crítico. Alguns fungos podem crescer em condições anaeróbias, mas a sua atividade e crescimento é geralmente limitado em ambientes com baixo oxigénio. Quanto a luz, esta pode influenciar de duas formas. Tal como nas bactérias, a luz ultravioleta pode inibir o crescimento de algumas espécies. Mas noutras, a luz é essencial para a produção de esporos, necessitam da luz para que o processo de esporulação possa ser desencadeado. Devido a necessidade de interações com outros organismos, a presença de outros organismos também se torna um fator essencial para a presença fúngica, para a obtenção de nutrientes, fazendo com que se desenvolvam, quer pela presença de espécies que possam ser competitivas e desenvolvam alguma ação ou processo inibidor ao desenvolvimento de fungos. Posto isto, a presença de fungos em ambientes internos é bastante comum, principalmente em áreas com alta humidade como o caso de casas de banho, porões, cozinhas e espaços com ventilação inadequada, e em materiais porosos como a madeira, papel e tecidos. Um dos métodos de reprodução fúngico, a esporulação, ou seja, a criação de esporos, é bastante prejudicial para a saúde humana, agravando-se em ambientes internos. Onde a inalação desses esporos, pode causar ou agravar condições respiratórias, como asma e rinite alérgica. A gravidade e o tipo de problema desencadeado, depende da sensibilidade do indivíduo, do tipo de fungo presente e da quantidade de esporos inalados. Face as características, aqui apresentadas, medidas de controlo de humidade como ventilação adequada, manutenções à canalização para prevenção e contenção precoce de fugas de água, limpeza regular das áreas e utilização de desumidificadores, são importantes para prevenir e controlar o aparecimento, crescimento e propagação fúngica,

aumentado a qualidade do ar interior (Engelkirk & Duben-Engelkirk, 2012; Madigan et al., 2018; Willey et al., 2020).

2.3.3. Outros poluentes biológicos

Outros poluentes biológicos que possuem igual interesse na qualidade do ar interior, devido a sua capacidade de impactar a saúde humana, são: pólen, vírus, fragmentos de insetos e ácaros (Pawankar, 2014).

O pólen é uma partícula fina e microscópica, produzida pelas plantas com flores durante os seus processos de reprodução e transportada pelo ar (vento), insetos e água para outras plantas da mesma espécie. É essencial nesse processo, pois é o que permite a formação de sementes, e para a biodiversidade total. É um alergénio que pode causar diversos problemas respiratórios e reações alérgicas em indivíduos sensíveis, como rinite alérgica, febre do feno entre outros, sobretudo nos períodos de primavera e verão, coincidentes com a maioria dos ciclos reprodutores dessas plantas (Al Hallak et al., 2023; D'Ovidi et al., 2021). Segundo a *World Allergy Organization* (WAO), a presença deste grão é bastante comum, quer em áreas rurais, com forte presença de vegetação nas imediações ou em áreas urbanas, e deve ser tido em consideração aquando do planeamento das medidas de manutenção de edifícios. Face a estas características são necessárias medidas de mitigação como: manter janelas e portas fechadas durante a estação de alta polinização (primavera e verão), limpeza regular de superfícies e pisos para remoção de partículas de pólen depositadas e uso de filtros de ar de alta eficiência (HEPA) em sistemas de ventilação e ar condicionado (Al Hallak et al., 2023; D'Ovidi et al., 2021; Pawankar, 2014).

Os vírus são agentes infecciosos microscópicos, constituídos por material genético (DNA ou RNA) envolto por uma camada proteica, e alguns vírus possuem uma membrana lipídica externa. Para se que se possam propagar e multiplicar, ou seja replicar, necessitam de uma célula hospedeira e da sua estrutura celular (material genético e organelas). São por isso considerados parasitas intracelulares obrigatórios, que provocarão dano no hospedeiro e responsáveis por uma ampla gama de doenças em seres humanos, animais e plantas. São transportados pelo o ar em gotículas ou aerossóis, podem permanecer suspensos no ar em ambientes fechados mal ventilados ou com elevada ocupação, e depositarem-se em superfícies, onde podem sobreviver por um período e potencialmente infetar pessoas que toquem nessas superfícies (Argyropoulos et al., 2023; Madigan et al., 2018; Willey et al., 2020). É importante a aplicação de medidas preventivas e corretivas, que permitam diluir a concentração e presença dos vírus, mitigando o risco de transmissão viral e assim melhorando a qualidade do ar interior. Medidas como, desinfeção

regular de superfícies, controlos de ocupação, utilização de sistemas de ventilação e filtragem de ar (introdução de ar externo e circulação do ar interno e uso de filtros de alta eficiência (HEPA)) e purificadores de ar, para diluir a concentração dos vírus, manutenção do nível de humidade para níveis adequados que evitem que as mucosas fiquem secas e por isso mais suscetíveis a infeções e por outro lado minimize a propagação do ar através de aerossóis e formação de gotículas, utilização de luz ultra violeta para inativação do vírus (Monoson et al., 2023; Willey et al., 2020). Os fragmentos de insetos são partículas microscópicas que podem ser patas, asas, exoesqueletos e outros resíduos orgânicos que resultam da decomposição ou da fragmentação desses organismos. Enquanto os ácaros, em particular, são pequenos aracnídeos que frequentemente habitam ambientes domésticos, especialmente em colchões, estofados, carpetes, e roupas de cama. São ambos, igualmente potentes alérgenos, capazes de desencadear reações alérgicas em pessoas sensíveis, com sintomas como espirros, congestão nasal, prurido, e asma, quando as partículas desses são inaladas. A exposição contínua a esses alérgenos em ambientes internos pode agravar condições respiratórias crônicas, especialmente em crianças, idosos, e pessoas com doenças respiratórias pré-existentes. Tal como os anteriores poluentes, a falta de ventilação, manutenção e limpeza dos equipamentos de ventilação e arrefecimentos, assim como das áreas interiores dos edifícios, favorece a acumulação destes poluentes, tornando-se uma fonte significativa de poluição do ar interior. Como tal os seus controlos têm importância e devem ser aplicadas medidas como: limpeza regular das áreas e mobiliário e uso de aspiradores com filtros HEPA para uma remoção eficaz de fragmentos de insetos e ácaros; lavagem frequente de roupas de cama a altas temperaturas, e a manutenção de baixos níveis de humidade (abaixo de 50%) para inibir o crescimento de ácaros e uma ventilação adequada crucial para reduzir a concentração de alérgenos no ar (Al Hallak et al., 2023; Argyropoulos et al., 2023; D'Ovidi et al., 2021; Monoson et al., 2023).

2.3.4. Endotoxinas

As endotoxinas são moléculas lipopolissacáridicas e complexas, constituem a parede celular de bactérias Gram-negativas, sendo um componente estrutural da mesma. Esta molécula é libertada no ambiente, quando essas células bacterianas morrem ou se dividem, principalmente através de partículas de poeira ou aerossóis. Podem ser encontradas em uma variedade de ambientes, incluindo solo, água, plantas e, especialmente, em ambientes fechados onde há acúmulo de poeira e humidade. Uma vez no ambiente, as endotoxinas demonstram uma notável resistência, podem persistir por períodos variáveis, tanto em ambientes internos quanto

externos, dependendo de fatores ambientais como temperatura, humidade, luz solar, e da natureza das partículas que as transportam ou das superfícies onde se depositam (Liebers et al., 2020; Niu et al., 2020; Rolph et al., 2018). Mas apesar de sensíveis a fatores ambientais, estes não são suficientes para eliminar as endotoxinas, mas sim influenciar a sua persistência, podendo esta ser curta, média ou longa (Liebers et al., 2020; Niu et al., 2020; Salonen et al., 2016; Tehrani et al., 2024).

Podem persistir durante um curto prazo de tempo, quando em ambiente interno, onde as endotoxinas presentes em partículas suspensas no ar (aerossóis) podem permanecer ativas por várias horas a dias (24 a 48 horas), uma vez que nestes locais, possuem uma ventilação adequada ou sob a ação de fatores de deposição, como a gravidade ou filtração do ar, a concentração de endotoxinas no ar tende a diminuir rapidamente. Em áreas internas com ventilação inadequada, as mesmas podem permanecer ativas até 5 dias (Niu et al., 2020; Salonen et al., 2016; Tehrani et al., 2024).

Ou podem persistir durante um médio prazo, quando em ambientes externos, onde as endotoxinas se fixam a partículas maiores de poeira, elas podem persistir por semanas. Estudos demonstram que, em condições ambientais adversas (como alta radiação UV, baixa humidade ou temperaturas extremas), pode acelerar a sua degradação, diminuindo a sua viabilidade, mas não eliminada completamente. Verificando-se que uma exposição das endotoxinas à radiação UV reduz a sua viabilidade das mesmas em cerca de 50% após 72 horas, e onde com o aumento da temperatura, a sua degradação é acelerada podendo inativar entre a 60-80% das endotoxinas em 48 horas. No entanto a alta humidade reduz a eficácia da degradação, permitindo que até 40% das endotoxinas permanecessem viáveis após uma semana (Salonen et al., 2016; Wang et al., 2019).

Ou por um longo prazo, quando depositadas em superfícies, como móveis e carpetes, as endotoxinas podem permanecer viáveis por períodos prolongados, variando de semanas a meses, dependendo das condições ambientais, como humidade e temperatura. Assim como em ambiente externos, onde se depositam no solo e vegetação. Em superfícies de ambientes internos, especialmente em sistemas de ventilação onde a limpeza é rara e ventilação insuficiente, as endotoxinas podem permanecer viáveis até 6 meses (Salonen et al., 2016).

O tipo de material onde as endotoxinas se depositam, também afeta diretamente a sua resistência e presença no ambiente interno, como por exemplo: superfícies porosas como madeira, tecidos e carpetes e não porosas como plástico, vidro e aço inoxidável. Onde as

superfícies porosas, aumenta a sua permanência, até 2 semanas. Enquanto que, em superfícies não porosas, a atividade biológica das endotoxinas diminuiu significativamente em 24 a 48 horas. Embora superfícies porosas retenham endotoxinas por períodos mais longos, métodos de limpeza regulares, especialmente os que utilizam desinfetantes eficazes, são essenciais para minimizar a exposição (Rolph et al., 2018; Salonen et al., 2016; Sousa, 2022).

Um outro ponto essencial para o controlo da presença e atividade das endotoxinas, para além dos já falados é os produtos de limpeza utilizados. O hipoclorito de sódio continua a ser um dos desinfetantes mais eficazes para a inativação de endotoxinas, com uma redução significativa na sua atividade biológica (de minutos a horas), dependendo da sua concentração. Outros produtos, como os desinfetantes à base de álcool, são também eficazes, mas em menor grau, e o peróxido de hidrogênio que demonstra eficácia moderada.

Igualmente que os métodos de limpeza como a aspiração associada ao uso de desinfetantes, reduzem significativamente, mas não eliminam completamente, a atividade das endotoxinas (Amin et al., 2023; Rolph et al., 2018; Salonen et al., 2016).

Como tal, as endotoxinas são resistentes a várias condições ambientais, mas a combinação de luz UV, temperaturas elevadas, baixa humidade, boa ventilação associada a filtragem de ar, como filtros HEPA, prova ser eficaz para reduzir significativamente sua concentração e atividade biológica em ambientes internos e externos, e em contra partida, má ventilação, falta de uso de filtros, má manutenção e limpeza das área e equipamentos, elevada humidade favorecera a permanência das endotoxinas no ambiente interno, o que representa um risco contínuo à saúde, e onde é imperativo estratégias rigorosas de higiene e controlo de humidade. Fica também presente que a utilização de materiais porosos deve ser evitada e a utilização de métodos de limpeza como a aspiração e o uso de desinfetantes à base de hipoclorito de sódio ou em alternativa à base de álcool (Liebers et al., 2020; Niu et al., 2020; Rolph et al., 2018; Salonen et al., 2016).

Quando presentes no ar, podem ser inaladas, o que pode ocorrer durante atividades como limpeza, construção, agricultura e processamento de alimentos. Em ambientes de trabalho, podem ser encontradas concentrações médias de endotoxinas no ar de 10 a 50 EU/m³, com picos de até 500 EU/m³ em situações específicas, como fábricas de processamento de grãos. (Salonen et al., 2016) O valor limite de endotoxinas no ar (medido em EU/m³, unidades de endotoxinas por metro cúbico) não é uniformemente regulado a nível global, e ainda não existe um consenso internacional para um limite seguro de exposição a endotoxinas em ambientes

internos, como há para outras substâncias como poeiras ou elementos químicos. Apesar desta ausência de uma regulamentação oficial clara para endotoxinas, alguns estudos e organizações propõem limites orientativos com base na pesquisa e diretrizes voluntárias sobre os efeitos na saúde. O *Institute for Occupational Safety and Health (IOSH)* no Reino Unido recomenda que 100 EU/m³ seja considerado um nível de ação para ambientes ocupacionais, o que significa que ações devem ser tomadas para reduzir a exposição acima desse nível. O estudo Douwes et al., 2003, sugere que concentrações acima de 50 EU/m³ podem estar associadas ao aumento do risco de doenças respiratórias, como asma ocupacional, especialmente em ambientes de trabalho como fazendas e fábricas de processamento de alimentos, e que, em ambientes não-ocupacionais (residenciais), as concentrações geralmente são mais baixas, onde níveis superiores a 10 EU/m³ podem estar associados ao aumento de sintomas respiratórios em indivíduos suscetíveis, como aqueles com alergias ou asma.

A exposição a níveis elevados de endotoxinas pode causar uma série de efeitos adversos à saúde, incluindo irritação respiratória, asma, bronquite, exacerbação de doenças respiratórias preexistentes e em casos mais graves, inflamação sistêmica e doenças cardiovasculares (Liebers et al., 2020; Rolph et al., 2018). Segundo Liebers et al., 2020 exposições prolongadas foram correlacionadas com um aumento de 20% nos casos de asma ocupacional.

Os efeitos das endotoxinas no ser humano são complexos e a gravidade dos mesmos depende da toxicidade das endotoxinas, que por sua vez, pode variar face à quantidade, via de exposição e estado de saúde do indivíduo. Desencadeiam nos seres vivos, uma série de respostas inflamatórias e patológicas, como ativação do sistema imunológico, originando inflamação generalizada e febre, que pode desencadear uma resposta inflamatória sistêmica (SIRS) que em casos graves pode progredir para sepse, choque séptico, falência múltipla de órgãos e morte; disfunção endotelial, afetando a permeabilidade vascular, levando a extravasamento de fluídos para os tecidos, desenvolvendo-se edema, contribuindo para a hipotensão, choque e indução da coagulação intravascular disseminada (CID), que por sua vez conduz a sangramentos e falência de múltiplos órgãos; alterações na função cerebral, desde confusão, alterações no nível de consciência e, em casos graves, encefalopatia. Para além dos mecanismos que desencadeiam, podem também agravar doenças crônicas pré-existente ou contribuir como um fator de risco para as mesmas, como o caso de doenças cardiovasculares (devido à capacidade das endotoxinas causarem inflamação crônica e disfunção endotelial) e doenças metabólicas (devido igualmente à indução da inflamação crônica e alterações no metabolismo, exemplo o diabetes

Tipo 2, onde as endotoxinas desempenham um papel na resistência à insulina) (Al Hallak et al., 2023; Liebers et al., 2020; Tehrani et al., 2024).

A detecção das endotoxinas torna-se um mecanismo importante para adaptação das medidas de controlo, como um controlo de processos de limpeza e sobretudo, prevenção de contaminações diretas, presença no ambiente, ou indireta, através de produtos contaminados (quer sejam alimentares, dispositivos médicos, vacinas ou medicamentos). Esta detecção devido a sua importância torna-se obrigatória para alguns locais, que necessitam dessa detecção para atestar a conformidade e obtenção de certificação. Como por exemplo o caso dos órgãos reguladores, como a FDA (Administração de Alimentos e Medicamentos dos EUA) e a EMA (Agência Europeia de Medicamentos), que exigem a detecção de endotoxinas como parte dos processos de aprovação e controle de qualidade para produtos farmacêuticos e dispositivos médicos. Vários métodos e técnicas para a sua detecção, têm sido desenvolvidos e aprimorados, melhorando a sua sensibilidade e precisão. Técnicas como a cromatografia líquida, imunocromatografia, imunoenzimático (ELISA), biologia molecular (PCR), fluorescência, nanotecnologia, biossensores eletrônicos, cultura celular, pirólise de gás e o ensaio *Limulus Amebocyte Lysate* (LAL), podem ser utilizadas. O teste de *Limulus Amebocyte Lysate* (LAL), é o teste padrão e o mais utilizado. Consiste numa reação visual de coagulação do lisado de amebócitos de caranguejo-ferradura quando exposto às endotoxinas. Existem variantes deste teste, para utilização enquanto teste cromogénico e turbidimétrico para maior sensibilidade e rapidez (European Pharmacopoeia Commission, 2014; Liebers et al., 2020; Salonen et al., 2016; Tehrani et al., 2024).

A pesquisa sobre endotoxinas continua a ser um campo ativo, com estudos recentes explorando os mecanismos de toxicidade, métodos de detecção mais sensíveis e eficazes e estratégias de controle para reduzir os riscos à saúde humana e ambiental.

2.3.5. Micotoxinas

As micotoxinas são substâncias tóxicas produzidas por certos tipos de fungos, especialmente as espécies de *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.* e *Penicillium spp.*, e libertadas em várias fases de crescimento do fungo, podendo estar presente no ambiente, em redor no fungo, na sua forma livre ou presentes nos esporos libertados pelos fungos. Podem ser encontradas no ambiente interno e em sistemas de ventilação, principalmente em edifícios com problemas de humidade alta e ventilação inadequada, sobretudo em ambientes industriais e agrícolas. Podem ser responsáveis por uma variedade de problemas de saúde, assim como agravar condições pré-existentes, dependendo do tipo de micotoxina e da dose. Os efeitos incluem imunossupressores, toxicidade

aguda (reações alérgicas e problemas respiratórios, como pneumonite, quando inalado, ou envenenamento e problemas gastrointestinais quando ingerido) e toxicidade crônica (como asma, câncer e danos em órgãos, sobretudo o fígado) (Al Hallak et al., 2023; Awuchi et al., 2022; D'Ovidi et al., 2021).

As micotoxinas podem ser altamente estáveis em uma variedade de condições ambientais, como diferentes níveis de pH, temperatura e humidade, sendo resistentes a métodos comuns de controle. Várias técnicas avançadas, como a aplicação de adsorventes e tratamento com radiação, estão a ser desenvolvidas para melhorar a eficácia da remoção de micotoxinas. Mas não deixam de ser técnicas pouco práticas e baratas para aplicação diária. Como tal, uma forma de controlo da presença de micotoxina no ambiente, é eliminação da sua fonte produtora, através de condições ambientais controladas, como baixa humidade e temperatura. A temperatura e a humidade são fatores cruciais que afetam o crescimento dos fungos e como tal a produção de micotoxinas, onde a maioria dos fungos produtores de micotoxinas cresce melhor em condições de alta humidade e temperaturas quentes (Al Hallak et al., 2023; Awuchi et al., 2022).

Tal como as endotoxinas, a sua deteção é importante para evitar contaminação de pessoas, animais e produtos. As micotoxinas podem ser detetadas através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), espectrometria de massas (MS), imunocromatografia e imunoenzimático (ELISA) (Al Hallak et al., 2023; Awuchi et al., 2022).

