

**UFSCar - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CCET - CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DQ - DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

Gustavo Bitencort dos Santos

Amostragem e análise de bioaerossóis: revisão histórica

São Carlos
Novembro – 2025

**UFSCar - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CCET - CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DQ - DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

Gustavo Bitencort dos Santos

Amostragem e análise de bioaerossóis: revisão histórica

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos para obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Roberta Cerasi Urban

São Carlos
Novembro - 2025

**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS****DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - DQ/CCET/R**

Rod. Washington Luís km 235 - SP-310, s/n - Bairro Monjolinho, São Carlos/SP, CEP 13565-905

Telefone: (16) 33518206 - <http://www.ufscar.br>

DP-TCC-FA nº 32/2025/DQ/CCET/R

Graduação: Defesa Pública de Trabalho de Conclusão de Curso**Folha Aprovação (GDP-TCC-FA)****FOLHA DE APROVAÇÃO****GUSTAVO BITENCORT DOS SANTOS****AMOSTRAGEM E ANÁLISE DE BIOAEROSSÓIS: REVISÃO HISTÓRICA****Trabalho de Conclusão de Curso****Universidade Federal de São Carlos – Campus São Carlos**

São Carlos, 26 de novembro de 2025

ASSINATURAS E CIÊNCIAS

Cargo/Função	Nome Completo
Orientador	Profa Dra. Roberta Cerasi Urban
Membro da Banca 1	Dr. Jonatas Schadeck Carvalho
Membro da Banca 2	Dr. Guilherme Martins Grosseli



Documento assinado eletronicamente por **Ricardo Samuel Schwab, Professor(a)**, em 27/11/2025, às 11:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufscar.br/autenticacao>, informando o código verificador **2085279** e o código CRC **031DC21C**.

Referência: Caso responda a este documento, indicar expressamente o Processo nº 23112.001933/2024-38

SEI nº 2085279

Modelo de Documento: Grad: Defesa TCC: Folha Aprovação, versão de 02/Agosto/2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço, antes de tudo, à minha família. Em especial à Marciane, ao Sivalte, à Kamilli e ao Caio, por todo o apoio, incentivo e compreensão ao longo dos anos. Sou profundamente grato pelo cuidado e pelo suporte incondicional que sempre me ofereceram.

Aos meus amigos — Axé, Fernanda, Henrique, Jesse, Pietra e Rafael — deixo meu sincero obrigado. Agradeço pelas conversas, pela companhia e pelos tantos momentos que compartilhamos. A amizade de vocês foi essencial para minha trajetória.

Ao Vinicius, deixo um agradecimento especial, carregado de admiração e afeto. Obrigado por ser minha presença constante e por me acompanhar tanto nas alegrias quanto nas reclamações. Sou profundamente grato por dividir esta parte da vida com você.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Roberta Cerasi Urban, registro um agradecimento que vai além do aspecto acadêmico. Obrigado por me acolher no grupo e me orientar com uma combinação rara de rigor científico, paciência e humanidade. Levo comigo não apenas o conhecimento construído ao longo desta pesquisa, mas também a inspiração de acompanhar de perto alguém que ensina com generosidade e orienta com compromisso genuíno. Sou profundamente grato pela confiança, pelo incentivo e por tudo que aprendi sob sua orientação.

Agradeço também aos membros da banca pela gentileza em aceitar o convite e dedicar tempo à leitura e avaliação deste trabalho.

Por fim, agradeço a todos aqueles que, direta ou indiretamente, fizeram parte deste percurso. Cada gesto de apoio, cada palavra de incentivo e cada momento compartilhado contribuíram para tornar possível esta conquista.

RESUMO

A fração biológica do material particulado atmosférico, constituída por fungos, bactérias, vírus, pólen e fragmentos celulares, tem papel relevante na qualidade do ar, no clima e na saúde humana, especialmente no contexto de inflamações respiratórias, alergias e transporte de patógenos. Em conjunto com a poluição química, esses bioaerossóis podem agravar doenças preexistentes e atuar como veículos para microrganismos viáveis em ambientes internos e externos. Diante desse cenário, este trabalho tem por objetivo revisar, em perspectiva histórica e comparativa, as estratégias de amostragem e as técnicas de análise aplicadas a bioaerossóis em ar ambiente, com ênfase no desempenho, nas limitações e nas aplicações relatadas na literatura. São discutidos amostradores passivos e ativos, incluindo coletores gravitacionais, amostradores volumétricos de fenda, impactadores em placas de cultivo, dispositivos em fase líquida, ciclones de alto fluxo, filtros, impactadores em cascata e amostradores pessoais, ressaltando-se aspectos como preservação de viabilidade, faixa de tamanho amostrada e resolução temporal. No campo analítico, a revisão abrange desde a microscopia e a cultura tradicional até ensaios imunológicos, o uso de biomarcadores químicos e técnicas moleculares e espectrométricas capazes de fornecer maior especificidade taxonômica e sensibilidade. Os estudos analisados mostram que não existe método universal e que cada combinação entre coleta e análise implica compromissos entre resolução temporal, viabilidade microbiana, detalhe taxonômico, limite de detecção, custo e operacionalidade. Além disso, a interpretação dos resultados deve considerar o objetivo do estudo, a matriz amostral e os vieses associados a cada abordagem, de modo a favorecer a comparabilidade e uma análise crítica dos dados.

Palavras-chave: bioaerossóis; viabilidade fúngica; poluição atmosférica.

ABSTRACT

The biological fraction of atmospheric particulate matter, composed of fungi, bacteria, viruses, pollen and cell fragments, plays a relevant role in air quality, climate and human health, especially in the context of respiratory inflammation, allergies and pathogen transport. Together with chemical pollution, these bioaerosols can aggravate pre-existing diseases and act as vehicles for viable microorganisms in indoor and outdoor environments. In this context, the present work aims to review, from a historical and comparative perspective, the sampling strategies and analytical techniques applied to bioaerosols in ambient air, with emphasis on performance, limitations and reported applications. The discussion covers both passive and active samplers, including gravitational collectors, volumetric slit samplers, impactors onto culture plates, liquid-phase devices, high-flow cyclones, filters, cascade impactors and personal samplers, highlighting aspects such as preservation of viability, sampled size range and temporal resolution. On the analytical side, the review encompasses methods ranging from microscopy and conventional culture to immunological assays, the use of chemical biomarkers and modern molecular and spectrometric techniques capable of providing greater taxonomic specificity and sensitivity. The studies examined show that there is no universal method and that each combination of collection and analysis involves trade-offs between temporal resolution, microbial viability, taxonomic detail, detection limit, cost and operational practicality. Therefore, the interpretation of results must consider the study objective, the sampled matrix and the biases associated with each approach, in order to promote data comparability and a critical reading of the findings.