2.4. Medidas de controlo

O controle da qualidade do ar é um tema fundamental para a saúde pública, cujo objetivo é a redução de emissão de poluentes atmosféricos e monitorização da qualidade do ar.

A legislação e as normas, são fundamentais para garantir a qualidade do ar em ambientes internos, estabelecendo padrões mínimos e diretrizes que protegem a saúde pública. Têm como objetivo definir orientações que quando aplicadas, possam prevenir doenças respiratórias, assegurar condições de trabalho seguras e promover práticas de construção sustentável. Além disso, essas regulamentações compelem os responsáveis à conformidade legal, estimulam a melhoria contínua e padronizam as práticas de controle da qualidade do ar. A existência de normas rigorosas também impulsiona a inovação, levando ao desenvolvimento de novas tecnologias e soluções para melhorar a qualidade do ar em edifícios (World Health Organization (WHO), 2021).

A monitorização contínua da QA através de detetores e sensores, permite a deteção rápida de poluentes e a tomada imediata de ações corretivas e aviso da população sobre condições

adversas, previnem problemas de saúde. Além disso permite o cumprimento de regulamentações e normas, assim como a conformidade com as mesmas. Quando aplicado, opcionalmente, no interior de edifícios, otimiza o desempenho dos sistemas de ventilação e eficiência energética, pois permite ajustes automáticos nos sistemas e aumenta a transparência e confiança dos ocupantes (Chawla et al., 2023; Monoson et al., 2023; Nagendra & Chithra, 2021). O controlo das fontes de poluição, tona-se um modo eficiente de gestão da QA, reduzindo as emissões de poluentes, minimiza o seu impacto na saúde e facilita a conformidade com as normas e regulamentações ambientais. A implementação de tecnologias de controle de emissões em indústrias, como filtros de partículas, lavadores de gases, catalisadores, adoção de processos industriais mais limpos, uso de fontes de energia renovável, como a solar, eólica e hidroelétrica, por substituição dos combustíveis fósseis, utilização de veículos com tecnologias redutoras de emissões como catalisadores e filtros de partículas, priorizar o uso de transportes públicos e alternativos (bicicletas, transporte elétrico), implementação de tecnologias para incineração controlada e reciclagem e por conseguinte, redução da queima a céu aberto de resíduos, uso de materiais de construção de baixa emissão, como, manutenção regular de sistemas HVAC e a eliminação de fontes de poluição interna, previne a deterioração da qualidade do ar e reduz riscos de problemas respiratórios e outras condições de saúde (Chawla et al., 2023; Monoson et al., 2023; Nagendra & Chithra, 2021).

Campanhas de consciencialização, permitem informar a população sobre os riscos da poluição, promovem práticas saudáveis e sustentáveis como ventilação dos espaços, não fumar dentro de edifícios, redução do uso de produtos químicos agressivos, entre outros, e incentivam o apoio a políticas ambientais. Além disso, preparam as comunidades para responder a emergências de poluição e educam as futuras gerações sobre a importância da proteção ambiental. A transparência e a informação acessível também fortalecem a confiança pública nas medidas adotadas para manter um ambiente mais saudável (World Health Organization (WHO), 2021).

O planeamento urbano sustentável é crucial para garantir cidades saudáveis, equilibradas e resilientes. Ao integrar práticas que promovem a eficiência energética, a redução das emissões de poluentes e o uso sustentável dos recursos, o planeamento urbano sustentável contribui para a melhoria da qualidade do ar, o combate às mudanças climáticas e o bem-estar dos residentes. Ele favorece a criação de espaços verdes, o desenvolvimento de infraestruturas ecoeficientes e a mobilidade sustentável, reduzindo a poluição, na sua emissão ou através da captura de poluentes (Chawla et al., 2023; Monoson et al., 2023; Nagendra & Chithra, 2021).

As medidas até aqui enumeradas, são na sua base políticas públicas, que quando combinadas com o uso de tecnologias adequadas e a informação científica, são essenciais para garantir um ar mais limpo e seguro para todos.

A utilização de ventilação adequada ao edifício, é uma das formas mais eficazes de melhorar a QAI. Os sistemas de ventilação devem ser projetados para garantir uma adequada troca de ar, removendo poluentes internos, trazendo ar fresco de fora e fazendo circulação de ar nos espaços. A gestão da ventilação natural/mecânica deve ser eficiente e adequada ao edifício e área envolvente, através do design de janelas, aberturas e ventiladores (Nagendra & Chithra, 2021; Sadrizadeh et al., 2022).

Utilização de sistemas de filtragem de ar, como filtros de alta eficiência (HEPA), que são altamente eficazes na remoção de partículas finas, como poeira, pólen, e partículas de fumaça, devem ser integrados aos sistemas de HVAC (aquecimento, ventilação e ar-condicionado) (Nagendra & Chithra, 2021; Sadrizadeh et al., 2022).

Inspeção, manutenção e limpeza regular de equipamentos utilizados nos sistemas de HVAC (aquecimento, ventilação e ar-condicionado), assim como de toda a rede, evita a acumulação e propagação dos poluentes, como partículas, bactérias e fungos (Nagendra & Chithra, 2021; Sadrizadeh et al., 2022).

Implementação de políticas de higiene e manutenção rigorosas dos espaços, superfícies, assim como técnicas que minimizam a ressuspensão de partículas como aspirar em vez de varrer (Argyropoulos et al., 2023; Nagendra & Chithra, 2021).

Integração de sistemas de purificação naturais, físicos ou químicos como uso de plantas “purificadoras” que removem poluentes como COVs, uso da luz UV-C para eliminar microrganismos no ar, uso da fotocatalise para decomposição de poluentes, que consiste no uso de luz ultravioleta em combinação com superfícies fotocatalíticas, como o dióxido de titânio (TiO₂), para decompor poluentes químicos e biológicos no ar interno e uso de ionizadores que ajudam a remover partículas suspensas no ar. É importante garantir que estas medidas sejam utilizadas corretamente para evitar efeitos adversos, como a diminuição de oxigénio no espaço ou a produção de azoto (Kowalski, 2009; Kumar et al., 2023).

Controlo da percentagem de humidade relativa, entre 30-50% através desumidificadores e sistemas de ventilação adequados é essencial para evitar o crescimento de bactérias, fungos e ácaros e o impacto nas vias respiratórias dos ocupantes que pode agravar problemas respiratórios (Argyropoulos et al., 2023; Nagendra & Chithra, 2021).

Implementação de padrões de construção saudáveis, como o correto dimensionamento da área para função pretendida, evitando a superlotação, isolamento e selagem adequada dos edifícios, portas, janelas e outras aberturas, para evitar infiltrações de ar não controlado e permita uma maior resiliência às mudanças climáticas, escolha eficiente de materiais, desde baixa emissões de COVs, a resistências a humidade, materiais menos porosos, laváveis e possivelmente com propriedade antimicrobianas, para evitar emissões e acumulação de poluentes, projetar zonas específicas para atividades que geram poluentes, como cozinhas, oficinas, ou áreas de impressão, e garantir que essas áreas estejam bem ventiladas para evitar a propagação de poluentes para outras partes do edifício, otimização da iluminação natural, redução da dependência de iluminação artificial, que pode gerar calor e contribuir para a acumulação de poluentes (Argyropoulos et al., 2023; Kumar et al., 2023; Nagendra & Chithra, 2021).

Diferentes medidas devem ser aplicadas e continuamente revistas para garantir a melhor qualidade do ar possível. A combinação de regulamentações rigorosas, práticas de construção sustentável, manutenção adequada e tecnologias inovadoras forma uma abordagem abrangente que protege a saúde dos ocupantes e assegura ambientes internos saudáveis. A revisão constante dessas medidas, à luz de novas pesquisas e tecnologias, é essencial para enfrentar os desafios em evolução relacionados à qualidade do ar e garantir que as práticas permaneçam eficazes e relevantes.

2.5. Edifícios Escolares

Milhões de crianças e adultos passam 24 a 30% do seu tempo num dia em edifícios escolares e precisam de ambientes seguros e saudáveis para prosperar, aprender e ter sucesso. Nestes edifícios, os problemas de qualidade do ar interior nas escolas podem ser ainda mais graves do que noutras categorias de edifícios, devido à maior densidade de ocupantes, ao fornecimento insuficiente de ar exterior e à frequentemente má construção e manutenção dos edifícios escolares. Mas para além das condições dos edifícios e salas de aula, também à maior vulnerabilidade destes ocupantes, as crianças, que torna a qualidade do ar interior um tema de grande importância (Anduaem et al., 2019; Majd et al., 2019; Simon et al., 2015; Vornanen-Winqvist et al., 2020). As crianças são mais vulneráveis aos efeitos nocivos dos poluentes atmosféricos devido a uma combinação de fatores biológicos, comportamentais e ambientais, tais como (Schultz et al., 2017; Simon et al., 2015; Vornanen-Winqvist et al., 2020):

- Desenvolvimento pulmonar ainda em curso, onde a exposição continua a esses poluentes poderá interferir nesse processo, resultando numa função pulmonar reduzida que pode persistir na vida adulta;
- Sistema imunológico em desenvolvimento, o que reduz a capacidade de combate aos poluentes do ar, resultando em maior suscetibilidade a infecções respiratórias e outras doenças;
- Maior taxa de respiratória que os adultos, o que significa que inalam uma maior quantidade de ar por unidade de peso corporal, resultando numa maior exposição aos poluentes presentes no ar;
- Maior proximidade ao solo, crianças pequenas como no caso de escolas primárias, respiram mais perto do solo, onde a concentração de alguns poluentes, como o dióxido de nitrogênio (NO₂) e partículas em suspensão (PM), pode ser maior devido à sua maior densidade;
- Comportamento ao ar livre, as crianças tendem a passar mais tempo ao ar livre, especialmente durante o tempo de recreio, ficando expostas mais tempo e a níveis mais altos de poluentes atmosféricos, especialmente em áreas urbanas ou próximas a estradas, em comparação com os adultos

Esses fatores combinados justificam o porquê de as crianças serem particularmente vulneráveis aos efeitos da poluição do ar, reforçando a importância de proteger esse grupo etário da exposição a ambientes com má qualidade do ar. A exposição na infância a poluentes do ar tem sido associada a uma série de problemas de saúde a longo prazo, sobretudo as relacionadas ao sistema respiratório, mas também afetando outros sistemas, como o desenvolvimento cognitivo. Poluentes como partículas finas (PM_{2.5}), dióxido de nitrogênio (NO₂) e ozono (O₃), são frequentemente associados a doenças como a asma, rinite alérgica, desenvolvimento ou exacerbação destas últimas, desenvolvimento infecções respiratórias, como bronquite e pneumonia, diminuição da capacidade pulmonar, défices cognitivos, problemas comportamentais, dificuldades de aprendizagem, desenvolvimento de fatores de risco cardiovascular, como hipertensão e inflamação crônica (Majd et al., 2019; Pawankar, 2014; Vornanen-Winqvist et al., 2020).

No Decreto-Lei n.º 101-D/2020, encontra-se definido que os edifícios novos ou renovados, e seus sistemas técnicos, são objeto de requisitos, com vista a assegurar uma adequada filtragem e renovação do ar, assim como, estão sujeitos a requisitos relacionados com a QAI. De igual modo, define, que os GES e os edifícios de comércio e serviços que abranjam creches, estabelecimentos

de educação pré-escolar, estabelecimentos de ensino do 1º ciclo do ensino básico e estruturas residenciais para idosos, encontram-se sujeitos a uma avaliação simplificada anual, com requisitos relacionados com a QAI, a realizar por técnicos de saúde ambiental, assim como à verificação da conformidade dos respetivos resultados. Qualquer verificação de desconformidade vincula os proprietários a adotar as medidas necessárias para a sua regularização (Decreto-Lei n.º 101-D/2020 de 7 de dezembro, 2020).

O ar em ambientes escolares contém uma variedade de espécies bacterianas, muitas das quais estão associadas a humanos. A presença humana influencia diretamente o perfil microbiano do ar interior, sendo a principal fonte de contaminação do ar interior, através da respiração, fala, tosse, e contato com superfícies (Chawla et al., 2023). Segundo o estudo Chegini et al., 2020, que caracteriza as comunidades microbianas, tanto bacterianas quanto fúngicas, presentes no ar de salas de aula em jardins de infância. Detetou a presença dos seguintes géneros e espécies bacterianas *Bacillus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus* spp., *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus* spp. e *Streptococcus* spp., e dos seguintes géneros e espécies fúngicas *Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *Rhodotorula* spp., *Ulocladium* spp., and *Alternaria* spp..

Em contraste com um outro estudo, Li et al., 2021, que caracterizou igualmente as comunidades microbianas, tanto bacterianas quanto fúngicas, presentes no ar de salas de aula em diferentes escolas, identificou os seguintes géneros bacterianos *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. e os seguintes géneros fúngicos *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp., *Alternaria* spp.. Foi demonstrado neste estudo igualmente, que as salas de aula com ventilação natural apresentaram uma maior diversidade microbiana do que aquelas com ventilação controlada. Concluindo-se esta influência da ventilação e das práticas de manutenção na composição microbianas das salas de aula, a importância na implementação de uma gestão cuidadosa da QAI em ambientes escolares para que seja possível controlar a proliferação de espécies potencialmente patogênicas e mitigar os riscos à saúde dos estudantes. Também tem sido constatada a tendência, de a concentração de bactérias no ar das escolas variar ao longo do dia, aumentando durante os períodos de maior atividade, como intervalos e mudanças de aula, onde más ventilações, aumentará significativamente a concentração. Assim como a densidade de ocupação, estar diretamente correlacionada com a concentração de bactérias no ar (Chawla et al., 2023).

3. Métodos

O presente estudo está enquadrado num projeto de avaliação da qualidade do ar interior em GES, neste caso em questão, edifícios escolares do 1º Ciclo do Ensino Básico, aprovado por um Município. De acordo com Decreto-Lei n.º 101-D/2020, de 7 de dezembro, os responsáveis por edifícios GES têm a obrigatoriedade de proceder à Avaliação Simplificada Anual (ASA), que deve incluir, no mínimo, a medição dos poluentes físico-químicos CO₂, PM₁₀ e PM_{2,5}, em Grandes Edifícios de Comércio e Serviços (GES). Serão os responsáveis do Gabinete de Prevenção e Segurança no Trabalho do Município a estabelecer os contactos com os responsáveis dos edifícios a avaliar.

3.1. Tipo de estudo

Este trabalho consiste num estudo observacional analítico, sendo observado o objeto em estudo, sem manipulação de qualquer condição e estabelecendo associações entre variáveis.

3.2. Amostra

Foram realizados um total de 30 pontos de medição, distribuídos entre 8 escolas de um município da zona do norte de Portugal, para os poluentes físico-químicos e microbiológicos. Estes pontos foram selecionados com base num estudo prévio já realizado a essas escolas e município, enquadrado na avaliação simplificada anual (ASA). Onde foram selecionados os pontos cujos resultados para PM_{2,5} foram superiores aos Limiares de Proteção estabelecidos pela Portaria n.º 138-G/2021, de 1 de julho.

3.3. Desenho do estudo / procedimento

A primeira fase deste estudo, a recolha de dados, inicia-se com a visita a cada escola selecionada (8 escolas) e a realização da recolha dos dados técnicos: parâmetro físico-químicos (CO₂, PM₁₀, PM_{2,5}, % de humidade relativa e temperatura), amostras de ar (parâmetros microbiológicos) e informações contextuais (lista de verificação), para cada ponto de amostragem (30 pontos), utilizados os equipamentos mencionados. Numa segunda fase, ocorre o tratamento dos dados recolhidos: técnicos, amostras de ar e lista de verificação. As amostras de ar, recolhidas por impacto em meio de cultura, após o final das recolhas de cada escola, são incubadas a 37° C durante 2 dias para as bactérias e a 25° C e 7 dias para fungos. E os dados técnicos dos parâmetros físico-químicos exportados dos respetivos equipamentos para Excel e colocados sob a forma de tabelas, para serem apresentados. Assim como as listas de verificação são transcritas para Excel e apresentadas sob a forma de tabelas. Na fase seguinte, a terceira, ocorre

o tratamento dos meios de cultura, onde são contabilizadas as colónias de fungos e bactérias. Para ambos, são contabilizados o número total de colónias e o número por cada agrupamento visual de colónias (características morfológicas). Posteriormente são isolados todos os agrupamentos de colónias de bactérias, que após um período de incubação de 24h a 37 °C, são realizados os testes de Gram, catalase, oxidase e a identificação das mesmas. Todos os resultados, tal como, os anteriores, são transcritos para Excel e apresentados sob a forma de tabela. Na última fase, a quarta, são realizados testes estatísticos para verificar se as relações entre variáveis, são estatisticamente significativas. São testadas 3 relações, entre volumes, entre salas e entre escolas. O desenho deste estudo encontra-se representado na seguinte Figura 2. Através do qual é possível obter uma visão holística do procedimento realizado.

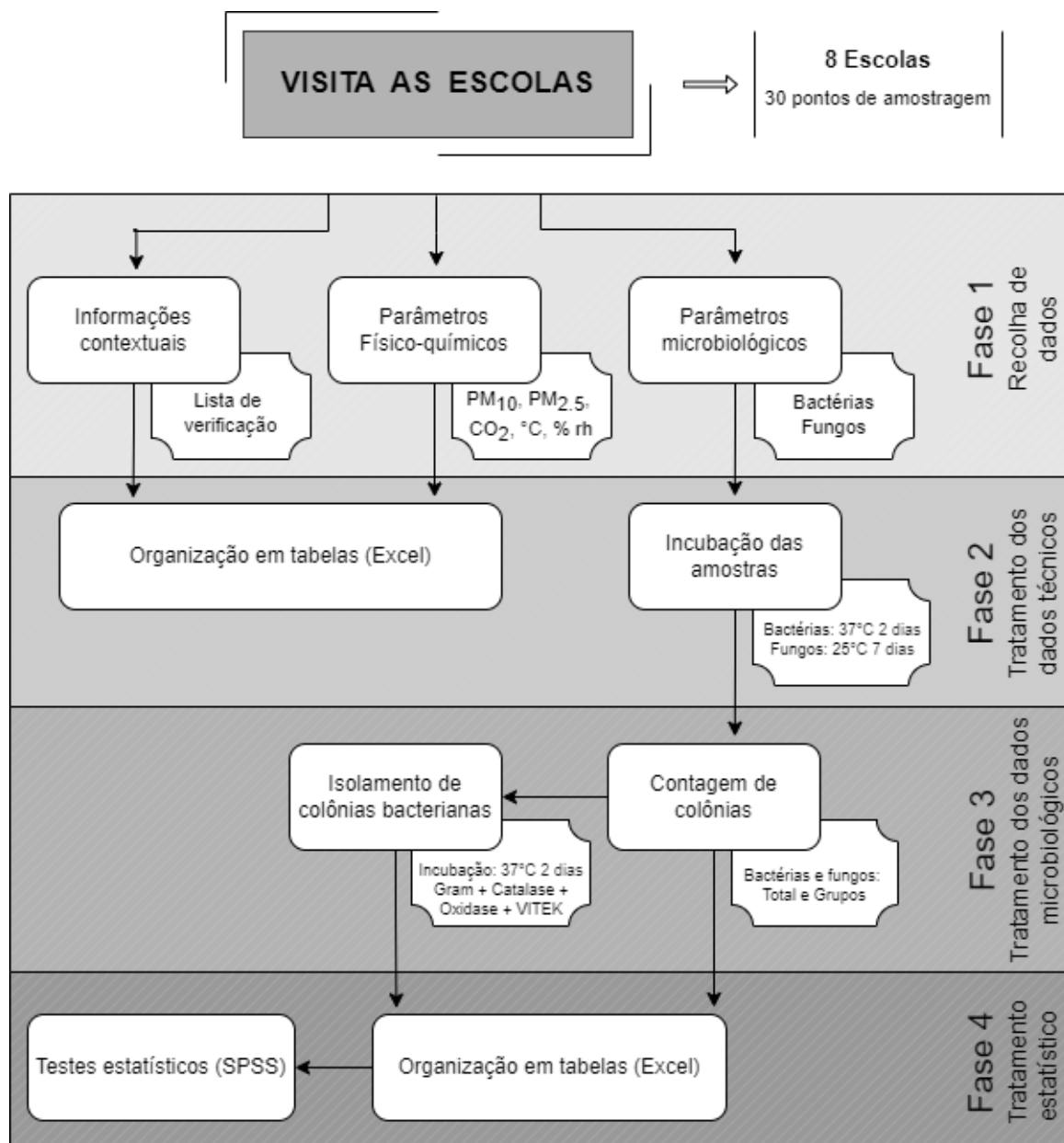


Figura 2 - Fluxograma - Desenho do estudo observacional

3.4. Questionário

Nos locais de medição, será aplicada uma lista de verificação (Figura 10, 11, 12 e 13 – Anexos) para auxiliar na caracterização dos pontos de amostragem e na recolha e tratamento dos dados. Nesta lista de verificação são avaliados os seguintes tópicos: identificação do edifício, localização do edifício; caracterização quanto à construção do edifício; ventilação e climatização; caracterização dos pontos de medição (área, número de ocupantes, tempo de permanência no local, atividades desenvolvidas). Em acréscimo, foram apontadas todas as observações pertinentes para problemas visíveis no edifício, como existência de humidade, condensação nas janelas, estado e conservação das paredes/tetos/pavimentos e a higienização dos espaços. Esta lista de verificação permite reunir informações contextuais e operacionais importantes, essencial para um maior controle sobre as variáveis e uma uniformização/padronização do procedimento e das informações recolhidas entre os diferentes pontos. Facilitando, na identificação de fontes de poluição momentâneas, explicação de picos de poluição, justificação de discrepâncias nos dados obtidos e identificação de possíveis interferências, servindo por isso como um instrumento de validação dos dados técnicos obtidos pelos equipamentos de medição. Este instrumento de pesquisa para além de aumentar a confiabilidade dos resultados e facilitar as comparações entre diferentes locais e serve como documentação complementar para relatórios de avaliação.

3.5. Critérios de amostragem

As recolhas das amostras seguem o estipulado na legislação. Onde está definido pelo Despacho 1618/2022, de 9 de fevereiro, que as amostragens devem ser realizadas:

- Durante as atividades de rotina e normal funcionamento do edifício e áreas em teste;
- Pelo menos 1 hora após o início das atividades e arranque do sistema de Aquecimento e Ar Condicionado (AVAC), quando aplicável;
- Para poluentes físico-químicos, durante um período que garanta a estabilização dos equipamentos e a representatividade das amostras, num mínimo de 30 minutos;
- Ao nível das vias respiratórias dos ocupantes de 0,5 a 1,5 m acima do pavimento, para ocupantes sentados;
- A pelo menos 1 – 2 m de paredes, janelas, portas, divisórias ou outras barreiras verticais;
- A uma distância de fontes de emissão de poluentes, superior a 1 m;
- Garantindo que os equipamentos não se encontram sob a influência direta de grelhas de insuflação, difusores de ar, ventoinhas ou aquecedores;

- Garantindo que no exterior dos edifícios com ventilação mecânica, os equipamentos se encontram a uma distância mínima de 1 m da entrada de ar para a Unidade de Tratamento de Ar (UTA) e a 1 – 1,5 m acima do pavimento.

Assim como é realizado igualmente, a recolha de dados do exterior das mesmas escolas, no mesmo dia da monitorização dos pontos.

3.6. Equipamentos e técnicas

Os métodos de referência e seu equivalente para a medição de poluentes definidos no Despacho n.º 1618/2022, de 9 de fevereiro são os indicados na Tabela 2 e Tabela 3.

Tabela 2 – Métodos de medição para parâmetro físico – químicos, segundo o Despacho n.º 1618/2022, de 9 de fevereiro.

| Poluente | Método de referência | Método equivalente | Características |
|---|---|--|---|
| CO ₂ | Leitura direta com sensor infravermelho não dispersivo (NDIR) | Leitura direta com sensor: Eletroquímico, infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), PAS-sensor foto acústico | Erro máximo admissível: 50 ppm ou 10% da leitura, o maior Resolução: 1 ppm |
| CO | Leitura direta com sensor infravermelho não dispersivo (NDIR) | Leitura direta com sensor: Eletroquímico, Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), PAS-sensor foto acústico | Erro máximo admissível: 4 ppm ou 4% da leitura, o maior Resolução: 1 ppm |
| Partículas PM ₁₀ e PM _{2,5} | Amostragem ativa em filtro colocado no amostrador seletivo para PM ₁₀ ou PM _{2,5} e análise gravimétrica. | Leitura direta por: Dispersão ótica (UV, laser), Absorção por radiação Beta, Microbalança de oscilação de peso (TEOM), Ressonância piezoelétrica | Erro máximo admissível: 10 µg/m ³ ou 10% da leitura, o maior Resolução: 1 µg/m ³ |

Tabela 3 – Métodos de medição para parâmetro microbiológicos, segundo o Despacho n.º 1618/2022, de 9 de fevereiro.

| Poluente | Método | Volume de ar | Características |
|-----------|---|--|-----------------------------------|
| Bactérias | Impacto em meio de cultura, de acordo com a norma EN 13098:2019, seguido de incubação e quantificação | Recomenda-se um volume de ar entre 200 L e 300 L, a ajustar de acordo com a contaminação expectável do ar ambiente | Incerteza expectável (%): < 40 |
| Fungos | | | |

Está definido igualmente que: todos os equipamentos utilizados na realização das avaliações da qualidade do ar interior, devem ser sujeitos a calibração/verificação anual;

Em conformidade com o definido por este despacho, foram utilizados 3 equipamentos para a obtenção dos dados: o Monitor de Partículas *DustTrack II*, o Analisador de CO e CO₂ *VelociCalc®* e o Amostrador de Ar *MAS-100®*. E o equipamento *Vitek® 2 Compact* para a identificação das colónias bacterianas.

3.6.1. Monitor de Partículas: *DustTrack II*

O *DustTrack II*, da serie 8530, é um monitor de partículas portátil e intuitivo, desenvolvido pela empresa TSI, projetado para medir e monitorar a concentração de partículas no ar em ambientes internos. Utiliza a dispersão de luz para medir a concentração de partículas de diferentes tamanhos (entre 0,1 e 10 micrômetros). Este equipamento permite opções como software de análise, alarmes para concentrações elevadas e relatórios detalhados. Depois da instalação, numa zona respeitando a legislação e representativa do ambiente a monitorizar e evitando áreas com correntes de ar fortes ou fontes de poeira que possam afetar a medição, o equipamento deve ser ligado, inserido o filtro de partículas específico, aguardar alguns minutos para estabilização e iniciado o modo de medição (*DustTrak™ II Aerosol Monitor 8530, 2024*). São utilizados dois equipamentos para medirem as partículas PM₁₀ e PM_{2,5}, respetivamente. A calibração está conforme e realizada a 17 de abril de 2023.



Figura 3 - DustTrack II

3.6.2. Analisador de CO e CO₂: *VelociCalc®*

O *VelociCalc®*, da serie 9656-X, é um equipamento portátil e de fácil utilização, fabricado pela TSI, que permite obter dados como: velocidade do ar, fluxo do ar, concentração de CO₂ em partes por milhão (ppm), temperatura e % de Humidade Relativa. Utiliza um sensor de infravermelho não dispersivo (NDIR) para a deteção de CO₂. Depois da instalação, numa zona respeitando a legislação e representativa do ambiente a monitorizar e evitando áreas com correntes de ar fortes ou fontes de poeira que possam afetar a medição, o equipamento deve ser ligado, retirar a tampa da sonda, aguardar alguns minutos para estabilização e iniciar o modo de medição

(*VelociCalc® Multi-Function Ventilation*, 2024). Este equipamento é utilizado para a medição de CO_2 , % de humidade relativa e temperatura. A sua calibração, assim como a da sonda esta conforme e foi realizada a 14/04/2023.



Figura 4 - VelociCalc®

3.6.3. Amostrador de Ar: *MAS-100®*

O *MAS-100®* Microbiological Air Sampler é um amostrador de ar microbiológico desenvolvido pela MBV AG. Este equipamento é utilizado para a recolha e análise de microrganismos presentes no ar, através do método de impacto em placa. O ar é direcionado para placas de cultivo com meios específicos para diferentes tipos de microrganismos, que se encontram numa câmara isolada. Depois da instalação, numa zona respeitando a legislação e representativa do ambiente a monitorizar e evitando áreas com correntes de ar fortes ou fontes de poeira que possam afetar a medição, o equipamento deve ser ligado, selecionado a duração e o fluxo de ar pretendido, desinfetado antes de colocar cada placa, colocar a placa, retirar a tampa e iniciar o modo de medição (Manual do equipamento *MAS-100®*, 2022; MBV-AG, 2024). Este equipamento é utilizado para a obtenção de amostras de ar e foi definido a realização de 2 placas por volume e especificidade. São definidos os volumes 100 L e 250 L e a utilização de 2 meios, um específico para bactérias e outro para fungos, sendo utilizadas um total de 8 placas por sala (ponto). O volume 250 L, respeitando os requisitos legais, e o volume 100L para facilitar, contagens e isolamentos, no caso de elevadas quantidades bacterianas. Sendo, como tal, a recolha de amostra de ar para cada placa repetido, individualmente. A calibração do equipamento está conforme.



Figura 5 – MAS-100®

3.6.4. VITEK® 2 Compact

O VITEK® 2 Compact é um sistema automatizado utilizado para a identificação de microrganismos, como bactérias e fungos. A identificação é realizada utilizando cartões descartáveis que contêm substratos que permitem identificar o metabolismo microbiano. Para além da identificação também permite realizar testes de sensibilidade dos microrganismos a diferentes antibióticos (VITEK® 2 Compact, 2022).



Figura 6 – VITEK® 2 Compact

3.6.5. Meios de cultura

Os meios de cultura são substratos ou soluções usadas para crescer e sustentar microrganismos em laboratório, fornecendo nutrientes e condições necessárias para o crescimento de bactérias, fungos, e outros microrganismos. Que após o período de incubação, as colônias são analisadas para identificar características como forma, cor e tamanho, e para realizar testes adicionais, e permitir a identificação dos microrganismos. Existem diferentes tipos de meios de cultura, líquidos, sólidos nutritivos, sólidos seletivos e sólidos diferenciais. Estes meios, tal como os seus

nomes indicam, permitem favorecer o crescimento de todas as bactérias, fungos ou leveduras, favorecer o crescimento de uns e inibir outros ou permitem a expressão de características das bactérias, fungos ou leveduras, úteis na sua identificação (Madigan et al., 2018; Willey et al., 2020).

As normas EN 13098:2019 e NP 4489:2015, que estabelecem orientações e requisitos para a medição e avaliação de agentes biológicos, como bactérias e fungos, em ambientes de trabalho, definem a utilização dos seguintes meios de cultura:

- Isolamento de bactérias: *Ágar Nutriente* e *Ágar Trypticase de Soja (TSA)* (nutritivos) e *Ágar Sangue* e *Ágar MacConkey* (seletivos e diferenciais);
- Isolamento de fungos: *Ágar Sabouraud Dextrose* (nutritivo) e *Ágar de Extrato de Malte* (seletivo).

Neste projeto, os meios são realizados em laboratório, e seguem as instruções do fabricante das soluções. Após a reconstituição, são esterilizados a temperatura elevadas (121°C por 15–20 minutos) para eliminar contaminações bacterianas e posteriormente o preparado é repartido por placas de Petri, numa câmara de fluxo laminar, para evitar contaminações. Após a solidificação, as placas são armazenadas em refrigerador (4°C) para prolongar a validade.

Os meios utilizados neste projeto foram:

- Isolamento de bactérias: *Ágar Trypticase de Soja (TSA)*, é um meio nutritivo e não seletivo, suportando o crescimento de uma ampla gama de microrganismos, mas favorecendo o crescimento de bactérias, pois usa infusão de soja, que fornece aminoácidos, peptonas e outros nutrientes essenciais para o crescimento de bactérias.
- Isolamento de fungos: *Rose Bengal Chloramphenicol Agar (RBCA)* é um meio de cultura utilizado para a isolação e identificação de fungos, pois possui a capacidade de inibir o crescimento de bactérias (Cloranfenicol – antibiótico) e promover o crescimento de fungos.

Para além, das placas mencionadas anteriormente, 4 meios TSA (2 meios para o volume 100L e 2 para o volume 250L) e 4 meios RBCA (2 meios para o volume 100L e 2 para o volume 250L), por cada ponto de amostragem, foram também realizadas placas de controlo, denominado branco. Este branco permite validar o processo de realização de meios de cultura e o transporte dos mesmos até a sua utilização no equipamento e até à sua incubação, permitindo excluir possíveis contaminações.

3.6.6. Incubação

As normas EN 13098:2019 e NP 4489:2015, definem as seguintes condições de incubação das placas de meio de cultura:

- Incubação de bactérias: Entre 30 °C e 37 °C, dependendo do tipo de bactéria, com um tempo de incubação entre 24 a 48 horas. Recomendado 35 °C e 37 °C, uma vez que é a temperatura ideal de crescimento para bactérias de origem humana e para bactérias patogénicas para os seres humanos. Referindo-se na norma igualmente que, bactérias de origem humana representa a maioria das bactérias isoladas e as de maior interesse de pesquisa no ambiente interno;
- Incubação de Fungos: Entre 22 °C a 28 °C, com um tempo de incubação entre 5 a 7 dias.

Neste estudo existem dois momentos de incubação. O inicial, após a recolha das amostras, e um segundo após o isolamento de colónias dos diferentes agrupamentos de bactérias.

Segundo estas normas, foram definidas as seguintes condições de incubação das placas:

Para 1ª incubação (pós recolha):

- Incubação de bactérias: 37 °C, durante 48 horas;
- Incubação de Fungos: Entre 25 °C, durante 7 dias.

Para 2ª incubação (repicagem / isolamento das colónias de bactérias):

- Incubação de bactérias: 37 °C, durante 24 horas.

3.6.7. Contagem de colónias de bacterias e fungos

Apos o período de incubação, são contabilizadas todas as colónias presentes em placa, para cada placa por ponto de amostragem. São contabilizadas o número total de colónias, assim como o número de colónias, segundo as suas características morfológicas, aspeto, forma, cor e tamanho. Posteriormente, segundo o manual do equipamento MAS-100® e através da tabela de conversão Feller, presente no anexo B do referido manual (Figura 19 – Anexos), deve ser realizada a conversão das colónias contabilizadas em unidades formadoras de colónias (UFC). Esta tabela fornecida pela casa comercial, baseia-se na fórmula de Feller: $Pr = N\left(\frac{1}{N} + \frac{1}{N-1} + \frac{1}{N-2} + \dots + \frac{1}{N-r+1}\right)$. Sendo: r = número de unidades formadoras de colónias contadas em placa; Pr = probabilidade estatística total. Através desta tabela / formula, é possível fazer o ajuste das UFC, tendo em consideração a probabilidade de cada bactéria se dividir ou formar uma colónia é independente e constante (*Manual do equipamento MAS-100®, 2022*). Após a aplicação desta tabela, obtemos valores UFC / 100L e UFC / 250L. Sendo por isso necessário fazer o ajuste para

m³, para que seja possível a sua comparação com a legislação em vigor, na forma de UFC / m³, através da fórmula:
$$UFC/m^3 = \frac{UFC \cdot 1000}{\text{volume (100L ou 250L)}}$$

3.6.8. Coloração de Gram

A coloração de Gram é uma técnica de coloração microbiológica usada para diferenciar bactérias com base nas características da sua parede celular. Desenvolvida pelo bacteriologista dinamarquês Hans Christian Gram em 1884, permite classificar as bactérias em dois grandes grupos: Gram-positivas e Gram-negativas. O processo envolve a utilização de 4 reagentes: o corante primário (Violeta de cristal), a solução mordente (Lugol), o descolorante (álcool etílico - etanol a 95%) e o corante de contraste (safranina). Esses reagentes são aplicados, sobre uma lâmina onde foi fixado, previamente, as colônias isoladas a classificar, para posterior visualização ao microscópio. Onde, as bactérias Gram-positivas, retêm o Violeta de cristal após a descoloração e apresentam a cor roxa ou azul. Isto ocorre porque possuem uma parede celular espessa de peptidoglicano, que retém o complexo insolúvel criado pelos corantes Violeta de cristal e o Lugol. As bactérias Gram-negativas, perdem a coloração roxa durante a descoloração e adquirem a cor rosa ou vermelha da safranina, último corante adicionado e como tal designado corante de contraste. Estas bactérias têm uma parede celular mais fina de peptidoglicano e uma membrana externa adicional, o que facilita a remoção do corante primário (Madigan et al., 2018; Willey et al., 2020).

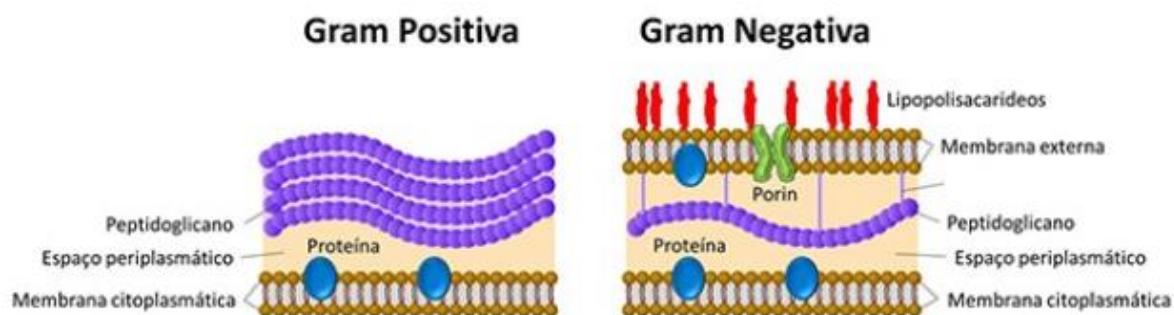


Figura 7 - Diferenças estruturais da membrana das bactérias. (Vetor, 2024)

3.6.9. Catalase

O teste da catalase é um teste bioquímico utilizado em microbiologia para identificar a presença da enzima catalase em bactérias. Algumas bactérias possuem a capacidade de produzir esta enzima, como uma defesa contra os efeitos tóxicos do peróxido de hidrogénio, um subproduto do metabolismo aeróbico. Esta enzima, decompõe o peróxido de hidrogénio (H₂O₂) em água (H₂O) e oxigénio (O₂), que devido a libertação deste último, ocorre a formação de bolhas visíveis a olho nu. Se ocorrer a formação de bolhas ou efervescência imediata indica a produção de oxigénio, ou

seja, a bactéria possui a enzima, como tal a reação é catalase positiva. Enquanto, a ausência de bolhas significa que a bactéria não produz a enzima catalase e é, portanto, catalase negativa. Este teste é um método rápido e simples, utilizado sobretudo para diferenciar bactérias Gram-positivas, distinguir *Staphylococcus* spp. (catalase positiva) do *Streptococcus* spp. (catalase negativa), mas também auxiliar na identificação preliminar de bactérias (Madigan et al., 2018).