Keywords: bioaerosols; fungi viability; air pollution.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Amostrador do tipo Durham utilizado para amostragem passiva de bioaerossóis.	5
Figura 2: Amostrador volumétrico do tipo Hirst para coleta de bioaerossóis.....	7
Figura 3: Amostrador do tipo Rotorod utilizado para a coleta volumétrica de bioaerossóis.	8
Figura 4: Amostrador Andersen de estágio único.	9
Figura 5: Amostrador Andersen de seis estágios: (A) fotografia do equipamento; (B) diagrama esquemático do fluxo de ar e deposição de partículas nos diferentes estágios.	11
Figura 6: Esquema de impingers líquidos utilizados para coleta de bioaerossóis: (A) AGI-30; (B) BioSampler.....	13
Figura 7: Amostrador de bioaerossóis Coriolis μ	14
Figura 8: Amostrador de impacto em cascata (PCIS): (A) vista esquemática; (B) equipamento pronto.	17
Figura 9: Amostrador NIOSH de dois estágios: (A) diagrama esquemático; (B) equipamento..	18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Amostradores e características principais.	21
Tabela 2: Métodos de análises e principais características	29
Tabela 3: Correlação entre métodos de amostragem de bioaerossóis e análises predominantes .	31

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

AGI-30	<i>All-Glass Impinger</i> modelo 30
BC-251	<i>Bioaerosol Collector</i> modelo 251 NIOSH
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i> (Centros de Controle e Prevenção de Doenças)
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> (Ensaio Imunoenzimático)
FA-1	<i>Fractionating Impactor</i> (Impactador Fracionador)
HPAs	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
ITS	<i>Internal Transcribed Spacer</i> (Espaçador Interno Transcrito)
MALDI-TOF MS	<i>Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization – Time of Flight Mass Spectrometry</i> (Espectrometria de Massas por Dessorção/Ionização a Laser Assistida por Matriz – Tempo de Voo)
NIOSH	<i>National Institute for Occupational Safety and Health</i> (Instituto Nacional para Segurança e Saúde Ocupacional)
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBAP	<i>Primary Biological Aerosol Particles</i> (Partículas Primárias de Aerossóis Biológicos)
PCIS	<i>Personal Cascade Impactor Sampler</i> (Amostrador Pessoal de Impacto em Cascata)
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (Reação em Cadeia da Polimerase)

PI	Iodeto de propídio
PM	Material Particulado
PM ₁₀	Material particulado com diâmetro $\leq 10 \mu\text{m}$
PM _{2.5}	Material particulado com diâmetro $\leq 2,5 \mu\text{m}$
PMF	<i>Positive Matrix Factorization</i> (Fatoração de Matriz Positiva)
PTFE	Politetrafluoretileno
PVDF	Polifluoreto de vinilideno
qPCR	<i>Quantitative Polymerase Chain Reaction</i> (Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa)
RNA	Ácido ribonucleico
RT-qPCR	<i>Reverse Transcription Quantitative Polymerase Chain Reaction</i> (Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa com Transcrição Reversa)
SARS-CoV-2	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2</i>
SKC	<i>Scientific Kit Corporation</i>
SYTO9	<i>SYTO™ Green Fluorescent Nucleic Acid Stains</i>
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UV-LIF	<i>Ultraviolet Light-Induced Fluorescence</i> (Fluorescência Induzida por Luz Ultravioleta)
VOC	<i>Volatile Organic Compounds</i> (Compostos Orgânicos Voláteis)
WIBS	<i>Wideband Integrated Bioaerosol Sensor</i> (Sensor Integrado de Bioaerossóis de Banda Larga)

SUMÁRIO

1. BIOAEROSSÓIS	1
2. MÉTODOS DE AMOSTRAGEM PARA BIOAEROSSÓIS	4
3. MÉTODOS DE ANÁLISES	21
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
5. REFERÊNCIAS	31

1. BIOAEROSSÓIS

A poluição atmosférica é um dos principais riscos ambientais à saúde humana e, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) acarretou 7 milhões de mortes prematuras em 2016 (WHO, 2022). Entre os poluentes mais preocupantes está o material particulado (PM, sigla em inglês para particulate matter), cuja composição e tamanho variam de acordo com a fonte de emissão. Esse material é composto por uma ampla gama de compostos, incluindo hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, íons e açúcares, além de material biológico, provenientes tanto de processos naturais quanto de atividades antrópicas (Can-Güven, 2022; Carvalho et al., 2023; WHO, 2022).

A fração biológica do material particulado, os bioaerossóis, inclui fungos, bactérias, vírus, pólen e fragmentos de metabólitos. Suas principais fontes antrópicas incluem atividades agrícolas, compostagem, reciclagem de resíduos e ações humanas como espirros e tosses (Can-Güven, 2022). Entre as fontes naturais podem ser citados o solo, as superfícies de água, a vegetação e as emissões animais (Xu et al., 2019). A liberação dos bioaerossóis no ar ocorre por mecanismos físicos, como a ressuspensão de poeira e detritos vegetais pelo vento, tráfego ou outra ação humana, e também por mecanismos biológicos, como descarga por secagem ou impacto, higroscopia e desagregação de hifas (Can-Güven, 2022). Em ambientes internos, há presença de poeira e materiais úmidos, além da entrada de bioaerossóis transportados pelo ar externo (Can-Güven, 2022; Chao et al., 2002; Fang et al., 2005; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016).

Do ponto de vista ambiental, os bioaerossóis afetam tanto o clima quanto a qualidade do ar. Estes podem atuar como núcleos de condensação de nuvens, influenciando processos

meteorológicos (Amato et al., 2007; Kanji et al., 2017; Passananti et al., 2016; Šantl-Temkiv et al., 2013).

Em relação à qualidade do ar e à saúde, essas partículas acarretam preocupação devido ao potencial de facilitar o transporte de patógenos e compostos biologicamente ativos, como micotoxinas e endotoxinas, a curtas e longas distâncias (Douwes et al., 2003; Nie et al., 2024). Isto pode promover invasões biológicas e a disseminação de doenças, como infecções e reações alérgicas (Amato et al., 2007; Kanji et al., 2017; Passananti et al., 2016; Šantl-Temkiv et al., 2013). Além de atuarem como vetores de infecções e alergias, os bioaerossóis também possuem capacidade de agravar condições respiratórias preexistentes, de induzir estresse oxidativo e desencadear respostas inflamatórias intensas e crônicas (Douwes et al., 2003; Nie et al., 2024). Essa dupla atividade amplifica os riscos à saúde, especialmente em áreas urbanas densamente povoadas ou em ambientes ocupacionais onde as concentrações de bioaerossóis são notavelmente elevadas (Nie et al., 2024). Por exemplo, estudos sugerem que o SARS-CoV-2, agente etiológico da COVID-19, pode permanecer viável em bioaerossóis fúngicos por períodos prolongados, aumentando o potencial de transmissão aérea. Isso é particularmente preocupante em ambientes hospitalares, onde procedimentos como intubação geram aerossóis, elevando as cargas fúngicas e virais no ar (Borges et al., 2021; Chia et al., 2020). Fora do ambiente hospitalar, os bioaerossóis fúngicos podem contribuir de forma semelhante para a disseminação de patógenos, sobretudo em áreas urbanas ou contextos industriais em que a poluição atmosférica interage com partículas biológicas (Can-Güven, 2022; Jia; Batterman; Godwin, 2008).