3.6.10. Oxidase

O teste da oxidase é um teste bioquímico utilizado para identificar a presença da enzima citocromo c oxidase em bactérias. Esta enzima está envolvida na cadeia respiratória das bactérias que utilizam oxigênio como aceitador final, como tal, a presença desta enzima indica que a bactéria é capaz de realizar a respiração aeróbica. Para a realização deste teste são necessários discos, impregnados com o reagente de oxidase (mais concretamente, N,N,N',N'-tetrametil-1,4-fenilenodiamina di-hidroclorato, $C_{10}H_{16}Cl_2N_2$). Neste estudo foi utilizado o Kit OXIDASE STRIPS da Oxoid Ltd.(ref. MB0266A). A zona onde foi esbatida a bactéria, sofrer alteração de cor para roxo ou azul, indicando a presença da enzima oxidase, e como tal a reação é positiva. Se não ocorrer mudança de cor, ou a mudança acontece após 30 segundos, a reação é considerada oxidase negativa. É um método rápido e simples, que tal como a catalase, é utilizado para diferenciar bactérias Gram-negativas, muito utilizado em microbiologia clínica, para identificar gêneros como *Pseudomonas* spp., *Neisseria* spp. e *Moraxella* spp. (positivas para oxidase) e diferenciar das *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp. (negativas para oxidase) (Madigan et al., 2018).

3.7. Tratamento de dados

Os procedimentos estabelecidos para recolha e tratamento de dados seguirão as indicações presentes no Regulamento Geral de Proteção de Dados (EU2016/679). De forma a armazenar e tratar os dados recolhidos, é criada uma base de dados no software Excel, onde todos os dados serão anonimizados. Apenas foram recolhidos dados relativos ao edifício e ar interior.

Os dados obtidos nas medições, organizados através do software Excel, que para facilitar a comparação com a legislação e verificar a sua conformidade, são apresentados sob a forma de tabelas, em contexto descritivo da composição do ar das escolas do 1º Ciclo de um município na zona norte de Portugal.

Para a análise estatística descritiva recorreu-se à média e desvio-padrão, através do software Excel. E para a análise inferencial foi utilizado o software de análises estatística SPSS (*Statistical*

Package for the Social Sciences) versão 29.0.1, onde foram aplicados os seguintes testes, definidas as seguintes hipóteses para as seguintes comparações:

3.7.1. Verificação da normalidade dos dados

- a. Teste de *Shapiro-Wilk*: Verificar a normalidade dos dados, inferior a 50 amostras;
- b. Hipótese Nula (H₀): Os dados seguem uma distribuição normal.
- c. Hipótese Alternativa (H₁): Os dados não seguem uma distribuição normal.

3.7.2. Comparação das concentrações (UFC/m³) entre os volumes de 100 L e 250 L

- a. Teste de *Mann-Whitney*: Comparar duas amostras independentes e verificar as suas distribuições.
- b. Hipótese nula (H₀): Não existem diferenças significativas entre os valores obtidos para as concentrações de UFC/m³ para os volumes 100 L e 250 L.
- c. Hipótese alternativa (H₁): existem diferenças significativas entre os valores obtidos para as concentrações de UFC/m³ para os volumes 100 L e 250 L.

3.7.3. Comparação das concentrações (UFC/m³) entre as escolas

- a. Teste de *Kruskal-Wallis*: Comparar três ou mais amostras independentes e verificar se existem diferenças significativas, aplicado a todas as salas simultaneamente.
- b. Hipótese nula (H₀): não existem diferenças significativas entre os valores obtidos para as concentrações de UFC/m³ das diferentes escolas.
- c. Hipótese alternativa (H₁): existem diferenças significativas entre os valores obtidos para as concentrações de UFC/m³ das diferentes escolas.

3.7.4. Comparação das concentrações (UFC/m³) entre os pontos de amostragem (salas) dentro da mesma escola

- a. Teste de *Kruskal-Wallis*: aplicado a cada sala individualmente.
- b. Hipótese nula (H₀): não existem diferenças significativas entre os valores obtidos para as concentrações de UFC/m³ das diferentes salas na mesma escola.
- c. Hipótese alternativa (H₁): existem diferenças significativas entre os valores obtidos para as concentrações de UFC/m³ das diferentes salas na mesma escola.

3.7.5. Verificar a relação e tendência das concentrações (UFC/m³) ao longo dos pontos de amostragem dentro da mesma escola

- a. Correlação de *Spearman*: Avalia a força e direção da relação entre duas variáveis.
- b. Hipótese nula (H₀): não existe uma relação significativa entre os valores obtidos para as concentrações de UFC/m³ e as salas de cada escola.

- c. Hipótese alternativa (H1): existem uma relação significativa entre os valores obtidos para as concentrações de UFC/m³ e as salas de cada escola.

3.8. Critérios gerais para verificação da conformidade legal dos poluentes – Limiares de proteção, margem de tolerância e condições de referência

Os resultados das medições dos poluentes físico-químicos (CO₂, PM₁₀, PM_{2,5}) e microbiológicos (bactérias e fungos), para que se encontrem conformes com a legislação devem seguir certos critérios, tal como definido no Despacho n.º 1618/2022, de 9 de fevereiro. Estes critérios, encontram-se definidos na Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho, e englobam as seguintes condições para que se verifique a conformidade legal dos resultados:

1. Os resultados das medições dos poluentes físico-químicos devem ser inferiores ao limiar de proteção do poluente correspondente. $[\text{Poluente}]_{\text{Max}} \leq [\text{Poluente}]_{\text{LP}}$
 - a. No caso de edifícios existentes e edifícios novos sem sistemas mecânicos de ventilação, pode ser aplicada a margem de tolerância (MT), segundo o critério de conformidade: $[\text{Poluente}]_{\text{Max}} \leq [\text{Poluente}]_{\text{LP}} \times (1 + \text{MT})$. Sendo que:
[Poluente]LP é o limiar de proteção do poluente;
[Poluente]Max é o valor máximo das concentrações de todos os pontos de amostragem;
MT é a margem de tolerância 1, em (%) estabelecida para cada poluente, na Tabela I.
2. Os resultados das medições dos poluentes microbiológicos devem cumprir as condições previstas nas Tabelas II e IV;

Em anexo encontram-se as imagens, (Figura 14, 15, 16, 17 e 18) extraídas da Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho, referentes as tabelas mencionadas nos critérios gerais para a conformidade legal dos poluentes.

Para os restantes parâmetros físico-químicos a medir (% de humidade relativa e temperatura) foram utilizadas as recomendações presentes na norma técnica NP EN 16798-1:2019. Pois embora os diplomas legais portugueses mencionem a necessidade de garantir o conforto térmico e a qualidade do ar interior, não especificam diretamente os valores de temperatura e humidade relativa. Em anexo encontra-se a tabela resumo destes valores (Tabela 13).

4. Resultados

As recolhas dos dados foram realizadas no período de 23 de abril a 9 maio de 2024. Cada ponto de amostragem corresponde a uma sala de aula e foram distribuídos pelos diferentes andares e áreas do edifício. Nos seguintes pontos são apresentados os resultados obtidos.

4.1. Caracterização dos pontos de medição

Na seguinte Tabela 4, encontram-se reunidos os dados contextuais recolhidos através das listas de verificação, assim como as características dos edifícios.

Tabela 4 – Caracterização dos pontos de medição (Salas)

| Escola | Sala | Localização | Ventilação | Sistema de Climatização | Fontes de contaminação | Nº ocupantes |
|--------|----------|----------------------------------|--------------------|--------------------------------|------------------------|--------------|
| A | 001 | Residencial, no centro da cidade | Natural | Radiadores | - | 24 |
| | 002 | | | | | 24 |
| | 003 | | | | | 22 |
| | Exterior | | | | | - |
| B | 004 | Residencial, no centro da cidade | Natural e mecânica | Aquecedores | Oficinas | 23 |
| | 005 | | | | | 22 |
| | 006 | | | | | 21 |
| | 007 | | | | | 23 |
| | Exterior | | | | | - |
| C | 008 | Residencial | Natural | Aquecedores Ar condicionado | - | 15 |
| | 009 | | | | | 20 |
| | 010 | | | | | 24 |
| | 011 | | | | | 20 |
| | 012 | | | | | 23 |
| | Exterior | | | | | - |
| D | 013 | Residencial, no centro da cidade | Natural e mecânica | Aquecedores Ar condicionado | - | 16 |
| | 014 | | | | | 16 |
| | 015 | | | | | 18 |
| | 016 | | | | | 19 |
| | Exterior | | | | | - |
| E | 017 | Rural | Natural | - | Agricultura | 18 |
| | 018 | | | | | 10 |
| | 019 | | | | | 21 |
| | Exterior | | | | | - |
| F | 020 | Residencial | Natural | Aquecedores Ar condicionado | - | 18 |
| | 021 | | | | | 21 |
| | 022 | | | | | 21 |
| | 023 | | | | | 23 |
| | Exterior | | | | | - |
| G | 024 | Rural | Natural e mecânica | Radiadores | Agricultura | 23 |
| | 025 | | | | | 21 |
| | 026 | | | | | 24 |
| | Exterior | | | | | - |
| H | 027 | Residencial | Natural e mecânica | Radiadores | Zona industrial | 15 |
| | 028 | | | | | 15 |
| | 029 | | | | | 24 |
| | 030 | | | | | 24 |
| | Exterior | | | | | - |

4.2. Resultados parâmetro físico-químicos

Na seguinte Tabela 5, são apresentados os dados técnicos para os parâmetros físico-químicos, PM_{2,5}, PM₁₀, CO₂, temperatura e % de humidade relativa, dos equipamentos *DustTrack II* e *VelociCalc®*. Assim como o valor médio (\bar{x}) e desvio padrão (s).

Tabela 5 – Resultados obtidos para os parâmetros físico-químicos.

| Escolas | Salas | PM _{2,5} (µg/m ³) | PM ₁₀ (µg/m ³) | CO ₂ (mg/m ³) | Temperatura (°C) | % de Humidade relativa |
|----------|-------------|---|--|---|--------------------|---------------------------|
| A | 001 | 14 | 26 | 1603.79 | 23.7 | 34.1 _{b)} |
| | 002 | 15 | 26 | 1885.74 | 22.6 | 38 _{b)} |
| | 003 | 21 | 40 | 1122.29 | 24.3 | 29.9 _{b)} |
| | \bar{x}/s | 16.7 ± 3.8 | 30.7 ± 8.1 | 1537.3 ± 386 | 23.5 ± 0,9 | 34.0 ± 4.1 _{b)} |
| | Exterior | 13 | 15 | 444.89 | 18.5 | 26.6 |
| B | 004 | 16 | 22 | 800.07 | 25.2 | 22 _{c)} |
| | 005 | 37 _{a)} | 47 | 595.02 | 26.4 | 25.5 _{c)} |
| | 006 | 35 _{a)} | 41 | 571.21 | 25.4 | 26.8 _{c)} |
| | 007 | 31 _{a)} | 54 _{a)} | 1098.49 | 28.4 _{c)} | 29.4 _{c)} |
| | \bar{x}/s | 29.8 ± 9.5 _{a)} | 41.0 ± 13.7 | 766.2 ± 244.2 | 26.4 ± 1.5 | 25.9 ± 3.1 _{c)} |
| | Exterior | 34 | 58 | 497.98 | 39.6 | 9.8 |
| C | 008 | 12 | 19 | 1384.10 | 20.1 | 60.3 _{b)} |
| | 009 | 18 | 38 | 2268.38 _{a)} | 20.5 | 63 _{b)} |
| | 010 | 22 | 36 | 2456.96 _{a)} | 20.3 | 64.9 _{b)} |
| | 011 | 25 | 43 | 1638.58 | 19.3 _{b)} | 68.6 _{b)} |
| | 012 | 28 | 47 | 3544.46 | 19.2 _{b)} | 70.7 _{c)} |
| | \bar{x}/s | 21.0 ± 6.2 | 36.6 ± 10.7 | 2258.5 ± 842.9 _{a)} | 19.9 ± 0.6 | 65.5 ± 4.2 _{b)} |
| | Exterior | 9 | 11 | 585.86 | 15.8 | 74.8 |
| D | 013 | 37 _{a)} | 49 | 1673.37 | 22.4 | 54.4 |
| | 014 | 16 | 28 | 2279.37 _{a)} | 22.8 | 48.2 |
| | 015 | 20 | 36 | 3385.18 _{c)} | 22.9 | 57.2 |
| | 016 | 16 | 19 | 1301.71 | 22.1 | 44 |
| | \bar{x}/s | 22.3 ± 10 | 33.0 ± 12.7 | 2159.9 ± 910.8 | 22.6 ± 0.4 | 51.0 ± 6.0 |
| | Exterior | 11 | 9 | 578.54 | 22.8 | 37.1 |
| E | 017 | 19 | 41 | 1733.78 | 20.3 | 57.2 |
| | 018 | 13 | 18 | 1964.47 | 20.3 | 56.2 |
| | 019 | 14 | 32 | 2539.34 _{a)} | 19.7 | 58.9 |
| | \bar{x}/s | 15.3 ± 3.2 | 30.3 ± 11.6 | 2079.2 ± 414.9 | 20.1 ± 0.3 | 57.4 ± 1.4 |
| Exterior | 12 | 9 | 514.46 | 24.9 | 33 | |
| F | 020 | 32 _{a)} | 47 | 1202.85 | 20.2 | 55.2 |
| | 021 | 26 _{a)} | 36 | 1459.16 | 20.8 | 53.5 |
| | 022 | 23 | 35 | 2056.01 | 20.8 | 56.6 |
| | 023 | 26 _{a)} | 46 | 3974.70 _{c)} | 22.4 | 61.4 _{b)} |
| | \bar{x}/s | 26.8 ± 3.8 _{a)} | 41.0 ± 6.4 | 2173.2 ± 1253.1 | 21.1 ± 0.9 | 56.7 ± 3.4 |
| Exterior | 19 | 22 | 627.97 | 19.1 | 51.2 | |
| G | 024 | 26 _{a)} | 45 | 3319.27 _{c)} | 24.2 | 49.8 |
| | 025 | 29 _{a)} | 43 | 1640.41 | 21.7 | 52.7 |
| | 026 | 43 _{a)} | 73 _{a)} | 1735.61 | 24 | 51.2 |
| | \bar{x}/s | 32.7 ± 9.1 _{a)} | 53.7 ± 16.8 _{a)} | 2231.8 ± 943.0 | 23.3 ± 1.4 | 51.2 ± 1.5 |
| | Exterior | 39 | 45 | 554.74 | 21.8 | 50 |
| H | 027 | 11 | 21 | 1061.87 | 22.8 | 43.3 |
| | 028 | 14 | 21 | 849.50 | 24.1 | 40.3 |
| | 029 | 14 | 25 | 1085.67 | 24.7 | 42.1 |
| | 030 | 14 | 17 | 1065.53 | 26.9 | 38.7 |
| | \bar{x}/s | 13.3 ± 1.5 | 21.0 ± 3.3 | 1015.6 ± 111.3 | 24.6 ± 1.7 | 41.1 ± 2.0 |
| Exterior | 13 | 14 | 455.87 | 24.9 | 36.2 | |

Nota: Temperatura e % de humidade relativa no período de medição: 24°C e 51%, 19°C e 80% para abril; 22°C e 56%, 21°C e 53%, 21°C e 50% para maio. Dados disponibilizados no IPMA (Instituto Português do Mar e da Atmosfera).

Valores sem nenhuma identificação, encontram dentro do limiar de proteção e em conformidade com a legislação para PM_{2,5}, PM₁₀, CO₂ (Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho- Figura 14 - Anexos) e dentro dos valores ideais recomendados pela norma técnica (NP EN 16798-1:2019 – Tabela 13 - Anexos) para temperatura e % de humidade relativa.

a) Valores que se encontram em conformidade legal após aplicação da margem de tolerância;

b) Valores que se encontram dentro dos limites recomendados;

c) Valores que se encontram fora da conformidade legal (Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho) e dos valores recomendados da norma técnica (NP EN 16798-1:2019).

4.3. Resultados parâmetro microbiológicos

4.3.1. Fungos mesófilos totais

Na Tabela 6, são apresentados os resultados da contagem de colónias de fungos em placa, por ponto de amostragem (sala) e escola. O valor UFC/m³ para o volume 250 L foi o utilizado para comparação com a legislação.

Tabela 6 – Quantificação em UFC/m³ de fungos mesófilos totais por ponto de amostragem.

| Escolas | Salas | UFC/m ³ média | | Valor P |
|---------|----------|--------------------------|---------|---------|
| | | 100 (L) | 250 (L) | |
| A * | 001 | 265 | 276 a) | 0,01 |
| | 002 | 410 | 374 a) | |
| | 003 | 510 | 538 a) | |
| | Exterior | - | 204 | |
| B | 004 | 155 | 204 | 0,13 |
| | 005 | 285 | 266 | |
| | 006 | 245 | 336 | |
| | 007 | 200 | 336 | |
| | Exterior | - | 736 | - |
| C * | 008 | 385 | 202 | 0,03 |
| | 009 | 815 | 510 a) | |
| | 010 | 480 | 334 | |
| | 011 | 590 | 442 | |
| | 012 | 540 | 460 | |
| | Exterior | - | 484 | - |
| D * | 013 | 5175 | 6492 a) | 0,003 |
| | 014 | 500 | 392 | |
| | 015 | 265 | 222 | |
| | 016 | 825 | 706 | |
| | Exterior | - | 776 | - |
| E | 017 | 780 | 636 | 0,9 |
| | 018 | 730 | 660 | |
| | 019 | 665 | 644 | |
| | Exterior | - | 10512 | |
| F * | 020 | 1590 | 2180 a) | 0,01 |
| | 021 | 500 | 332 | |
| | 022 | 310 | 288 | |
| | 023 | 310 | 230 | |
| | Exterior | - | 444 | - |
| G * | 024 | 450 | 410 | 0,02 |
| | 025 | 690 | 1016 a) | |
| | 026 | 495 | 386 | |
| | Exterior | - | 1076 | |
| H * | 027 | 410 | 256 | 0,03 |
| | 028 | 810 | 314 | |
| | 029 | 1110 | 986 a) | |
| | 030 | 460 | 394 | |
| | Exterior | - | 480 | - |

Valores sem nenhuma indicação encontram-se dentro das condições de referência e em conformidade com a legislação (Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho- Figura 15, 17 e 18 - Anexos).

a) Valor em inconformidade legal (Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho).

* Escola com diferença estatisticamente significativa entre as concentrações de UFC/m³ entre as salas de uma mesma escola.

As concentrações (UFC/m³) obtidas para os volumes de 100 L e 250 L não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre eles ($p=0,08$), no entanto existiram diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações (UFC/m³) das salas de todas as escolas ($p=0,01$). E o mesmo se apurou entre as salas de uma mesma escola, onde se verificaram diferenças estatisticamente significativas para as concentrações (UFC/m³) das Escolas A, C, D, F, G e H, mas não existiram evidências suficientes para as Escolas B e E. Verificou-se igualmente a existência de uma tendência estatisticamente significativa ($p=0,01$) com direção crescente ($\rho=0,298$).

Na Figura 8, encontram-se representadas as diferentes colónias de fungos mesófilos, na Tabela 7 as contagens médias totais de UFC/m³ e dos grupos de características morfológicas das colónias. O valor médio foi obtido através do parâmetro estatístico média.

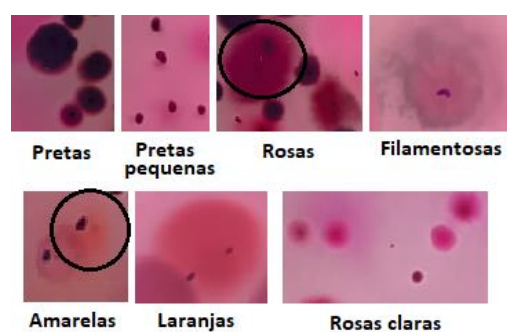


Figura 8 – Colónia de fungos mesófilos encontradas no meio RCBA.

Tabela 7 – Caracterização morfologia de fungos mesófilos por escola.

| Escolas | Morfologia das colónias | 100 L | | 250 L | | Exterior 250 L | |
|---------|-------------------------|---------|--------------------------|---------|--------------------------|----------------|--------------------------|
| | | % Grupo | UFC/m ³ média | % Grupo | UFC/m ³ média | % Grupo | UFC/m ³ média |
| A | Pretas | 37% | 410 | 34% | 412 | 32% | 204 |
| | Pretas pequenas | 21% | | 26% | | | |
| | Rosas | 26% | | 28% | | | |
| | Rosas claras | 11% | | 9% | | | |
| | Amarelas | 3% | | 1% | | | |
| | Laranjas | 3% | | 1% | | | |
| B | Pretas | 28% | 300 | 34% | 412 | 35% | 736 |
| | Pretas pequenas | 21% | | 26% | | | |
| | Rosas | 34% | | 28% | | | |
| | Rosas claras | 10% | | 9% | | | |
| | Amarelas | 3% | | 1% | | | |
| | Laranjas | 3% | | 1% | | | |

| Escolas | Morfologia das colónias | 100 L | | 250 L | | Exterior 250 L | |
|---------|-------------------------|---------|--------------------------|---------|--------------------------|----------------|--------------------------|
| | | % Grupo | UFC/m ³ média | % Grupo | UFC/m ³ média | % Grupo | UFC/m ³ média |
| C | Pretas | 35% | 570 | 35% | 404 | 35% | 484 |
| | Pretas pequenas | 29% | | 27% | | 51% | |
| | Rosas | 23% | | 28% | | 3% | |
| | Rasas claras | 10% | | 9% | | 9% | |
| | Amarelas | 2% | | 1% | | 1% | |
| | Laranjas | 2% | | 1% | | - | |
| D | Pretas | 55% | 1350 | 48% | 948 | 43% | 776 |
| | Pretas pequenas | 30% | | 19% | | - | |
| | Rosas | 5% | | 25% | | 41% | |
| | Rasas claras | 2% | | 1% | | 9% | |
| | Filamentoso | 8% | | 7% | | 1% | |
| E | Pretas | 56% | 740 | 68% | 700 | 43% | 10512 |
| | Pretas pequenas | 17% | | 12% | | 54% | |
| | Rosas | 12% | | 8% | | - | |
| | Amarelas | - | | 2% | | 1% | |
| | Rasas claras | 6% | | 3% | | - | |
| | Filamentoso | 9% | | 6% | | 3% | |
| F | Pretas | 16% | 920 | 18% | 632 | 77% | 444 |
| | Pretas pequenas | 6% | | 10% | | 9% | |
| | Rosas | 8% | | 7% | | 10% | |
| | Amarelas | 1% | | 1% | | 4% | |
| | Rasas claras | 3% | | 2% | | - | |
| | Filamentoso | 66% | | 61% | | - | |
| | Laranjas | - | | 1% | | - | |
| G | Pretas | 57% | 560 | 50% | 612 | 56% | 1076 |
| | Pretas pequenas | 22% | | 16% | | 34% | |
| | Rosas | 12% | | 10% | | - | |
| | Amarelas | 2% | | 2% | | 3% | |
| | Filamentoso | 4% | | 3% | | 7% | |
| | Laranjas | 4% | | 4% | | - | |
| H | Pretas | 46% | 780 | 52% | 480 | 72% | 480 |
| | Pretas pequenas | 17% | | 16% | | 14% | |
| | Rosas | 13% | | 10% | | - | |
| | Amarelas | 1% | | 2% | | 1% | |
| | Filamentoso | 20% | | 17% | | 13% | |
| | Laranjas | 3% | | 3% | | - | |

Na Tabela 8 apresenta-se uma identificação presuntiva dos géneros possíveis face as características morfológicas das colónias de fungos mesófilos no meio RBCA, para uma identificação conclusiva seriam necessários testes microscópicos e bioquímicos.

Tabela 8 – Identificação presuntiva dos géneros, baseado nas características morfológicas das colónias de fungos mesófilos.

| Morfologia das colónias | Género presuntivo baseado nas características morfológicas |
|-------------------------|--|
| Pretas | <i>Cladosporium spp.</i> , <i>Aspergillus spp.</i> , <i>Alternaria spp.</i> , <i>Aureobasidium spp.</i> : |
| Pretas pequenas | <i>Cladosporium spp.</i> , <i>Aspergillus spp.</i> , <i>Epicoccum spp.</i> , <i>Nigrospora spp.</i> |
| Rosas | <i>Rhodotorula spp.</i> , <i>Candida spp.</i> (leveduras) |
| Rasas claras | <i>Rhodotorula spp.</i> , <i>Candida spp.</i> , <i>Trichosporon spp.</i> (leveduras) |
| Amarelas | <i>Aspergillus spp.</i> , <i>Chrysonilia spp.</i> |
| Laranjas | <i>Penicillium spp.</i> , <i>Epicoccum spp.</i> , <i>Neurospora spp.</i> |
| Filamentoso | <i>Aspergillus spp.</i> , <i>Penicillium spp.</i> , <i>Trichoderma spp.</i> , <i>Mucor spp.</i> , <i>Rhizopus spp.</i> |

4.3.2. Bactérias mesófilas aeróbias totais

Na Tabela 9, são apresentados todos os resultados da contagem de colónias de bactérias por ponto de amostragem (sala) e escola. Destaca-se o valor em UFC/m³, do volume de 250 L para comparação com a legislação.

Tabela 9 – Quantificação em UFC/m³ de bactérias mesófilas aeróbias totais por ponto de amostragem.

| Escolas | Salas | UFC/m ³ média | | Valor P |
|---------|----------|--------------------------|----------|---------|
| | | 100 (L) | 250 (L) | |
| A | 001 | 1210 | 1211 a) | 0,47 |
| | 002 | 1212 | 1213 a) | |
| | 003 | 1214 | 1215 a) | |
| | Exterior | - | 40 | |
| B | 004 | 905 | 314 | 0,404 |
| | 005 | 945 | 530 | |
| | 006 | 695 | 820 a) | |
| | 007 | 950 | 820 a) | |
| | Exterior | - | 392 | - |
| C* | 008 | 1035 | 862 a) | 0,007 |
| | 009 | 26280 | 10512 a) | |
| | 010 | 3645 | 10512 a) | |
| | 011 | 1320 | 4290 a) | |
| | 012 | 1670 | 10512 a) | |
| | Exterior | - | 252 | - |
| D | 013 | 4565 | 3266 a) | 0,19 |
| | 014 | 13940 | 4628 a) | |
| | 015 | 2625 | 3862 a) | |
| | 016 | 2315 | 1820 a) | |
| | Exterior | - | 264 | - |
| E* | 017 | 5115 | 2650 a) | 0,01 |
| | 018 | 835 | 1064 a) | |
| | 019 | 1485 | 2396 a) | |
| | Exterior | - | 232 | |
| F | 020 | 1625 | 1722 a) | 0,74 |
| | 021 | 1300 | 2084 a) | |
| | 022 | 1250 | 1146 a) | |
| | 023 | 2195 | 1550 a) | |
| | Exterior | - | 460 | - |
| G* | 024 | 2445 | 2204 a) | 0,02 |
| | 025 | 1185 | 546 a) | |
| | 026 | 1155 | 576 a) | |
| | Exterior | - | 148 | |
| H* | 027 | 1960 | 6896 a) | 0,02 |
| | 028 | 1390 | 1116 a) | |

| | | |
|----------|-------|---------|
| 029 | 13470 | 2362 a) |
| 030 | 460 | 394 |
| Exterior | - | 488 |

a) Valor em inconformidade legal (Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho).

* Escola com diferença estatisticamente significativa entre as concentrações de UFC/m³ entre as salas de uma mesma escola.

As concentrações (UFC/m³) obtidas para os volumes de 100 L e 250 L não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre eles ($p=0,26$), no entanto existiram diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações (UFC/m³) das salas de todas as escolas ($p=0,01$). E o mesmo se apurou entre as salas de uma mesma escola, onde se verificaram diferenças estatisticamente significativas nas concentrações (UFC/m³) para as Escolas C, E, G e H, mas não existiram evidências suficientes para as Escolas A, B, D e F. No entanto não se verificou a existência de uma tendência estatisticamente significativa ($p=0,43$) para as concentrações (UFC/m³) entre as salas de uma mesma escola.

Na Figura 9, encontram-se representadas as diferentes colónias de bactérias mesófilas aeróbias encontradas, e as suas respetivas contagens médias totais de UFC e dos grupos de características morfológicas das colónias, apresentadas na Tabela 10. O valor médio foi obtido pela aplicação do parâmetro estatístico média às contagens realizadas a cada placa.

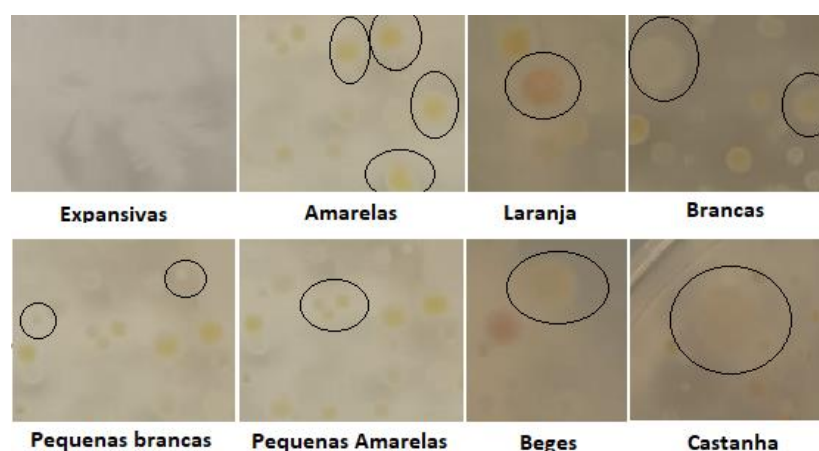


Figura 9 – Colónias de bactérias mesófilas aeróbias encontradas no meio TSA.

Tabela 10 – Caracterização morfologia de bactérias mesófilas aeróbias por escola.

| Escolas | Morfologia das colónias | 100 L | | Volume 250L | | Exterior 250 L | |
|---------|-------------------------|---------|--------------------------|-------------|--------------------------|----------------|--------------------------|
| | | % Grupo | UFC/m ³ média | % Grupo | UFC/m ³ média | % Grupo | UFC/m ³ média |
| A | Expansivas | 5% | 1580 | 3% | 1180 | 100% | 40 |
| | Amarelas | 30% | | 32% | | | |
| | Pequenas Amarelas | 54% | | 49% | | | |
| | Beges | 11% | | 16% | | | |
| | | | | | | | |
| B | Expansivas | 6% | 940 | 6% | 652 | 100% | 392 |
| | Amarelas | 19% | | 23% | | | |
| | Pequenas Amarelas | 56% | | 48% | | | |
| | Laranja | 1% | | 1% | | | |
| | Castanha | 16% | | 17% | | | |
| | Beges | 2% | | 5% | | | |

| Escolas | Morfologia das colónias | 100 L | | Volume 250L | | Exterior 250 L | |
|---------|-------------------------|---------|-----------------------------|-------------|-----------------------------|----------------|-----------------------------|
| | | % Grupo | UFC/m ³ média | % Grupo | UFC/m ³ média | % Grupo | UFC/m ³ média |
| C | Expansivas | 4% | 3810 | 3% | 5424 | 56% | 252 |
| | Amarelas | 31% | | 30% | | 44% | |
| | Castanha | 23% | | 19% | | - | |
| | Laranja | 4% | | 4% | | - | |
| | Beges | 7% | | 9% | | - | |
| | Pequenas Amarelas | 8% | | 12% | | - | |
| | Pequenas brancas | 23% | | 23% | | - | |
| D | Expansivas | 1% | 3990 | 1% | 5680 | 100% | 264 |
| | Amarelas | 38% | | 40% | | - | |
| | Laranja | 1% | | 1% | | - | |
| | Beges | 24% | | 28% | | - | |
| | Castanha | 15% | | 14% | | - | |
| | Pequenas Amarelas | 6% | | 5% | | - | |
| | Pequenas brancas | 14% | | 12% | | - | |
| E | Expansivas | 2% | 3140 | 1% | 5040 | 100% | 232 |
| | Castanha | 8% | | 7% | | - | |
| | Amarelas | 65% | | 56% | | - | |
| | Beges | 24% | | 34% | | - | |
| | Laranja | 2% | | 2% | | - | |
| | Pequenas brancas | 1% | | 1% | | - | |
| F | Expansivas | 1% | 2620 | 1% | 3412 | 100% | 460 |
| | Amarelas | 49% | | 42% | | - | |
| | Branças | 5% | | 9% | | - | |
| | Pequenas brancas | 33% | | 41% | | - | |
| | Castanha | 12% | | 7% | | - | |
| G | Expansivas | 2% | 2390 | 2% | 2228 | 100% | 148 |
| | Amarelas | 28% | | 48% | | - | |
| | Castanha | 12% | | 20% | | - | |
| | Pequenas Brancas | 28% | | 9% | | - | |
| | Laranja | 1% | | 1% | | - | |
| | Branças | 25% | | 16% | | - | |
| | Pequenas Amarelas | 4% | | 5% | | - | |
| H | Expansivas | 2% | 1750 | 1% | 1564 | 100% | 488 |
| | Amarelas | 26% | | 33% | | - | |
| | Laranja | 3% | | 2% | | - | |
| | Castanha | 17% | | 14% | | - | |
| | Pequenas brancas | 20% | | 24% | | - | |
| | Pequenas Amarelas | 11% | | 15% | | - | |
| | Pequenas beges | 20% | | 11% | | - | |

Na tabela 11, estão reunidos os resultados dos testes Gram, catalase e oxidase realizados a todas as colónias isoladas. Foram isoladas um total de 135 colónias de bactérias, segundo as suas características morfológicas. Onde no mínimo, 3 colónias do mesmo grupo morfológico, de cada ponto de amostragem (sala) foram repicadas. Foram agrupadas as classificações morfológicas, que apresentaram os mesmos resultados por ponto de amostragem e por fim por escola.

Tabela 11 – Resultados dos testes Gram, oxidase, catalase, realizado aos diferentes grupos morfológicos de colónias bacterianas mesófilas aeróbias.

| Escolas | Morfologia das colónias | Tipologia | Morfologia | Gram | Oxidase | Catalase | Análise presuntiva de géneros prováveis |
|---------|-------------------------|-----------|------------|------|---------|----------|---|
| A | Exterior | Bacilos | Duplos | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Expansivas | Bacilos | Duplos | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |

| Escolas | Morfologia das colónias | Tipologia | Morfologia | Gram | Oxidase | Catalase | Análise presuntiva de géneros prováveis |
|---------|-------------------------|-----------|------------|------|---------|----------|---|
| | Amarelas | Cocos | Agrupados | + | + | + | <i>Micrococcus</i> spp. |
| | Pequenas amarelas | Cocos | Agrupados | + | - | - | <i>Enterococcus</i> spp. |
| | Beges | Cocos | Linha | + | + | + | <i>Micrococcus</i> spp. |
| B | Exterior | Bacilos | Linha | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Expansivas | Bacilos | Duplos | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Amarelas | Cocos | Linha | + | + | + | <i>Micrococcus</i> spp. |
| | Pequenas amarelas | Cocos | Agrupados | + | - | - | <i>Enterococcus</i> spp. |
| | Laranja | Cocos | Duplos | + | - | + | <i>Staphylococcus</i> spp. |
| | Castanha | Bacilos | Duplos | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Beges | Cocos | Linha | + | + | + | <i>Micrococcus</i> spp. |
| | Exterior Amarela | Cocos | Agrupados | + | + | + | <i>Micrococcus</i> spp. |
| C | Exterior Expansiva | Bacilos | Duplos | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Expansivas | Bacilos | Duplos | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Amarelas | Cocos | Linha | + | + | + | <i>Micrococcus</i> spp. |
| | Castanha | Bacilos | Duplos | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Laranja | Cocos | Duplos | + | - | + | <i>Staphylococcus</i> spp. |
| | Beges | Cocos | Linha | + | + | + | <i>Micrococcus</i> spp. |
| | Pequenas amarelas | Cocos | Agrupados | + | - | - | <i>Enterococcus</i> spp. |
| | Pequenas brancas | Cocos | Agrupados | + | - | + | <i>Staphylococcus</i> spp. |
| D | Exterior | Bacilos | Linha | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Expansivas | Bacilos | Duplos | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Amarelas | Cocos | Linha | + | + | + | <i>Micrococcus</i> spp. |
| | Laranja | Cocos | Duplos | + | - | + | <i>Staphylococcus</i> spp. |
| | Beges | Cocos | Linha | + | + | + | <i>Micrococcus</i> spp. |
| | Castanha | Bacilos | Duplos | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Pequenas amarelas | Cocos | Agrupados | + | - | - | <i>Enterococcus</i> spp. |
| | Pequenas brancas | Cocos | Agrupados | + | - | + | <i>Staphylococcus</i> spp. |
| E | Exterior | Bacilos | Linha | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Expansivas | Bacilos | Duplos | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Castanha | Bacilos | Duplos | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Amarelas | Cocos | Linha | + | + | + | <i>Micrococcus</i> spp. |
| | Beges | Cocos | Linha | + | + | + | <i>Micrococcus</i> spp. |
| | Laranja | Cocos | Duplos | + | - | + | <i>Staphylococcus</i> spp. |
| | Exterior | Bacilos | Linha | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| F | Amarelas | Cocos | Linha | + | + | + | <i>Micrococcus</i> spp. |
| | Branças | Cocos | Agrupados | + | + | + | <i>Micrococcus</i> spp. |

| Escolas | Morfologia das colônias | Tipologia | Morfologia | Gram | Oxidase | Catalase | Análise presuntiva de gêneros prováveis |
|---------|-------------------------|-----------|------------|------|---------|----------|---|
| G | Expansivas | Bacilos | Duplos | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Pequenas brancas | Cocos | Agrupados | + | - | + | <i>Staphylococcus</i> spp. |
| | Castanha | Bacilos | Duplos | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Exterior | Bacilos | Linha | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Amarelas | Cocos | Linha | + | + | + | <i>Micrococcus</i> spp. |
| | Castanha | Bacilos | Duplos | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Pequenas brancas | Cocos | Agrupados | + | + | + | <i>Micrococcus</i> spp. |
| | Laranja | Cocos | Duplos | + | - | + | <i>Staphylococcus</i> spp. |
| | Branças | Cocos | Agrupados | + | + | + | <i>Micrococcus</i> spp. |
| | Expansivas | Bacilos | Duplos | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| H | Pequenas amarelas | Cocos | Agrupados | + | - | - | <i>Enterococcus</i> spp. |
| | Exterior | Bacilos | Linha | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Expansivas | Bacilos | Duplos | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Amarelas | Cocos | Linha | + | + | + | <i>Micrococcus</i> spp. |
| | Laranja | Cocos | Duplos | + | - | + | <i>Staphylococcus</i> spp. |
| | Castanha | Bacilos | Duplos | - | + | + | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionella</i> spp. |
| | Pequenas brancas | Cocos | Agrupados | + | - | + | <i>Staphylococcus</i> spp. |
| | Pequenas amarelas | Cocos | Agrupados | + | - | - | <i>Enterococcus</i> spp. |
| | Pequenas beges | Cocos | Linha | + | - | + | <i>Staphylococcus</i> spp. |

Nos Gráficos 1 e 2 é demonstrada a predominância de bactérias mesófilas aeróbias Gram negativas e Gram positivas por escola.