A capacidade desses aerossóis de atuarem como veículos de dispersão de patógenos ressalta a importância de monitorar a qualidade do ar em ambientes internos e externos para mitigar riscos à saúde pública, evidenciando seu impacto para além dos cenários de saúde.

A composição e a abundância dessas partículas variam de acordo com fatores ambientais, como temperatura, umidade relativa e vento, além das características das fontes emissoras, sejam elas naturais ou antrópicas (Can-Güven, 2022). Em climas temperados, as estações chuvosas ou úmidas apresentam maiores abundâncias médias de fungos aerotransportados, refletindo a maior disponibilidade de fontes e condições favoráveis à liberação e à sobrevivência dos propágulos (Fang et al., 2005). O aumento da intensidade do vento favorece a ressuspensão e o transporte regional, elevando a carga atmosférica. Além disso, ao longo do dia, observam-se picos no fim da tarde e início da noite, quando a mistura na camada limite e a liberação mecânica de esporos tornam-se mais pronunciadas (Fang et al., 2005; Griffin, 2007).

Séries sazonais e diurnas de esporos fúngicos ao ar livre mostram picos em estações quentes e úmidas e maior abundância próxima a vegetação e solos expostos (Anees-Hill et al., 2022; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016). Em estudo realizado em edifícios de escritórios, a umidade relativa se correlacionou positivamente com as concentrações, enquanto o CO₂ apresentou correlação negativa, reforçando a forte modulação climática e das fontes sobre emissões e ressuspensão (Burge et al., 2000; Chao et al., 2002).

A determinação de bioaerossóis está sujeita a vieses decorrentes da heterogeneidade espacial, de condições microclimáticas e de características instrumentais. Por isso, ao planejar um estudo, é essencial conhecer os métodos de amostragem e as estratégias de análise, bem como compreender as quais informações desejadas e como estas se tornam acessíveis quando método de amostragem e análise são combinados de forma adequada.

2. MÉTODOS DE AMOSTRAGEM PARA BIOAEROSSÓIS

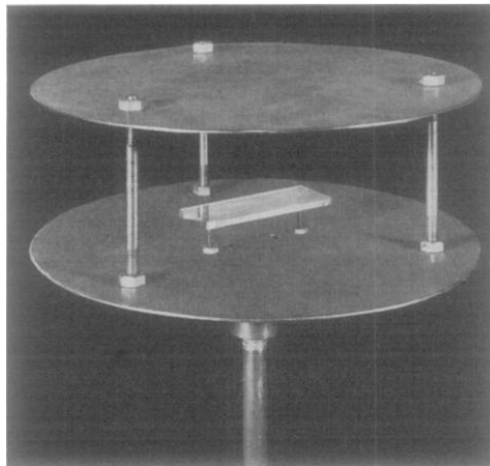
Para caracterizar bioaerossóis fúngicos, o desenho amostral precisa considerar as fontes dispersas e sazonais, solos e poeira ressuspensa, vegetação e matéria orgânica em decomposição, além de atividades antrópicas. As dinâmicas dessas fontes variam com a temperatura, umidade e vento, que controlam a liberação, a ressuspensão e o transporte de partículas biológicas, inclusive esporos e fragmentos fúngicos (Can-Güven, 2022). Além disso, deve-se avaliar se os objetivos da campanha amostral são determinar as tendências temporais (sazonalidade), a viabilidade e cultura (UFC, quantidade de microrganismos viáveis, que conseguem se multiplicar, presentes na amostra), o tamanho aerodinâmico, traçadores químicos ou ainda DNA (Do inglês deoxyribonucleic acid) (West; Kimber, 2015).

Considerando os objetivos do estudo, a trajetória da amostragem evoluiu de soluções simples e baratas para dispositivos volumétricos e fracionadores capazes de responder a perguntas mais específicas.

O método de Durham constituiu o marco inicial na padronização do monitoramento de bioaerossóis e estabeleceu a base comparativa sobre a qual os métodos posteriores foram desenvolvidos (Manibusan; Mainelis, 2022). Publicado por O. C. Durham em 1946 no *Journal of Allergy*, foi proposto como um método de amostragem gravimétrica, com contagem microscópica e interpolação volumétrica (Durham, 1946). Este integrava as iniciativas do *National Pollen Survey Committee da American Academy of Allergy*, organização médica fundada em 1944, que buscava uniformizar registros e permitir a comparabilidade de séries temporais de aeroalérgenos em diferentes localidades (Durham, 1946). Este utilizava amostragem passiva, e era constituído por uma lâmina adesivada e simples, exposta horizontalmente sob um abrigo, a qual retinha

esporos e grãos de pólen por deposição gravitacional (Durham, 1946, 1950; Manibusan; Mainelis, 2022). Posteriormente, os materiais eram quantificados microscopicamente por área e convertidos em estimativas volumétricas (Figura 1) (Durham, 1946, 1950; Manibusan; Mainelis, 2022).

Figura 1: Amostrador do tipo Durham utilizado para amostragem passiva de bioaerossóis.



Fonte: Durham (1946).

Essa estratégia permitiu a construção de séries históricas, a identificação da sazonalidade e a diferenciação regional dos aeroalérgenos, sendo fundamental para o mapeamento clínico e ambiental. Contudo, suas limitações tornaram-se evidentes, dado que por não ser volumétrico, mostrou-se altamente sensível ao vento e à precipitação, não fornecendo diretamente concentrações em esporos.m⁻³ (Durham, 1946, 1950; Manibusan; Mainelis, 2022). Por esse motivo, a partir da década de 1950, os métodos volumétricos de fenda, como os coletores de Hirst e Burkard, capazes de registrar continuamente o fluxo de ar, começaram a ser desenvolvidos e utilizados. Assim, o método de Durham permaneceu como uma referência histórica, de baixo custo e utilidade para indicar tendências fenológicas e presença ou ausência de propágulos, embora

restrito para comparações quantitativas mais exatas e precisas e para avaliações de risco (HIRST, 1952).

A transição dos coletores gravimétricos para os volumétricos de fenda representou um avanço significativo no monitoramento de bioaerossóis, pois solucionou as limitações de fluxo de ar e de resolução temporal dos métodos anteriores. No arranjo *Hirst-type*, descrito originalmente por J. M. Hirst (1952), o ar é aspirado por uma fenda orientada ao vento a aproximadamente 10 L.min⁻¹, sendo as partículas impactadas em uma fita ou lamínula adesiva que se desloca em velocidade constante (Figura 2) (HIRST, 1952). Esse mecanismo gera um registro contínuo, permitindo correlacionar a carga de esporos com variáveis meteorológicas e alterações de uso do solo. A empresa Burkard foi a responsável pela disseminação operacional deste princípio, por meio da armadilha de gravação de sete dias, que se consolidou como o padrão em redes aerobiológicas internacionais (Beggs PJ et al., 2018; Maya-Manzano et al., 2023; Núñez et al., 2017). Portanto, o termo “Hirst/Burkard” designa o princípio do coletor de fenda volumétrica difundido comercialmente, que hoje é sinônimo de séries temporais robustas para esporos fúngicos.

Figura 2: Amostrador volumétrico do tipo Hirst para coleta de bioaerossóis.



Fonte: HIRST (1952).

Em paralelo, o Rotorod surgiu como alternativa de menor custo e maior portabilidade. Trata-se de um impactador rotativo, no qual duas hastes recobertas de adesivo giram em alta velocidade, interceptando partículas por impacto inercial (Figura 3) (Levetin, 2004; Ogden; Raynor, 1967).

Figura 3: Amostrador do tipo Rotorod utilizado para a coleta volumétrica de bioaerossóis.



Fonte: Agri Samplers.

Embora útil em campanhas de curta duração e em situações que demandam mobilidade, esse sistema tende a subestimar partículas pequenas, em especial com diâmetro menor que 10 μm . Comparações diretas demonstraram que o Hirst/Burkard coleta significativamente mais esporos de fungos, abrangendo uma maior variedade de espécies, enquanto o Rotorod é mais adequado para identificar tendências relativas em grupos abundantes, em cenários nos quais a portabilidade e o baixo custo justificam a perda de exatidão quantitativa (Crisp et al., 2013; Frenz, 1999; HIRST, 1952).

Enquanto métodos como o Hirst/Burkard e o Rotorod consolidaram a vigilância aerobiológica em termos de contagem e séries temporais de esporos, eles não fornecem informações sobre a viabilidade dos microrganismos, já que o material impactado é apenas

quantificado microscopicamente (Crisp et al., 2013). Para suprir essa lacuna surgiram os impactadores viáveis, que permitem relacionar a concentração de partículas biológicas não apenas à sua presença no ar, mas também ao seu potencial de crescimento e risco infeccioso. Nessa categoria destacam-se os modelos de Andersen, nos quais as partículas colidem com placas de ágar, possibilitando a incubação e a quantificação em UFC.m⁻³ (Abdel Hameed et al., 2012; Chao et al., 2002).

No modelo Andersen N6, que corresponde à versão de estágio único, o ar impacta diretamente em uma placa de ágar e a carga viável total é determinada (Figura 4). Este, foi amplamente adotado em levantamentos de grande escala pela simplicidade, robustez e padronização (ANDERSEN, 1958; MACHER, 1989; Thermo Fisher Scientific, 2010).

Figura 4: Amostrador Andersen de estágio único.



Fonte: Flow (2012).

O exemplo mais notável é o banco de dados norte-americano com 12.026 amostras obtidas em 1.717 edifícios (Shelton et al., 2002). Esse levantamento demonstrou concentrações maiores

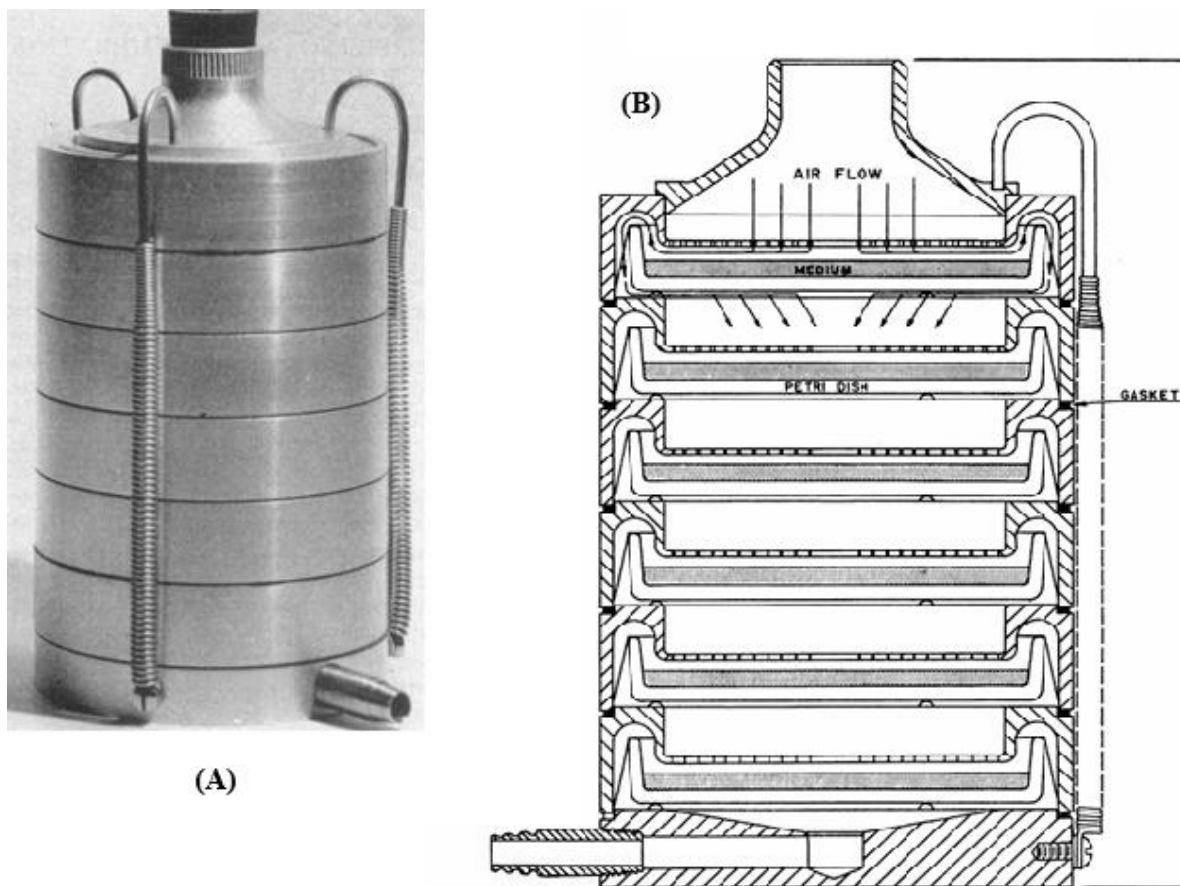
no ambiente externo em relação ao interno, picos sazonais no verão e outono, e uma composição muito estável dominada por *Cladosporium*, *Penicillium* e *Aspergillus* (Shelton et al., 2002). Estas dominâncias das concentrações e dos gêneros de fungos detectados são consistentes com o observado ecologicamente. Ambientes internos saudáveis e bem ventilados tendem a refletir o determinado em ambientes externos, enquanto desvios desse padrão indicam reservatórios fúngicos internos. O *Cladosporium* é onipresente em superfícies vegetais, folheto e matéria orgânica em decomposição, além de emitido em grandes quantidades por conídios (esporos assexuados) para a atmosfera, e portanto, dominando as concentrações externas (Marie-Alix d'Halewyn; Pierre Chevalier). Já o *Penicillium*, associado ao solo, à poeira doméstica, e, sobretudo, à materiais de construção úmidos, é determinado com frequência em ambientes internos com umidade elevada, e também, em regiões próximas à resíduos e vegetação em decomposição (Marie-Alix d'Halewyn; Pierre Chevalier). *Aspergillus*, embora comum em solo no qual foi realizada compostagem e com matéria vegetal, também inclui espécies adaptadas a colonizar poeira e substratos de construção, conseqüentemente presente em ambientes externos e internos dependendo do microclima (CDC, 2024).