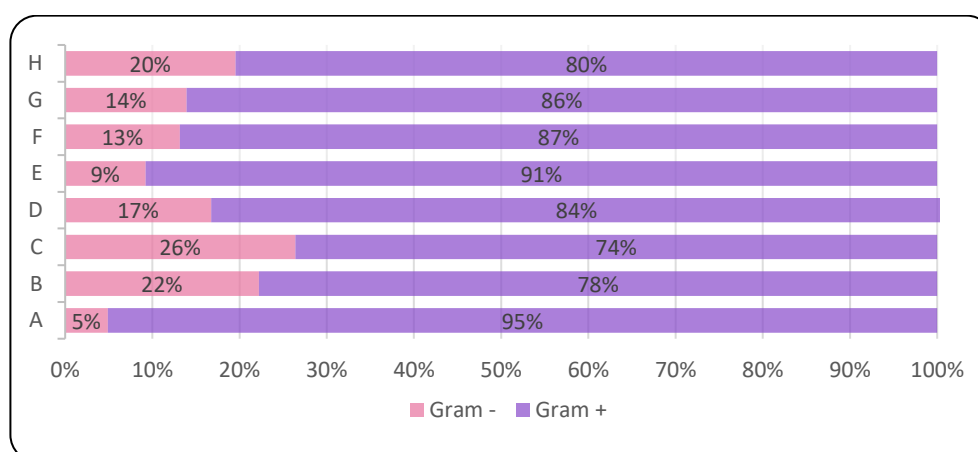


Gráfico 1 - Distribuição de bactérias Gram -/+ mesófilas aeróbias por escola no volume de 100L.

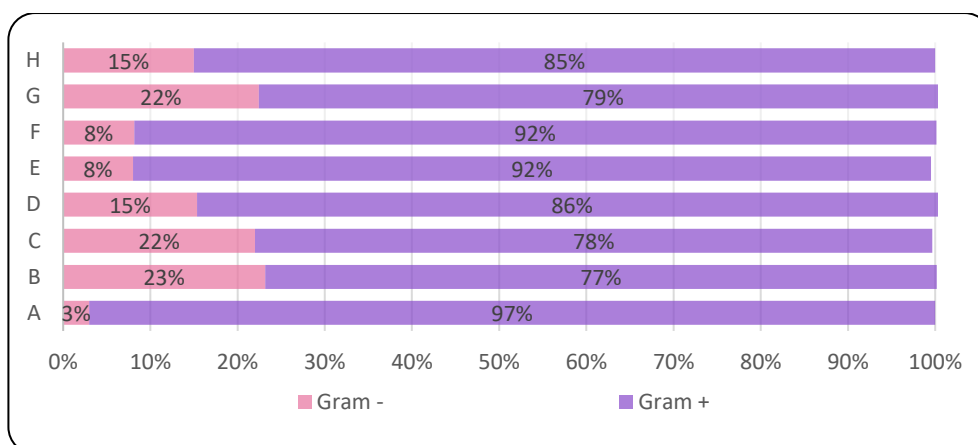


Gráfico 2 – Distribuição de bactérias Gram -/+ mesófilas aeróbias por escola no volume de 250L.

4.4. Resultados de identificações VITEK® 2 Compact

Os resultados obtidos para a identificação das colônias de bactérias mesófilas aeróbias, no *VITEK® 2 Compact*, foram os apresentados na Tabela 12. Em anexo, na Tabela 14 estão presentes os resultados bioquímicos utilizados para a identificação do microrganismo referente à colônia bacteriana a identificar, assim como o intervalo de confiança da identificação. Foram realizadas 16 identificações, de 2 colônias de cada grupo morfológico, de escolas diferentes.

Tabela 12 – Resultados da identificação das colônias de bactérias mais prevalentes, no VITEK® 2 Compact.

| Morfologia das colônias | VITEK® 2 Compact | Nível de confiança da identificação (VITEK® 2 Compact, 2022) |
|-------------------------|-----------------------------------|--|
| Expansivas | <i>Sphingomonas paucimobilis</i> | 90% - 95% |
| Amarelas | <i>Micrococos Luteus</i> | 75% - 85% |
| Pequenas Amarelas | <i>Enterococcus faecalis.</i> | 75% - 85% |
| Laranja | <i>Micrococos lylae</i> | 85% - 90% |
| Castanha | <i>Pseudomonas aeruginosas</i> | 85% - 90% |
| Beges | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 90% - 95% |
| Pequenas brancas | <i>Staphylococcus hominis</i> | 75% - 85% |
| Branças | <i>Enterococcus faecalis</i> | 75% - 85% |

5. Discussão

Para melhor compreendermos a qualidade do ar interior em escolas do 1º Ciclo do Ensino Básico de um município, que se enquadra, nas obrigações legais de Grandes Edifícios de Comércio e Serviços, GES, foram realizadas medições e recolhas de amostras de ar para análise em laboratório. Perfizeram-se um total de 120 amostras de ar para os parâmetros microbiológicos (fungos mesófilos, 60 e bactérias mesófilas aeróbias, 60), referentes aos 30 pontos de medição para os parâmetros físico-químicos.

Nos parâmetro físico-químicos, divididos em poluentes físico-químicos e conforto térmico, foram obtidos resultados promissores. Nos poluentes físico-químicos $PM_{2.5}$ e PM_{10} , todos os pontos de amostragem, que representam salas, das Escolas A e H encontram-se dentro dos limiares de proteção definidos na Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho e como tal em conformidade legal. Destas 30 salas, ou seja 100% que se encontram em conformidade legal, 33 % das salas para $PM_{2.5}$ e 7% para PM_{10} foi necessário a aplicação de uma margem de tolerância, definida nessa mesma portaria, para que se verifique essa conformidade. Quanto ao poluente físico-químico CO_2 um total de 3 salas, ou seja 10%, encontram em incumprimento legal, identificadas como 015, 023, 024, pertencendo cada sala a uma escola diferente, Escolas D, F e G, respetivamente, e as restantes 27 salas, ou seja 90%, em conformidade com os limiares de proteção da Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho. Neste poluente, 13% das salas foi necessário a aplicação de uma margem de tolerância, definida nessa mesma portaria, para que se encontrem dentro dos limiares de proteção. Posto isto, e tendo em conta o despacho n.º 1618/2022, de 9 de fevereiro onde se apenas uma sala não for conforme, todo o edifício é considerado não regulamentar, as Escolas A, B, C, E e H encontram-se em conformidade legal para todos os parâmetro físico-químicos $PM_{2.5}$, PM_{10} e CO_2 , enquanto as Escolas D, F e G apenas em conformidade legal para os parâmetros físico-químicos $PM_{2.5}$ e PM_{10} . Quanto à temperatura e % de humidade relativa, as Escolas D, E, G, F e H apresentam os valores recomendados pela norma técnica NP EN 16798-1:2019. No entanto a Escola B, apresenta temperaturas ideais, mas um ambiente muito seco, que pode causar desconforto, irritação das vias respiratórias, secura da pele e dos olhos, e possíveis problemas respiratórios. As Escolas A e C apresentam temperaturas ideais e uma % de humidade relativa dentro dos limites da referida norma, mas salientem-se a extremidade de ambas, onde a Escola A no extremo inferior 30% e a C no extremo superior. Estes resultados foram influenciados pelas condições atmosféricas do dia, que se encontram igualmente nesses extremos, a Escola A com valores exteriores de % de humidade relativa,

medidos pelo equipamento VelociCalc®, de 26.6% e valores da zona de 51%, e para a Escola C com valores medidos de 74.8% e da zona de 80%. Posto isto e segundo a classificação da norma técnica NP EN 16798-1:2019, as Escolas D, E, F, G e H, apresentando um nível elevado de conforto e as Escolas A, B e C apresentam um nível aceitável de conforto.

Nos parâmetros microbiológicos, os resultados obtidos não foram muito auspiciosos, tendo-se obtido resultados mais enquadrados com a legislação na quantificação de fungos mesófilos do que na de bactérias mesófilas aeróbias. Quanto aos fungos mesófilos, a Escola A, para o volume 250 L, dentro dos critérios da Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho, todas as salas encontram-se em incumprimento legal, em contrapartida, as Escolas B e E, todas se encontram em conformidade legal com o definido pela Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho. As restantes C, D, F, G e H possuem todas 1 sala em incumprimento legal e as restantes em conformidade. Para as 30 salas, 27% das salas encontram-se em incumprimento legal face à Portaria. Relativamente às bactérias mesófilas aeróbias as Escolas A, C, D, E, F e G para o volume 250 L, dentro dos critérios da Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho, todas as salas encontram-se em incumprimento legal. Apenas 3 salas (2 da Escola B e 1 da Escola H), se encontram em conformidade legal com o definido pela Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho. Para as 30 salas, 90% das salas encontram-se em incumprimento legal face à Portaria. Posto isto verifica-se que apenas as Escola B e E estão em conformidade legal para a pesquisa de fungos mesófilos e que todas as escolas estão em inconformidade legal para a pesquisa de bactérias mesófilas aeróbias. Estes resultados estão concordantes com a bibliografia encontrada, onde se verifica que as escolas em Portugal podem ter uma elevada carga microbiana e fúngica, o que representa um risco potencial para a saúde dos alunos e do pessoal. Como o caso do Pegas et al.(2011), em escolas de Lisboa e Santos, S. L. & Costa, F. M. (2020).

Para melhor compreender a complexidade do perfil microbiano destas escolas, foi necessário caracterizar morfológicamente as colónias obtidas em placa. Quanto as características morfológicas, os fungos possuem um contraste maior, em comparação as bactérias e como tal foram necessários realizar testes de caracterização de colónias e identificação para podermos perceber o número total de microrganismos presentes. Foram isolados um total de 7 fungos mesófilos e 8 bactérias mesófilas aeróbias no total das 8 escolas. Mas em nenhuma das 8 escolas foram detetadas essas variedades de microrganismos em simultâneo, variando entre 4 e 7 bactérias mesófilas aeróbias e 5 e 7 fungos mesófilos presentes no mesmo momento na mesma escola. Os resultados sugerem que no caso dos fungos mesófilos, parece existir um

alinhamento entre as concentrações presentes no interior e exterior na generalidade das escolas. Relativamente à contaminação bacteriana, a diversidade e concentração aumenta drasticamente no ambiente interior, em contraste com a bibliografia encontrada, (Dales, R. E et al., 2012; Madureira, J et al., 2016), que encontram semelhanças em alguns tipos de microrganismos no interior e exterior, mas que o ar interior apresenta uma maior diversidade e complexidade. Ora estes resultados, parecem estar diretamente relacionados com as atividades desenvolvidas nas mesmas, assim como, provavelmente da ausência de um programa de higienização eficiente. Adicionalmente, as ventilações dos espaços poderão ter influenciado os resultados, uma vez que as salas com maior carga bacteriana, também apresentaram valores de CO₂ mais elevados. Onde cruzando as escolas com resultados mais significativos como o caso das Escolas A, C, D, F, G e H para os fungos, das Escolas C, E, G e H para as bactérias e as Escolas C, D, E, F e G para os valores de CO₂ verifica-se essa tendência, onde se salienta as Escolas C e G com os valores mais altos para a concentração de CO₂ (mg/m³), que resultaram em valores significativos para ambas concentrações, de fungos e bactérias. Dos testes de caracterização constatou-se a presença de bactérias mesófilas aeróbia Gram negativas entre 3% a 26%, do total de UFC, e Gram positivas entre 74% a 97%, verifica-se por isso a presença maioritária de bactérias mesófilas aeróbias Gram positivas. Concordante com os resultados de outros estudos similares sobre a composição microbiana em escolas, onde Ferraz, L. F. et al., (2020) e Karami, S. et al., (2018), indicaram que, em ambientes escolares, a carga microbiana pode incluir até 70–80% de bactérias Gram-positivas, com Gram-negativas representando entre 20–30%.

Foram identificadas as bactérias mesófilas aeróbias isoladas, e verificou-se a presença das seguintes espécies: *Sphingomonas paucimobilis*, *Micrococos Luteus*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococos lylae*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus hominis*. A maioria destas espécies é frequentemente encontrada no interior de edifícios, como o caso dos estudos Li et al., (2021) e Chegini et al., (2020). A maioria destas bactérias faz parte da microbiota normal da pele ou do trato gastrointestinal humano, ou são encontradas em fontes ambientais como água e solo. Em ambientes internos, como escolas e edifícios de serviços, podem ser introduzidas através da ocupação humana, ventilação deficiente ou superfícies contaminadas. Embora muitos desses microrganismos sejam de baixa patogenicidade, eles podem causar infeções oportunistas em indivíduos imunocomprometidos. No entanto a presença de Gram negativas não deve ser ignorada, uma vez que é nestas que ocorre o risco de presença de endotoxinas no ambiente, que despoletam reações nefastas no ser humano, e face

estas percentagens torna-se relevante a pesquisa de endotoxinas. Não se encontra definido nenhum limite a partir do qual se recomenda a pesquisa de endotoxinas, mas segundo o guia da FDA, (2012) é recomendando a realização de testes em concentrações a partir de 1% a 5% de bactérias Gram-negativas para ambientes críticos como ambientes farmacêuticos (fabricas de medicamentos) ou hospitais. Enquanto o seu homólogo europeu, European Pharmacopoeia Commission, (2014), define a quantificação de endotoxinas em produtos farmacêuticos e ambientes críticos, mas acrescenta a importância da sua pesquisa em locais ocupados por populações sensíveis (crianças, idosos, imunocomprometidos), como o caso de escolas, lares e hospitais. Enquanto a *Sphingomonas paucimobilis* representa um risco menor em termos de produção de toxinas, a *Pseudomonas aeruginosa* é uma preocupação significativa devido à sua capacidade de sobreviver em biofilmes, à sua resistência a antibióticos e a sua capacidade de produzir endotoxinas, que podem causar sérias complicações clínicas. A vigilância e o controlo rigoroso são essenciais para mitigar os riscos associados a essas bactérias em ambientes internos, tal como referido por El-Naggar et al. (2019).

Relativamente as colónias de fungos mesófilos presentes, que não foram identificadas, apenas caracterizadas face ao seu aspeto morfológico em meio RBCA parecem ser correspondentes aos géneros e espécies descritos na literatura, por Chegini et al., (2020); Li et al., (2021), como o caso das espécies fúngicas *Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *Rhodotorula* spp., *Ulocladium* spp. e *Alternaria* spp..

Pela realização dos testes estatísticos verificou-se que os dados não apresentam uma distribuição normal, sendo necessário aplicar testes não paramétricos. Desses testes constatamos que não há uma diferença estatisticamente significativa entre as concentrações de UFC/m³ nos volumes de 100 L e 250 L, portanto, os resultados indicam que as concentrações são semelhantes entre os dois volumes. Este pressuposto é o mesmo tanto nos dados de concentrações em UFC/m³ de fungos mesófilos totais e de bactérias mesófilas aeróbias totais. Verificou-se igualmente existirem diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações de UFC/m³ das salas de uma mesma escola, para a maioria das escolas, assim como diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações de UFC/m³ das escolas. Estes pressupostos repetem-se tanto para fungos mesófilos totais, como para bactérias mesófilas aeróbias totais. Os testes de correlação (Correlação de Spearman) demonstraram, que para os fungos mesófilos existe uma tendência estatisticamente significativa com direção crescente entre as concentrações de UFC/m³ e as salas realizadas para cada escola. É possível

por isso relacionar estas duas variáveis e aferir que conforme as medições das salas foram sendo efetuadas, foram sendo obtidos valores cada vez mais superiores para a concentração fúngica de UFC/m³. Como as medições das salas foram efetuadas ao longo do período da manhã ou do período da tarde, para uma mesma escola, e relacionado com a bibliografia encontrada, verificamos que a concentração de fungos mesófilos no ar das escolas varia ao longo do dia, aumentando ao longo do dia com o passar das horas (Chawla et al., 2023). O mesmo é sugerido para a concentração bacteriana, no entanto, o mesmo não pode ser estabelecido neste trabalho, onde se verifica resultados mais uniformes ao longo dos pontos de medição / salas.

6. Conclusão

A qualidade do Ar Interior (QAI) em edifícios de grandes dimensões, como os Grandes Edifícios de Comércio e Serviços (GES), está sujeita a diversas obrigações legais para garantir a saúde e o bem-estar dos ocupantes, pelos Decreto-Lei n.º 101-D/2020, Portaria n.º 138-G/2021, e o Despacho n.º 1618/2022. Fazem parte destas obrigações a: avaliação periódica da QAI (medições de parâmetros como dióxido de carbono (CO₂), monóxido de carbono (CO), compostos orgânicos voláteis (COVs), partículas em suspensão, radão e outros contaminantes), por entidades acreditadas; a sua conformidade com os limites legais; a manutenção regular dos sistemas de ventilação (como a troca de filtros e a limpeza de condutas); a certificação energética (que avalia a QAI, eficiência energética e desempenho dos sistemas de climatização) e a existência de planos de manutenção documentados para os sistemas de ventilação e climatização (onde são registadas todas as intervenções de manutenção e monitorização da QAI). O incumprimento destas obrigações resulta na aplicação de sanções (multas ou ações corretivas a aplicar), pelas entidades componentes como (ADENE, DGS, APA, IGAOT, CM).