Esse estudo se consolidou como referência ambiental e epidemiológica, e tem sido utilizado para interpretação de campanhas de amostragem (ANDERSEN, 1958; Shelton et al., 2002).

Já os impactadores viáveis multiestágio constituem uma categoria de amostradores que coletam partículas por impactação inercial, nos quais o ar é acelerado através de orifícios ou fendas, e, por inércia, as partículas colidem com um alvo. No arranjo em cascata de seis estágios, o ar permeia placas sucessivas com diâmetros de cortes aerodinâmicos decrescentes, permitindo quantificar a UFC.m⁻³ por faixa de tamanho (Figura 5). Essa arquitetura fornece não apenas a

concentração viável, mas também a distribuição aerodinâmica, relacionando o tamanho dos esporos e fragmentos fúngicos ao provável local de deposição no trato respiratório (ANDERSEN, 1958; MACHER, 1989; Thermo Fisher Scientific, 2010).

Figura 5: Amostrador Andersen de seis estágios: (A) fotografia do equipamento; (B) diagrama esquemático do fluxo de ar e deposição de partículas nos diferentes estágios.



Fonte: ANDERSEN, 1958.

Em Pequim, análises de viabilidade fúngica por tamanho de partícula foram realizadas durante um ano (junho de 2003 - maio de 2004) em três locais com distintas coberturas vegetais:

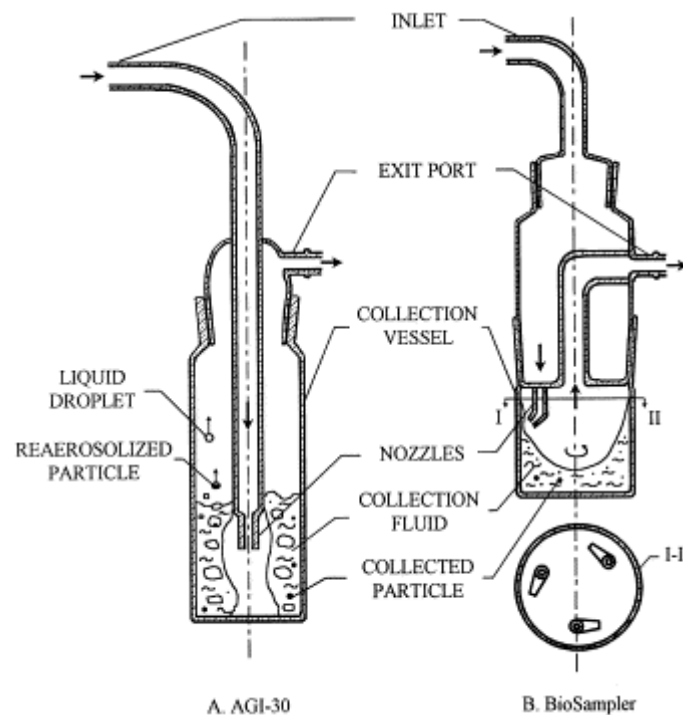
cerca de 5%, 50% e maior que 95%. Em cada mês, foram realizadas três coletas de 3 min por dia ao longo de três dias. Este estudo foi realizado utilizando um impactador em cascata FA-1 operando a 28,3 L.min⁻¹ e 1,5 m do solo, e fracionando o aerossol em seis estágios de diâmetro aerodinâmico. As concentrações variaram de 24 a 13.960 UFC.m⁻³ (média 1.165 UFC.m⁻³ e mediana 710 UFC.m⁻³), com os valores significativamente mais altos próximos às regiões com maior vegetação que o entroncamento de tráfego ($\approx 5\%$, $p < 0,001$), além de picos no verão-outono. A distribuição dos tamanhos dos fungos cultiváveis apresentou distribuição *log-normal* em todos os sítios, sendo os máximos, cerca de 28 - 36% do total, determinados no estágio 4 (2,0 - 3,5 μm), e mínimo na fração $< 1,0 \mu\text{m}$, de 4,5 a 5,6% (Abdel Hameed et al., 2012).

Da necessidade de preservação da integridade biológica em fase líquida e visando a facilitação da cultura e do armazenamento, sugeriram os primeiros modelos de *impinger*. Os *impingers* constituem uma família de amostradores que transferem o aerossol para um meio líquido por meio de jatos de ar dirigidos, e a amostra líquida resultante é imediatamente processável por cultura e/ou qPCR, sem etapas de dessorção a partir de filtros (Springorum; Clauß; Hartung, 2011). Historicamente, o AGI-30 (*all-glass impinger*) foi o padrão de referência, ao passo que a geração seguinte introduziu geometrias que mitigam perdas por re-aerossolização e cisalhamento (Ding; Wang, 2001; Fang et al., 2005; Lin et al., 1999; Springorum; Clauß; Hartung, 2011). Nesse grupo, destaca-se o SKC BioSampler com três bicos que induzem escoamento em redemoinho, varrendo suavemente as partículas para o líquido coletor e reduzindo impactos diretos e, por consequência, a re-aerossolização (Han; Mainelis, 2012; Li et al., 2018; SKC Inc.; Willeke; Lin; Grinshpun, 1998).

O projeto do SKC BioSampler foi proposto e caracterizado em bancada por Willeke, Lin e Grinshpun e, desde então, passou a ser amplamente empregado em amostragens ambientais

(Figura 6) (Han; Mainelis, 2012; Li et al., 2018; SKC Inc.; Willeke; Lin; Grinshpun, 1998). Ao analisar a eficiência em função do diâmetro Li et al (2018) reportou uma curva em U, observou-se mínimo na faixa de 30-50 nm e máximos em 10 nm e ≥ 300 nm, sendo 1-10 μm intervalo ideal para bioaerrossóis. (Li et al., 2018).

Figura 6: Esquema de *impingers* líquidos utilizados para coleta de bioaerrossóis: (A) AGI-30; (B) BioSampler.



Fonte: Lin et al. (1999).

Uma importante evolução incorporada posteriormente nos amostradores de fase líquida foi o aumento da taxa de fluxo de ar, possibilitando maximizar a coleta de bioaerrossóis em janelas curtas de amostragem. Nesse contexto, destacam-se os ciclones de parede umedecida, como os modelos SpinCon e Coriolis μ . Estes operam em altos fluxos ($\geq 100 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$) e concentram o

aerossol diretamente em um meio líquido, resultando em extratos imediatamente disponíveis para cultura microbiológica ou para análises moleculares (Figura 7) (Bertin Technologies, 2015; Hubbard et al., 2011).

Figura 7: Amostrador de bioaerossóis Coriolis μ .



Fonte: O autor.

Em Atlanta, esse tipo de coletor foi integrado em um arranjo em três etapas: (i) coleta de alto rendimento no ciclone, concentrando o aerossol em fase líquida; (ii) citometria de fluxo, que separa as partículas biológicas coradas em subpopulações celulares, incluindo grupos com alto conteúdo de ácidos nucleicos, indicativos de maior viabilidade; e (iii) o sensor óptico WIBS, *Wideband Integrated Bioaerosol Sensor*, equipamento que mede em tempo real a fluorescência de bioaerossóis primários (Negron et al., 2020). Nesse esquema, o WIBS fornece uma série temporal

contínua, enquanto o ciclone com citometria revela a composição celular integrada, permitindo validar as classificações ópticas.

Comparações de eficiência física e estabilidade de ácidos nucleicos indicaram bom desempenho do BioSampler entre 0,8 a 3 μm , já o Coriolis apresentou excelente eficiência em 3 μm , e menores entre 0,8 a 1 μm . Estes resultados devem ser ponderados ao visar a determinação de esporos, tipicamente maiores que 1 e 2 μm . (Bøifot; Skogan; Dybwad, 2024; Negron et al., 2020).

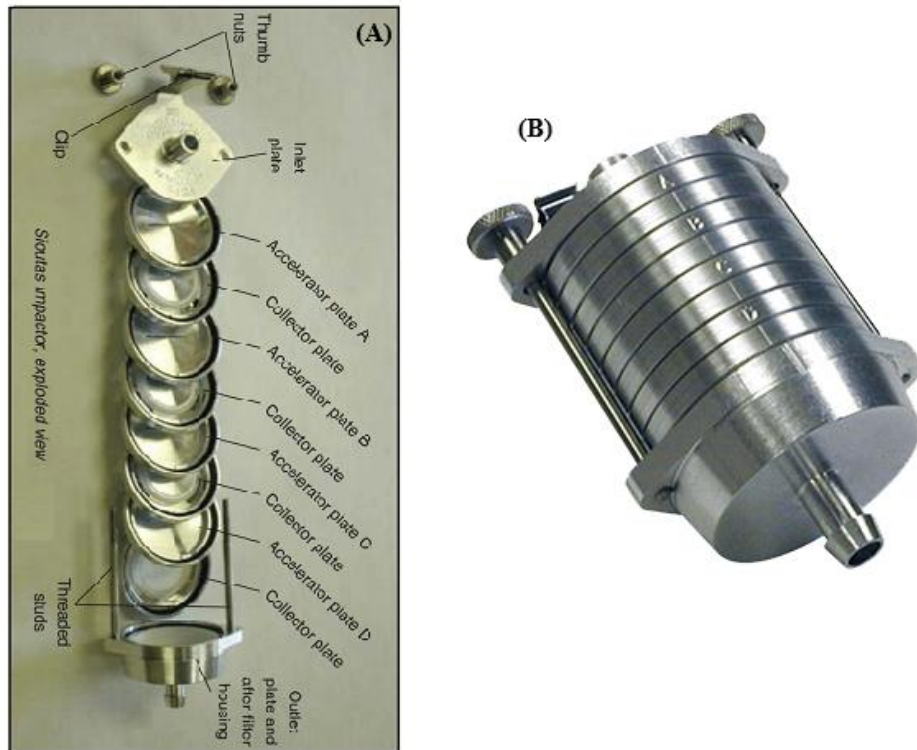
Outro método de coleta importante consiste no uso de uma bomba acoplada a um filtro, que pode ser polarizado ou não. Nesse arranjo ativo, a bomba mantém uma vazão conhecida através de um porta-filtro; o ar atravessa o meio filtrante e as partículas são retidas por impactação, interceptação e/ou difusão. Nos amostradores eletrostáticos, somam-se forças eletrostáticas que elevam a eficiência, sobretudo em diâmetros submicrométricos. Exemplos típicos incluem o SASS 3100 com filtro polarizado, que apresenta alto fluxo e é portátil, e o *Button (inhalable)* com filtro de Politetrafluoretileno (PTFE)/policarbonato para determinação de DNA por qPCR. Este último é utilizado em baixas vazões por períodos prolongados, mimetizando o sistema respiratório humano (Bøifot; Skogan; Dybwad, 2024; Wang et al., 2015).

O uso do amostrador ativo permite que diferentes procedimentos analíticos sejam conduzidos a partir do material retido nos filtros. Entre os mais relevantes em análises de bioaerossóis destacam-se a extração de material genético, que viabiliza a aplicação de técnicas moleculares como PCR e qPCR para identificação de microrganismos, e a determinação de marcadores químicos característicos de fungos no material particulado menor que 10 micrometros (PM_{10}). Esses marcadores, como ergosterol, arabitol e manitol permitem avaliar tanto a abundância

relativa quanto o papel dos bioaerossóis na composição do material particulado atmosférico (Carvalho et al., 2023; Di Filippo et al., 2013a; Samaké et al., 2019).

Os métodos de fracionamento também podem ser empregados na amostragem ativa para correlacionar a faixa de tamanho das partículas com variáveis como a transportabilidade e a depositabilidade no sistema respiratório. Nessa categoria, destacam-se os impactadores em cascata, em especial o *Sioutas Personal Cascade Impactor Sampler* (PCIS) (Figura 8). O PCIS opera em baixo fluxo e separa partículas com diâmetros entre 2,5 e 0,25 μm . Em cada estágio, o jato de ar acelera e as partículas impactam sobre filtros de PTFE por inércia. Posteriormente, a amostra de cada fração de diâmetro aerodinâmico pode ser extraída para a determinação de DNA e/ou biomarcadores (SKC Europe; SKC Inc).

Figura 8: Amostrador de impacto em cascata (PCIS): (A) vista esquemática; (B) equipamento pronto.