Com este estudo da avaliação da qualidade interior de escolas do 1º Ciclo do Ensino Básico de um município, que se enquadra num GES, foi constatado que: quanto aos parâmetros físico-químicos as Escolas A, B, C, E e H encontram-se em conformidade legal para todos os parâmetro físico-químicos PM_{2,5}, PM₁₀ e CO₂, enquanto as Escolas D, F e G apenas em conformidade legal para os parâmetros físico-químicos PM_{2,5} e PM₁₀, e segundo a classificação da norma técnica NP EN 16798-1:2019, as Escolas D, E, F, G e H, apresentando um nível elevado de conforto e as Escolas A, B e C apresentam um nível aceitável de conforto, recomenda-se, no entanto, uma revisão do isolamento para fazer face as influências das condições atmosféricas do ar externo; quanto aos parâmetros microbiológicos verifica-se que apenas as Escola B e E estão em conformidade legal para a pesquisa de fungos mesófilos e que todas as escolas estão em inconformidade legal para a pesquisa de bactérias mesófilas aeróbias. Face estes resultados é necessário implementar medidas de mitigação, que baseando-nos no Despacho n.º 1618/2022, de 9 de fevereiro incluem, levantamento das fontes prováveis de contaminação do ar, limpeza e desinfeção dos sistemas de ventilação, incluindo condutas de ar e filtros de ar, melhorar a ventilação natural ou mecânica para garantir a renovação adequada do ar, implementar rotinas de limpeza e renovação do ar como abertura de janelas durante o intervalo e durante um determinado tempo após entrada dos alunos na sala, entre outras adequadas a função da sala, e medidas de controlo como garantir a manutenção regular dos sistemas de ventilação e aquecimento. A variabilidade fúngica no

interior das escolas foi semelhante ao exterior, mas a bacteriana foi bastante maior. Apesar de a maioria das bactérias mesófilas aeróbias, que são patogénicas para o ser humano, ser as Gram positivas, a presença de negativas não é negligenciável, e face ao grupo de risco presente, crianças, recomendando-se face aos valores obtidos a pesquisa de endotoxinas como estabelecidos nas guidelines da *Food and Drug Administration* (FDA -U.S.) e da *European Pharmacopoeia Commission* (2023).

Foi possível igualmente por comparação e análises estatística, estabelecer que amostragens de ar nos volumes de 100 L e 250 L, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas nas concentrações de UFC/m³, podendo ser um dado importante para a escolha do volume a utilizar face ao objetivos, uma vez que volume entre 200 L e 300L um requisito legal para comparação para conformidade legal, mas volumes de 100 L permitem a obtenção de colónias mais isolas, permitindo mais facilmente a caracterização e identificação. Verificou-se que as concentrações de UFC/m³, variavam entre as salas e entre as escolas, verificando-se uma tendência ascendente para os fungos mesófilos.

Face a estas constatações, assim como a realizadas noutros estudos, (Chegini et al., 2020; Li et al., 2021; Sousa, 2022), tem sido verificada esta tendência, de a concentração de microrganismos no ar das escolas variar ao longo do dia, aumentando durante os períodos de maior atividade, como intervalos e mudanças de aula, onde más ventilações, aumentará significativamente a concentração. Assim como a densidade de ocupação, estar diretamente correlacionada com a concentração de bactérias no ar. Ressalva-se por isso a importância das medidas de controlo adequadas à função, tipologia e ocupação do edifício e a necessidade de uma abordagem abrangente e contínua para a gestão da qualidade do ar interior nas escolas do 1º ciclo, particularmente no que diz respeito aos parâmetros microbiológicos. Sendo importante rever os sistemas de ventilação, natural e/ou mecânica, pois a renovação do ar é insuficiente, implementação de um sistema de filtragem de ar, com filtros de alta eficiência (HEPA), com manutenção regular e rotinas rigorosas de higienização dos espaços e superfícies, técnicas que minimizam a ressuspensão de partículas como aspirar em vez de varrer e sistemas purificadores como uso da luz UV para eliminação de microrganismos do ar.

A continuidade na pesquisa e na aplicação de novas diretrizes será essencial para a proteção da saúde e o bem-estar dos ocupantes desses edifícios.

7. Referências Bibliográficas

ADENE - Agência para a Energia. (2024). <https://www.sce.pt/legislacao/>

Agência Portuguesa do Ambiente (APA). (2021). <https://apambiente.pt/ar-e-ruído/qualidade-do-ar>

Al Hallak, M., Verdier, T., Bertron, A., Roques, C., & Bailly, J.-D. (2023). Fungal Contamination of Building Materials and the Aerosolization of Particles and Toxins in Indoor Air and Their Associated Risks to Health: A Review. *Toxins*, 15(3). <https://doi.org/10.3390/toxins15030175>

Almeida, M. M. de, Lopes, I., & Nunes, C. (2010). Caracterização da qualidade do ar interior em Portugal – Estudo HabitAR. *Revista Portuguesa Imunoalergologia* 2010; :, 18(1), 21–38.

Amin, H., Šantl-Temkiv, T., Cramer, C., Finster, K., Rea, F. G., Gislason, T., Holm, M., Janson, C., Jögi, N. O., Jogi, R., Malinowski, A., Marshall, I. P. G., Modig, L., Norbäck, D., Shigdel, R., Sigsgaard, T., Svanes, C., Thorarinsdottir, H., Wouters, I. M., ... Bertelsen, R. J. (2023). Indoor Airborne Microbiome and Endotoxin: Meteorological Events and Occupant Characteristics Are Important Determinants. *Environmental Science & Technology*, 57(32), 11750–11766. <https://doi.org/10.1021/acs.est.3c01616>

Andualem, Z., Gizaw, Z., Bogale, L., & Dagne, H. (2019). Indoor bacterial load and its correlation to physical indoor air quality parameters in public primary schools. *Multidisciplinary Respiratory Medicine*, 2. <https://doi.org/10.1186/s40248-018-0167-y>

Argyropoulos, C. D., Skoulou, V., Efthimiou, G., & Michopoulos, A. K. (2023). Airborne transmission of biological agents within the indoor built environment: A multidisciplinary review. *Air Quality, Atmosphere and Health*, 16, 477–533. <https://doi.org/10.1007/s11869-022-01286-w>

- Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE). (2024).
<https://www.asae.gov.pt/perguntas-frequentes1/area-economica/qualidade-do-ar-interior.aspx>
- Awuchi, C. G., Ondari, E. N., Nwozo, S., Odongo, G. A., Eseoghene, I. J., Twinomuhwezi, H., Upadhyay, A. K., Ogbonna, C. U., Adeleye, A. O., & Okpala, C. O. R. (2022). Mycotoxins' Toxicological Mechanisms Involving Humans, Livestock and Their Associated Health Concerns: A Review. *Toxins*, 14(3).
<https://doi.org/10.3390/toxins14030167>
- Campos, A. F. C. de M. (2021). A poluição atmosférica nas áreas urbanas: Fatores desencadeantes, consequências e medidas de mitigação. Universidade de Lisboa.
- Chawla, H., Anand, P., Garg, K., Bhagat, N., Varmani, S. G., Bansal, T., McBain, A. J., & Marwah, R. G. (2023). A comprehensive review of microbial contamination in the indoor environment: Sources, sampling, health risks, and mitigation strategies. *Frontiers Public Health*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1285393>
- Chegini, F. M., Baghani, A. N., Hassanvand, M. S., Sorooshian, A., Golbaz, S., Bakhtiari, R., Ashouri, A., Joubani, M. N., & Alimohammadi, M. (2020). Indoor and outdoor airborne bacterial and fungal air quality in kindergartens: Seasonal distribution, genera, levels, and factors influencing their concentration. *Building and Environment*, 175(15).
<https://doi.org/10.1016/j.buildenv.2020.106690>
- Dales, R. E, Zwan, M. A, & Liu, L. J. S. (2012). Indoor air quality and the prevalence of asthma and allergic symptoms in children. *Indoor Air*, 22(1), 10–15.
- Decreto-Lei n.º 101-D/2020 de 7 de dezembro (No. 237; Versão Pág. 7-(21)). (2020).
- Decreto-Lei n.º 102/2010, de 23 de setembro (No. 186; Versão Série I). (2010). (Páginas 4177 - 4205)
- Despacho n.º 1618/2022 (No. 28; Versão 2.ª série). (2022). (Pág. 189)

- Direção-Geral da Saúde (DGS). (2024). <https://www.dgs.pt/saude-a-a-z.aspx>
- DIRETIVA 2008/50/CE. (2008).
- Douwes, J., Thorne, P., Pearce, N., & Heederik, D. (2003). Bioaerosol health effects and exposure assessment: Progress and prospects. *The Annals of Occupational Hygiene*, 47(3), 187–200. <https://doi.org/10.1093/annhyg/meg032>
- D'Ovidi, M. C., Renzi, S. D., Capone, P., & Pelliccioni, A. (2021). Pollen and Fungal Spores Evaluation in Relation to Occupants and Microclimate in Indoor Workplaces. *Sustainability*, 13(6). <https://doi.org/10.3390/su13063154>
- DustTrak™ II Aerosol Monitor 8530. (2024). <https://tsi.com/products/aerosol-and-dust-monitors/aerosol-and-dust-monitors/dusttrak%E2%84%A2-ii-aerosol-monitor-8530>
- El-Naggar, M. Y., Hamdan, A. M., Beltagy, E. A., Ibrahim, H. A. H., & Moustafa, M. M. M. (2019). Endotoxin Production by *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 with Potential Medical Applications. *Jornal of Pure and Applied Microbioly*, 13(1), 97–106. <https://dx.doi.org/10.22207/JPAM.13.1.10>
- Engelkirk, P. G., & Duben-Engelkirk, J. (2012). Burton—Microbiologia para as Ciências da Saúde (9ª). Guanabara-Koogan.
- European Environment Agency. (2024). <https://www.eea.europa.eu/publications/air-quality-in-europe-2021>
- European Pharmacopoeia Commission. (2014). 2.6.14. Bacterial endotoxins. EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 8.0. https://assets-us-01.kc-usercontent.com/49d837e7-4c3e-0071-59f0-cb4344fbf121/5993b6dd-bd46-4f7c-be29-4b826caeb4ff/Ph_Eur_policy_for_Pharmeuropa_E.pdf
- FDA, U. S. (2012). Guidance for Industry: Pyrogen and Endotoxins Testing: Questions and Answers. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration.

- Ferraz, L. F., Gonçalves, R. D. D., & Oliveira, A. C. (2020). Characterization of mesophilic aerobic bacteria from indoor environments in schools. *Environmental Monitoring and Assessment*, 192(7), 447.
- Jomehzadeh, N., Moosavian, M., Saki, M., & Rashno, M. (2019). Legionella and legionnaires' disease: An overview. *Journal of Acute Disease*, 8(6), 221–232. <https://doi.org/doi:10.4103/2221-6189.272853>
- Karami, S., Mohammadi, A., & Hossaini, M. (2018). Microbial contamination in educational environments: A review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 190(1), 51.
- Kotzias, D., European Commission, & Joint Research Centre, Institute for Health and Consumer Protection. (2012, janeiro). Clearing the pollution indoors. *Fresenius environmental bulletin*, 21(11), 3212–3214.
- Kowalski, W. (2009). *Ultraviolet Germicidal Irradiation Handbook: UVGI for Air and Surface Disinfection*. Springer.
- Kumar, R., Verma, V., Thakur, M., Singh, G., & Bhargava, B. (2023). A systematic review on mitigation of common indoor air pollutants using plant-based methods: A phytoremediation approach. *Air Quality, Atmosphere & Health*, 16, 1501–1527. <https://doi.org/10.1007/s11869-023-01326-z>
- Li, M., Zhang, Y., Li, H., Wang, Y., & Chen, Y. (2021). Microbial communities in indoor environments: Airborne bacterial and fungal microbiota in school classrooms. *Indoor Air*, 31(5), 1363-1375.
- Liebers, V., Brüning, T., & Raulf, M. (2020). Occupational endotoxin exposure and health effects. *Archives of Toxicology*, 94, 3629–3644. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02905-0>
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattler, W. M., & Stahl, D. A. (2018). *Brock Biology of Microorganisms* (15.^a ed.).

- Madureira, J, Paciência, I, Pereira, C, Teixeira, JP, & Fernandes, EO. (2016). Indoor air quality in Portuguese schools: Levels and sources of pollutants. *Indoor Air*, 26(4), 526–537. <https://doi.org/10.1111/ina.12237>
- Majd, E., McCormack, M., Davis, M., Curriero, F., Berman, J., Connolly, F., Leaf, P., Rule, A., Green, T., Clemons-Erby, D., Gummerson, C., & Koehler, K. (2019). Indoor air quality in inner-city schools and its associations with building characteristics and environmental factors. *Environmental Research*, 170, 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.12.012>
- Mamuya, S., & Bachwenkizi, J. (2024). Review of Indoor Air Pollution in Developing Countries. Em *International Encyclopedia of Public Health* (Third Edition, Vol. 6, pp. 198–203). <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99967-0.00273-8>
- Manual do equipamento MAS-100®. (2022). MBV AG. https://uk.vwr.com/assetsvc/asset/en_GB/id/39229872/contents/manual-mas-100-atmos.pdf
- MBV-AG, M. and B. (2024). MICROBIAL AIR SAMPLER MAS-100 NT®. <https://www.mbv.ch/en/microbial-air-samplers/mas-100-nt/>
- Monoson, A., Schott, E., Ard, K., Kilburg-Basnyat, B., Tighe, R. M., Pannu, S., & Gowdy, K. M. (2023). Air pollution and respiratory infections: The past, present, and future. *Toxicological Sciences*, 192(1), 3–14. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfad003>
- Nagendra, S. M. S., & Chithra, V. S. (2021). 5. Indoor Air Quality. Em *Urban Air Quality Monitoring, Modelling and Human Exposure Assessment*. Springer Singapore.
- Niu, M., Shen, F., Zhou, F., Zhu, T., Zheng, Y., Yang, Y., Sun, Y., Li, X., Wu, Y., Fu, P., & Tao, S. (2020). Indoor air filtration could lead to increased airborne endotoxin levels. *Environment International*, 142. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105878>

- Pawankar, R. (2014). Allergic diseases and asthma: A global public health concern and a call to action. *World Allergy Organization Journal*, 7, 1–3. <https://doi.org/10.1186/1939-4551-7-12>
- Pegas, P. N., Alves, C. A., Evtugina, M. G., Nunes, T., Cerqueira, M., Franchi, M., Pio, C. A., Almeida, S. M., & Freitas, M. C. (2011). Indoor air quality in elementary schools of Lisbon in spring. *Environ Geochem Health* ., 33(5), 455–468. <https://doi.org/10.1007/s10653-010-9345-3>
- Pegas, P. N., Nunes, T., Alves, C. A., Silva, J. R., Vieira, S. L. A., Caseiro, A., & Pio, C. A. (2012). Indoor and outdoor characterisation of organic and inorganic compounds in city centre and suburban elementary schools of Aveiro, Portugal. *Atmospheric Environment*, 55, 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.03.059>
- Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho (No. 126; Versão 1.ª série). (2021). (Pág. 128-(2))
- Rolph, C. A., Gwyther, C. L., Tyrrel, S. F., Nasir, Z. A., Drew, G. H., Jackson, S. K., Hayes, E. T., Williams, B., Bennett, A., Collins, S., Walsh, K., Kinnersley, R., & Gladding, T. L. (2018). Sources of Airborne Endotoxins in Ambient Air and Exposure of Nearby Communities—A Review. *Atmosphere*, 9(10), 375. <https://doi.org/10.3390/atmos9100375>
- Sadrizadeh, S., Yao, R., Yuan, F., Awbi, H., Bahnfleth, W., Bi, Y., Cao, G., Croitoru, C., Dear, R. de, Haghghat, F., Kumar, P., Malayeri, M., Nasiri, F., Ruud, M., Sadeghian, P., Wargoeki, P., Xiong, J., Yu, W., & Li, B. (2022). Indoor air quality and health in schools: A critical review for developing the roadmap for the future school environment. *Journal of Building Engineering*, 57. <https://doi.org/10.1016/j.jobe.2022.104908>
- Salonen, H., Duchaine, C., Létourneau, V., Mazaheri, M., Laitinen, S., Clifford, S., Mikkola, R., Lappalainen, S., Reijula, K., & Morawska, L. (2016). Endotoxin levels and

- contribution factors of endotoxins in resident, school, and office environments—A review. *Atmospheric Environment*, 142(6), 360–369. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.08.018>
- Santos, S. L., & Costa, F. M. (2020). Microbial contamination in school environments: A review." *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(12), 4389. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(12), 4389.
- Schultz, E. S., Litonju, A. A., & Melén, E. (2017). Effects of Long-Term Exposure to Traffic-Related Air Pollution on Lung Function in Children. *Allergies and the Environment* (M Hernandez, Section Editor), 17.
- Simon, A. K., Hollander, G. A., & McMichael, A. (2015). Evolution of the immune system in humans from infancy to old age. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1821). <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.3085>
- Sousa, J. (2022). Association between home characteristics and occupant's behaviours and concentrations of bacteria, fungi and endotoxins. *Journal of Building Engineering*, 45. <https://doi.org/10.1016/j.jobe.2021.103409>
- Sundell, J. (2004). On the history of indoor air quality and health. *Indoor Air*, 14(7), 51–58. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0668.2004.00273.x>
- Tehrani, S. S., Hosseini, H. M., & Mirhosseini, S. A. (2024). Evaluation of Anti-endotoxin Activity, Hemolytic Activity, and Cytotoxicity of a Novel Designed Peptide: An In Silico and In Vitro Study. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 30(16). <https://doi.org/10.1007/s10989-024-10591-0>
- VelociCalc® Multi-Function Ventilation. (2024). <https://tsi.com/products/ventilation-test-instruments/multi-function-ventilation-meters>

- Vetor, adobe-stock. (2024). Gram-positive and Gram-negative bacteria [© 2024 Adobe].
<https://stock.adobe.com/br/images/gram-positive-and-gram-negative-bacteria/71218948>
- VITEK® 2 Compact. (2022). <https://www.biomerieux.pt/produto/vitekr-2-compact>
- Vornanen-Winqvist, C., Järvi, K., Andersson, M. A., Duchaine, C., Létourneau, V., Kedves, O., Kredics, L., Mikkola, R., Kurnitski, J., & Salonen, H. (2020). Exposure to indoor air contaminants in school buildings with and without reported indoor air quality problems. *Environment International*, 141. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105781>
- Wang, C., Lu, S., & Zhang, Z. (2019). Inactivation of airborne bacteria using different UV sources: Performance modeling, energy utilization, and endotoxin degradation. *Science of The Total Environment*, 655, 787–795. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.266>
- Willey, J. M., Sandman, K. M., & Wood, D. H. (2020). Prescott's Microbiology (11.^a ed.). McGraw-Hill Education.
- World Health Organization (WHO). (2005). Air Quality Guidelines: Global Update 2005 – Particulate Matter, Ozone, Nitrogen Dioxide and Sulfur Dioxide. Copenhagen: World Health Organization Regional Office for Europe.
- World Health Organization (WHO). (2021). WHO global air quality guidelines: Particulate matter (PM_{2.5} and PM₁₀), ozone, nitrogen dioxide, sulfur dioxide and carbon monoxide. WHO GUIDELINES.

8. Anexos

CHECKLIST – QUALIDADE DO AR INTERIOR

A. EDIFÍCIO

A1. NOME/CÓDIGO: _____

B. LOCALIZAÇÃO

B1. MORADA: _____

B2. COORDENADAS GPS: _____

B3. LOCALIZAÇÃO:

Industrial Residencial Centro da Cidade

Comercial Rural

B4. POTENCIAIS FONTES DE CONTAMINAÇÃO DO AR EXTERIOR:

Nenhuma Agricultura Central de Trat. de Lixo

Indústria Autoestrada Aterro

Central Elétrica Bombas de Gasolina Outras: _____

Tráfego ETAR

C. CONSTRUÇÃO DO EDIFÍCIO

C1. ANO DE CONSTRUÇÃO: _____

C2. ÁREA TOTAL: _____

C3. TIPO DE EDIFÍCIO:

Industrial Escolar Hospitalar (hospitais

Habitacional Comércio/Serviços e/ou centros de saúde)

C4. Nº DE ANDARES:

Acima do Solo: _____

Abaixo do Solo: _____

C5. Nº DE DIVISÕES:

Acima do Solo: _____

Abaixo do Solo: _____

Figura 10 – Lista de verificação aplicada em cada ponto de amostragem

D. VENTILAÇÃO E CLIMATIZAÇÃO

D1. VENTILAÇÃO:

Natural N^o Total de Janelas: _____

Mecânica N^o Total de Exaustores: _____

D2. SISTEMA DE CLIMATIZAÇÃO (Aquecimento/Arrefecimento):

Sim

Não

Se sim, qual(ais):

Ventoinha

Recuperador de Calor

Aquecedores

Ar Condicionado

Radiador

Outro: _____

Lareira

Ventiloconvectores

E. CARACTERIZAÇÃO DOS ESPAÇOS

E.1 COM BASE NOS LOCAIS DE MEDIÇÃO (preencha o quadro seguinte):

| Designação do Local | Área | N ^o de Ocupantes | Tempo no local | Outras Observações |
|---------------------|------|-----------------------------|----------------|--------------------|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

E2. ATIVIDADES NO AMBIENTE INTERIOR:

E2.1 QUE ATIVIDADES SE REALIZAM NO AMBIENTE INTERIOR?

| Designação do Local | Atividade |
|---------------------|-----------|
| | |

Figura 11 – Lista de verificação aplicada em cada ponto de amostragem (continuação)

| | |
|--|--|
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |

Exemplos: (a) cozinha e preparo de alimentos; (b) fumar; (c) uso de produtos de limpeza; (d) atividades de arte; (e) uso de lareiras e fogões a lenha; (f) armazenamento de produtos químicos; (g) uso de fotocopiadoras e impressoras; (h) presença de animais de estimação; (i) procedimentos médicos e cirúrgicos; (j) atividades desportivas e físicas; (k) aulas de laboratório; (l) uso de dispositivos eletrônicos (computadores); (m) uso de equipamentos médicos; (n) manuseamento de agentes biológicos; (o) outra atividade (a designar).

F. INFORMAÇÃO COMPLEMENTAR

F1. PROBLEMAS VISÍVEIS

F1.1 EXISTEM SINAIS DE HUMIDADE? Sim Não

Se sim, em que locais? _____

Que sinais de humidade foram detetados?

- Bolors Soalho escurecido
 Cheiro a mofo/humidade Outros: _____
 Manchas visíveis _____

F1.2 HÁ TENDÊNCIA PARA CONDENSAÇÃO NAS JANELAS? Sim Não

F1.3 HÁ TINTA LASCADA? Sim Não

Se sim, em que locais? _____

F1.3 OUTROS PROBLEMAS: _____

F2. LIMPEZA:

Figura 12 – Lista de verificação aplicada em cada ponto de amostragem (continuação)

F2.1 DE QUE FORMA É FEITA A LIMPEZA?

Por meios húmidos

Por meios secos Se sim, Vassoura Aspirador

F2.2 SÃO UTILIZADOS PRODUTOS DESINFETANTES? _____

Se sim, quais: _____

F2.3 QUANTAS VEZES LIMPA O CHÃO POR SEMANA? _____

F2.4 QUANTAS VEZES LIMPA O PÓ POR SEMANA? _____

F2.5 NO MOMENTO DA LIMPEZA AS JANELAS ENCONTRAM-SE ABERTAS?

Sim

Não

F3. AMBIENTE TÉRMICO:

F3.1 TEMPERATURA: _____

F3.2 HUMIDADE: _____

| OBSERVAÇÕES |
|-------------|
| |

Data: ____/____/____

Técnico(a) Responsável: _____

Figura 13 – Lista de verificação aplicada em cada ponto de amostragem (continuação)

ANEXO I

TABELA I

Limiar de proteção e margem de tolerância para os poluentes físico-químicos

| Poluentes | Unidade | Limiar de proteção | Margem de tolerância [%] |
|---|----------------------|--------------------|--------------------------|
| Partículas em suspensão (fração PM ₁₀) | [µg/m ³] | 50 | 100 |
| Partículas em suspensão (fração PM _{2,5}) | [µg/m ³] | 25 | 100 |
| COV | [µg/m ³] | 600 | 100 |
| CO | [mg/m ³] | 10 | - |
| | [ppmv] | 9 | |
| CH ₂ O | [µg/m ³] | 100 | - |
| | [ppmv] | 0,08 | |
| CO ₂ | [mg/m ³] | 2250 | 30 |
| | [ppmv] | 1250 | |
| Radão | [Bq/m ³] | 300 i) | - |

Figura 14 – Tabela Limiares de proteção e margem de tolerância para os poluentes físico-químicos – Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho (Anexo I – Tabela I)

TABELA II

Condições de referência

| Poluentes | Matriz | Unidade | Condições de referência |
|-----------------|--------|-----------------------|---|
| Bactérias | Ar | [UFC/m ³] | Concentração de bactérias totais no interior inferior à concentração no exterior, acrescida de 350 UFC/m ³ . |
| Fungos | Ar | [UFC/m ³] | Concentração de fungos no interior inferior à detetada no exterior. |

Figura 15 – Tabela Condições de referência para os poluentes microbiológicos – Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho (Anexo I – Tabela II)

TABELA III

Condições específicas para a verificação da conformidade do CO nas situações de excedência de curta duração

| Condição | Média temporal |
|---|----------------|
| [CO]Med < 100 [mg/m ³] (90 ppm) | 15 min |
| [CO]Med ≤ 35 [mg/m ³] (30 ppm) | 1 h |
| [CO]Med ≤ 10 [mg/m ³] (9 ppm) | 8 h |
| [CO]Med ≤ 7 [mg/m ³] (6 ppm) | 24 h |

Figura 16 – Tabela Condições específicas para CO, quando há excedência de curta duração – Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho (Anexo I – Tabela III)

TABELA IV

Condições específicas para verificação da conformidade de fungos com base na perigosidade das diferentes espécies

| Espécies | | Condições específicas de conformidade |
|---|---|--|
| Espécies comuns (excluindo as produtoras de toxinas). | <i>Cladosporium spp</i> <i>Penicillium spp</i> <i>Aspergillus spp</i> <i>Alternaria spp</i> <i>Eurotium spp</i> <i>Paecilomyces spp</i> <i>Wallemia spp</i> | Mistura de espécies: concentração inferior ou igual a 500 UFC/m ³ . |
| Espécies pouco comuns. | <i>Acremonium spp</i> | Cada espécie: concentração inferior a 50 UFC/m ³ . |

Figura 17 – Tabela Condições específicas para os poluentes microbiológicos – Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho (Anexo I – Tabela IV)

| Espécies | | Condições específicas de conformidade |
|------------------------------|---|---|
| | <i>Chrysonilia spp</i> <i>Tricothecium spp</i> | Mistura de espécies: concentração inferior ou igual a 150 UFC/m ³ . |
| Espécies patogénicas. | <i>Curvularia spp</i> <i>Nigrospora spp</i> <i>Chytrorhynchus neoformans</i> <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Blastomyces dermatitidis</i> <i>Coccidioides immitis</i> | Ausência de toda e qualquer espécie. |
| Espécies toxinogénicas. | <i>Stachybotrys chartarum</i> <i>Aspergillus versicolor</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Aspergillus terreus</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Fusarium moniliforme</i> <i>Fusarium culmorum</i> <i>Trichoderma viride</i> | Cada espécie: concentração inferior a 12 UFC/m ³ (várias colónias por cada placa). |

Figura 18 – Tabela Condições específicas para os poluentes microbiológicos – Portaria n.º 138-G/2021 de 1 de julho (Anexo I – Tabela IV)

Tabela 13 – Valores recomendados pela norma técnica NP EN 16798-1:2019 para temperatura e % de humidade relativa.

| Parâmetros | Valores recomendados* | |
|------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Temperatura | Inverno: 20°C a 24°C | Limite inferior: 19°C |
| | Verão: 23°C a 27°C | Limite superior: 28°C |
| % de humidade relativa | Ideal: 40% a 60% | Limite inferior: 30% |
| | | Limite superior: 70% |

* Valores recomendados para a categoria II – classificação da norma técnica para as escolas.
Inverno: quando é necessário aplicar o sistema de aquecimento (≈ dezembro a março).
Verão: quando é necessário aplicar o sistema de arrefecimento (≈ junho a setembro).

| r = Number of colony forming units counted on nutrient plate | | | | | | Pr = Probable statistical total | | | | | |
|--|----|-----|-----|-----|-----|---------------------------------|-----|-----|-----|-----|------|
| r | Pr | r | Pr | r | Pr | r | Pr | r | Pr | r | Pr |
| 1 | 1 | 51 | 56 | 101 | 123 | 151 | 209 | 201 | 332 | 251 | 541 |
| 2 | 2 | 52 | 57 | 102 | 124 | 152 | 211 | 202 | 335 | 252 | 547 |
| 3 | 3 | 53 | 58 | 103 | 126 | 153 | 213 | 203 | 338 | 253 | 553 |
| 4 | 4 | 54 | 59 | 104 | 127 | 154 | 216 | 204 | 341 | 254 | 560 |
| 5 | 5 | 55 | 61 | 105 | 129 | 155 | 218 | 205 | 344 | 255 | 566 |
| 6 | 6 | 56 | 62 | 106 | 131 | 156 | 220 | 206 | 347 | 256 | 573 |
| 7 | 7 | 57 | 63 | 107 | 132 | 157 | 222 | 207 | 350 | 257 | 580 |
| 8 | 8 | 58 | 64 | 108 | 134 | 158 | 224 | 208 | 353 | 258 | 587 |
| 9 | 9 | 59 | 66 | 109 | 135 | 159 | 226 | 209 | 357 | 259 | 594 |
| 10 | 10 | 60 | 67 | 110 | 137 | 160 | 228 | 210 | 360 | 260 | 601 |
| 11 | 11 | 61 | 68 | 111 | 138 | 161 | 230 | 211 | 363 | 261 | 609 |
| 12 | 12 | 62 | 69 | 112 | 140 | 162 | 232 | 212 | 367 | 262 | 616 |
| 13 | 13 | 63 | 71 | 113 | 142 | 163 | 235 | 213 | 370 | 263 | 624 |
| 14 | 14 | 64 | 72 | 114 | 143 | 164 | 237 | 214 | 374 | 264 | 632 |
| 15 | 15 | 65 | 73 | 115 | 145 | 165 | 239 | 215 | 377 | 265 | 641 |
| 16 | 16 | 66 | 74 | 116 | 146 | 166 | 241 | 216 | 381 | 266 | 649 |
| 17 | 17 | 67 | 76 | 117 | 148 | 167 | 243 | 217 | 384 | 267 | 658 |
| 18 | 19 | 68 | 77 | 118 | 150 | 168 | 246 | 218 | 388 | 268 | 667 |
| 19 | 20 | 69 | 78 | 119 | 151 | 169 | 248 | 219 | 391 | 269 | 677 |
| 20 | 21 | 70 | 80 | 120 | 153 | 170 | 250 | 220 | 395 | 270 | 686 |
| 21 | 22 | 71 | 81 | 121 | 155 | 171 | 253 | 221 | 399 | 271 | 696 |
| 22 | 23 | 72 | 82 | 122 | 156 | 172 | 255 | 222 | 403 | 272 | 707 |
| 23 | 24 | 73 | 83 | 123 | 158 | 173 | 257 | 223 | 407 | 273 | 717 |
| 24 | 25 | 74 | 85 | 124 | 160 | 174 | 260 | 224 | 410 | 274 | 728 |
| 25 | 26 | 75 | 86 | 125 | 161 | 175 | 262 | 225 | 414 | 275 | 740 |
| 26 | 27 | 76 | 87 | 126 | 163 | 176 | 264 | 226 | 418 | 276 | 752 |
| 27 | 28 | 77 | 89 | 127 | 165 | 177 | 267 | 227 | 422 | 277 | 765 |
| 28 | 29 | 78 | 90 | 128 | 167 | 178 | 269 | 228 | 427 | 278 | 778 |
| 29 | 30 | 79 | 92 | 129 | 168 | 179 | 272 | 229 | 431 | 279 | 791 |
| 30 | 32 | 80 | 93 | 130 | 170 | 180 | 274 | 230 | 435 | 280 | 805 |
| 31 | 33 | 81 | 94 | 131 | 172 | 181 | 277 | 231 | 439 | 281 | 820 |
| 32 | 34 | 82 | 96 | 132 | 174 | 182 | 279 | 232 | 444 | 282 | 836 |
| 33 | 35 | 83 | 97 | 133 | 175 | 183 | 282 | 233 | 448 | 283 | 853 |
| 34 | 36 | 84 | 98 | 134 | 177 | 184 | 284 | 234 | 452 | 284 | 871 |
| 35 | 37 | 85 | 100 | 135 | 179 | 185 | 287 | 235 | 457 | 285 | 889 |
| 36 | 38 | 86 | 101 | 136 | 181 | 186 | 289 | 236 | 462 | 286 | 909 |
| 37 | 39 | 87 | 103 | 137 | 183 | 187 | 292 | 237 | 466 | 287 | 931 |
| 38 | 41 | 88 | 104 | 138 | 184 | 188 | 295 | 238 | 471 | 288 | 954 |
| 39 | 42 | 89 | 105 | 139 | 186 | 189 | 297 | 239 | 476 | 289 | 979 |
| 40 | 43 | 90 | 107 | 140 | 188 | 190 | 300 | 240 | 481 | 290 | 1006 |
| 41 | 44 | 91 | 108 | 141 | 190 | 191 | 303 | 241 | 486 | 291 | 1036 |
| 42 | 45 | 92 | 110 | 142 | 192 | 192 | 306 | 242 | 491 | 292 | 1069 |
| 43 | 46 | 93 | 111 | 143 | 194 | 193 | 308 | 243 | 496 | 293 | 1107 |
| 44 | 47 | 94 | 113 | 144 | 196 | 194 | 311 | 244 | 501 | 294 | 1150 |
| 45 | 49 | 95 | 114 | 145 | 198 | 195 | 314 | 245 | 507 | 295 | 1200 |
| 46 | 50 | 96 | 115 | 146 | 200 | 196 | 317 | 246 | 512 | 296 | 1260 |
| 47 | 51 | 97 | 117 | 147 | 202 | 197 | 320 | 247 | 518 | 297 | 1335 |
| 48 | 52 | 98 | 118 | 148 | 203 | 198 | 323 | 248 | 523 | 298 | 1435 |
| 49 | 53 | 99 | 120 | 149 | 205 | 199 | 326 | 249 | 529 | 299 | 1585 |
| 50 | 55 | 100 | 121 | 150 | 207 | 200 | 329 | 250 | 535 | 300 | 1885 |

Figura 19 – Tabela de Feller (Manual do equipamento MAS-100@, 2022)

Tabela 14 – Perfil de bioquímico da análise do VITEK® 2 Compact para identificação das colônias bacterianas.

| Perfil GP | Pequena amarela | Amarela | Branca | Pequenas Brancas | Beges | Laranjas | Perfil GN | Expansivas | Expansivas |
|--|------------------------|--------------------|-----------------------|------------------------|----------------------------|-------------------|-----------|---------------------------|-------------------------|
| AMY | + | + | - | - | - | - | APPA | - | - |
| APPA | - | - | - | - | - | + | H2S | + | - |
| LeuA | + | + | - | - | + | + | BGLU | + | - |
| AlaA | + | + | - | - | + | + | ProA | - | - |
| dRIB | - | - | + | - | - | - | SAC | - | - |
| NOVO | - | - | + | + | - | - | ILATk | + | + |
| dRAF | + | - | - | - | - | - | GlyA | - | - |
| OPTO | - | - | + | + | - | - | O129R | + | + |
| PIPLC | - | - | - | - | - | - | ADO | - | - |
| CDEX | + | - | - | - | - | - | BNAG | + | - |
| ProA | + | + | - | - | + | + | dMAL | + | - |
| TyrA | + | - | - | - | - | + | LIP | - | + |
| ILATk | - | + | + | + | + | - | dTAG | - | - |
| NC6,5 | - | - | + | + | - | - | AGLU | + | - |
| O129R | - | - | + | + | - | - | ODC | - | - |
| dXYL | + | - | + | - | + | - | GGAA | - | - |
| AspA | - | - | - | - | - | - | PyrA | + | - |
| BGURr | - | - | + | - | - | - | AGLTp | - | + |
| dSOR | - | - | + | - | - | - | dMAN | - | - |
| LAC | - | - | + | + | - | - | PLE | - | - |
| dMAN | + | - | + | - | - | - | dTRE | + | - |
| SAL | + | - | + | - | - | - | SUCT | - | + |
| ADH1 | - | - | + | - | - | - | LDC | - | - |
| BGAR | - | - | - | - | - | - | IMLTa | - | - |
| AGAL | - | - | - | - | - | - | IARL | - | - |
| URE | - | - | - | + | - | - | dGLU | + | - |
| NAG | - | - | + | - | - | - | dMNE | - | - |
| dMNE | - | - | - | - | - | - | TryA | - | - |
| SAC | - | - | + | + | - | - | CIT | - | + |
| BGAL | - | - | + | - | - | - | NAGA | - | - |
| AMAN | - | - | - | - | - | - | IHISa | - | - |
| PyrA | + | + | - | - | + | + | ELLM | - | - |
| POLYB | - | - | - | - | - | - | dCEL | - | - |
| dMAL | - | - | - | + | - | - | GGT | - | - |
| MBdG | + | - | + | - | - | - | BXYL | - | - |
| dTRE | - | - | + | + | - | - | URE | - | - |
| AGLU | + | + | - | - | - | - | MNT | - | - |
| PHOS | - | - | - | - | - | - | AGAL | - | - |
| BGUR | - | - | + | - | - | - | CMT | + | + |
| dGAL | - | - | - | + | - | - | ILATa | - | - |
| BACI | - | - | + | - | - | - | BGAL | - | - |
| PUL | - | - | - | - | - | - | OFF | - | + |
| ADH2s | - | - | - | - | - | - | BAlap | - | - |
| | | | | | | | dSOR | - | - |
| | | | | | | | 5KG | - | - |
| | | | | | | | PHOS | - | + |
| | | | | | | | BGUR | - | - |
| | Enterococcus faecalis. | Micrococcus Luteus | Enterococcus faecalis | Staphylococcus hominis | Staphylococcus epidermidis | Micrococcus lylae | - | Sphingomonas paucimobilis | Pseudomonas aeruginosas |
| Nível de confiança da identificação (VITEK® 2 Compact, 2022) | 75% - 85% | 75% - 85% | 75% - 85% | 75% - 85% | 90% - 95% | 85% - 90% | - | 90% - 95% | 85% - 90% |