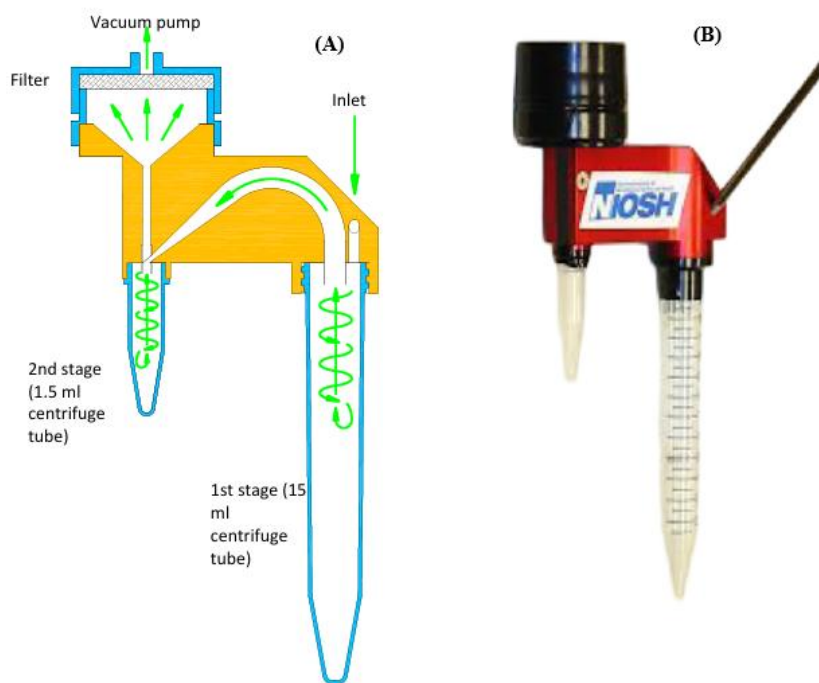
Fonte: SKC Europe (Adaptado).

Em razão do seu baixo fluxo e da capacidade de fracionamento por tamanho, o PCIS tem sido amplamente empregado em amostragens em ambientes de saúde. Na Flórida (EUA), Lednicky & Loeb (2013) detectaram RNA (Do inglês ribonucleic acid) e isolaram o vírus de influenza A viável (H3N2) em um ambiente residencial utilizando o PCIS, com recuperação em múltiplas frações de tamanho, incluindo a submicrométrica (Lednicky; Loeb, 2013). Em cenário hospitalar, Liu et al. (2020) aplicaram o amostrador para avaliar a distribuição do SARS-CoV-2 em aerossóis fracionados por tamanho. Estes demonstraram a presença de material genético principalmente nas frações de menores diâmetros e que o PCIS possibilita correlacionar o tamanho

das partículas com métricas ambientais e epidemiológicas, como a concentração do PM e a viabilidade dos organismos (Lednický; Loeb, 2013; Liu et al., 2020).

Além dos amostradores com fracionamento supracitados, existem sistemas de amostragem portáteis e que podem ser utilizados para avaliar exposições pessoais, cujo modelo de referência é o NIOSH BC-251. Este é um dispositivo multiestágio que separa o aerossol em três frações ($\geq 4 \mu\text{m}$, 1 a $4 \mu\text{m}$ e $< 1 \mu\text{m}$) por meio de dois ciclones em série, coletando as frações maiores diretamente em tubos cônicos e a fração fina em filtro, o que facilita o encaminhamento imediato para PCR/qPCR e/ou outras análises sem etapas de dessorção (Borges et al., 2021; Mainelis, 2020; NIOSH, 2020) (Figura 9). Devido ao baixo fluxo e à portabilidade, o BC-251 permite monitorar a exposição pessoal em diferentes microambientes e durante atividades rotineiras, permitindo avaliar gradientes locais de concentração e eventos transitórios que tendem a ser suavizados por amostradores fixos (Chia et al., 2020).

Figura 9: Amostrador NIOSH de dois estágios: (A) diagrama esquemático; (B) equipamento.



Fonte: NIOSH, 2020 (Adaptado)

Em Singapura, partículas atmosféricas e sedimentadas (superfícies) foram coletadas usando o NIOSH BC-251 em quartos de isolamento (pressão negativa) de pacientes com COVID-19. Em 2 de 3 quartos, foi determinada a presença de SARS-CoV-2 nas frações de partículas atmosféricas com diâmetro maior ou igual a $1\ \mu\text{m}$ ($1,8 \times 10^3$ - $3,4 \times 10^3$ cópias de RNA $\times\ \text{m}^{-3}$) sem procedimentos geradores de aerossol. Na fração menor que $1\ \mu\text{m}$ a presença do vírus não foi determinada possivelmente por menor eficiência, dada a necessidade de extração do material do filtro. Já a contaminação das superfícies demonstrou um comportamento sazonal, sendo mais intensa na 1ª semana de doença, sinalizando maior emissão nessa fase (Chia et al., 2020).

Por fim, quando o objetivo é ampliar a cobertura espacial sem depender de energia elétrica, os métodos passivos mais recentes tornam-se particularmente úteis, sobretudo em séries de longa duração e redes densas (Manibusan; Mainelis, 2022). O *Rutgers Electrostatic Passive Sampler* (REPS) utiliza filme de polifluoreto de vinilideno (PVDF) polarizado para combinar atração eletrostática a deposição gravitacional e, ao final da exposição, permite eluir os bioaerossóis do filme (Dillon et al., 2023; Manibusan; Mainelis, 2022; Therkorn et al., 2017). Em quatro campanhas externas de 10 dias, um amostrador REPS coletou cerca de sete vezes mais microrganismos totais que um passivo com PTFE (SKC Inc., Eighty Four, PA) e aproximadamente 25% do total e 65% dos cultiváveis obtidos por um sistema *Button* ativo co-localizado (Therkorn et al., 2017).

Como todo método passivo, essa abordagem não fornece volumetria direta, exigindo que os resultados sejam normalizados por tempo e área ou calibrados por co-amostragem com pontos ativos. Além disso, estes possuem maior sensibilidade a vento e chuva. Ainda assim, revisões

metodológicas recentes classificam os amostradores passivos eletrostáticos como ferramentas complementares valiosas às estações ativas, especialmente para ampliar redes de monitoramento e amparar séries temporais com excelente relação custo-benefício (Manibusan; Mainelis, 2022).

Em síntese, cada amostrador possui vantagens e limitações dependendo do objetivo do estudo, o que exige um planejamento experimental cuidadoso para a obtenção de resultados e conclusões válidas, comparáveis e reprodutíveis. A seleção deve ainda equilibrar características do local amostrado, os indicadores esperados e o custo. Os detalhes de cada amostrador discutido podem ser consultados na Tabela 1.

Tabela 1: Amostradores e características principais.

Grupo	Modelos (exemplos)	Volume	Viabilidade	Destaques
Passivo gravitacional	Durham	Não	Não	Baixo custo e manutenção; útil para triagem; reporta deposição
Rotação	Rotorod	Não	Não	Portátil; estimativa baseada em área varrida/rotação.
Volumétrico de fenda	Hirst-type; Burkard	Sim	Não	Séries contínuas; resolução temporal; leitura microscópica em lâmina/adesivo.
Impactador em ágar	Andersen 1 estágio (BioStage); Andersen 6 estágios	Sim	Sim	Fraciona por tamanho; relata UFC.m ⁻³ ; referência para viáveis.
Impinger em líquido	AGI-30; SKC BioSampler; Coriolis μ	Sim	Sim	Baixo estresse de cisalhamento; preserva vírus.
Ciclone + filtro (seletivo por tamanho)	NIOSH BC-251	Sim	Não	Separa >4 μm / 1–4 μm / <1 μm ; coleta RNA e DNA.
Impactadores em cascata	PCIS	Sim	Não	Perfil de diâmetro aerodinâmico em múltiplos estágios.
Amostradores pessoais de filtro	IOM; Button	Sim	Não	Exposição pessoal (inalável); Coleta DNA; robustos em campo.
Passivo eletrostático	EDC; PEM	Não	Sim	Densifica redes de baixo custo; útil para tendências; requer co-amostragem para calibração.

Fonte: O autor

3. MÉTODOS DE ANÁLISES

A análise de bioaerossóis fúngicos evoluiu de abordagens essencialmente morfológicas para outras que permitem a determinação de viabilidade, química e genética, combinadas ou não, e ainda a determinação destes materiais em tempo real. Essa trajetória acompanhou as perguntas que a área demandava responder e os avanços tecnológicos. Primeiro, o intuito era determinar a presença e concentração (séries temporais e sazonalidade); depois, a viabilidade e em quais tamanhos de partículas (risco respiratório e deposição); por fim, qual o material fúngico em nível taxonômico e funcional (composição, origem, impactos).

A microscopia foi a primeira técnica de análise de bioaerossóis empregada. Esta técnica foi utilizada, por exemplo, em amostras coletadas por meio de dispositivos gravitacionais clássicos, como o Durham. Neste arranjo, o depósito obtido ao longo de 24 horas é identificado e quantificado por microscopia óptica, com resultados expressos como densidade areal: esporos. $\text{cm}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1}$. Este acoplamento permanece útil para a determinação de fenologia e vigilância, embora a eficiência dependa de condições meteorológicas e do adesivo empregado, o que impõe cautela interpretativa e explícitos vieses. Posteriormente, com o aperfeiçoamento, a determinação microscópica começou a ser empregada em monitoramentos contínuos acoplada à amostradores de fenda operados a vazão conhecida. Como o volume de ar aspirado é definido, os resultados podem ser expressos em esporos. m^{-3} , e devido ao registro contínuo na fita adesiva, é possível resolver variações com resolução diária e até horária (Blackley; Subiza, 2001; Matsuda; Kawashima, 2018). Este, consolidou-se como padrão em redes aerobiológicas (conjunto de monitoramento de bioaerossóis) (Stach, 2003).

Como já discutido na seção anterior, a demanda por informações de viabilidade acarretou a introdução de quantificação de culturas, a qual pode ser realizada utilizando a microscopia ou outras técnicas óticas, por exemplo. Nas análises por cultura são realizadas as contagens de unidades formadoras de colônia (UFC.m⁻³) após incubação em meios apropriados, muitas vezes em conjunto com separação por faixas aerodinâmicas, o que fornece, além da viabilidade, um perfil de tamanho relevante à avaliação da deposição no trato respiratório (Vaughan, 1989). O emprego dessa abordagem em estudos de campo, como no banco de dados norte americano, viabilizou as bases comparativas entre ambientes internos e externos, com evidências de concentrações internas mais baixas, forte sazonalidade e predominância de *Cladosporium*, *Penicillium* e *Aspergillus* (Shelton et al., 2002).

A partir dos anos 1990, as análises alvo-específicas para alérgenos fúngicos, sobretudo o Alt a 1 (o principal alérgeno de *Alternaria alternata*), começaram a ser estudadas e empregadas. Estas podem ser realizadas por meio de ensaios imunoenzimático (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay - ELISA), em que anticorpos específicos reconhecem e quantificam diretamente a proteína alvo extraída de filtros, *impingers* ou poeira (Chruszcz et al., 2012; De Linares et al., 2022; Rodríguez-Fernández et al., 2024). Em Ciudad Real (Espanha), Alt a 1 foi determinado de março a dezembro, e demonstrou dois picos sazonais, com máximos em abril e maio, além disso, foram observadas correlações das concentrações com sintomas em pacientes monossensibilizados, aqueles que apresentam sensibilidade alérgica a determinado alérgeno (Feo Brito et al., 2012). Em Barcelona, análises multi-campanhas mostraram correlação positiva de Alt a 1 com temperatura, negativa com umidade relativa e ausência de correlação com precipitação (De Linares et al., 2022). Complementarmente, foi estimada a potência do alérgeno por esporo em

séries diárias, essa razão variou de 2,4 a $34,7 \cdot 10^{-3}$ pg.esporo⁻¹, indicando que o mesmo número de esporos pode corresponder a cargas alergênicas muito distintas (Grewling et al., 2019).

As necessidades de medidas quantitativas corroboraram com o advento de técnicas modernas, em especial, o desenvolvimento e uso da qPCR (Do inglês quantitative Polymerase Chain Reaction) para obter informações sobre alvos a partir de amostras. A qPCR introduziu especificidade taxonômica e alta sensibilidade às análises de bioaerossóis ao quantificar, em tempo real, um alvo genético e converter o resultado em cópias m⁻³ com base no volume amostrado (Mainelis, 2020b). Na prática, coleta-se o material do ar, tipicamente em filtros ou gelatina, extrai-se o DNA e o quantifica pela curva-padrão (Mainelis, 2020; Yamamoto et al., 2010)

Desde a sua primeira aplicação, estudos comprovaram sua qualidade metodológica a partir da validação de protocolos: exatidão, precisão e limites de detecção e quantificação, além de estratégias para mitigação da inibição dos efeitos de matriz (Hospodsky; Yamamoto; Peccia, 2010; Mcdevitt et al., 2004; Yamamoto et al., 2010).

A qPCR foi amplamente aplicada no contexto da COVID-19, em especial como RT-qPCR (Reverse Transcription quantitative Polymerase Chain Reaction) para a detecção de material genético do SARS-CoV-2 em bioaerossóis. Em hospitais de Wuhan, mapeamentos ambientais identificaram RNA (Ácido ribonucleico) viral no ar e em superfícies, com número de resultados positivos maiores em UTI, e detecções até 4 metros dos pacientes (Guo et al., 2020). Em Singapura, triagens em amostras de ar em quartos de isolamento registraram RT-qPCR positivas e ampla contaminação de superfícies, consolidando a utilidade da qPCR para vigilância (Chia et al., 2020). Fora do ambiente hospitalar, monitoramentos em escolas e edifícios mostraram que a qPCR aplicada a filtros e *swabs* detecta RNA com sensibilidade, embora parte das determinações possam ser relativas a RNA residual (Zuniga-Montanez et al., 2022).

A *droplet* digital PCR (ddPCR) surge como uma alternativa a qPCR para quantificação absoluta em matrizes de baixa biomassa e com inibidores, comuns na atmosfera (Quan; Sauzade; Brouzes, 2018). Diferentemente da qPCR, a ddPCR particiona a reação em milhares de microgotas, analisa a PCR de ponto final e estima o número de cópias por reação pelo ajuste de Poisson, com isso, tende a ser mais estável frente a inibição e mais sensível em baixas cargas (Ibekwe et al., 2020; Kim; Jeong; Cho, 2014). Revisões e comparativos mostraram maior precisão, reprodutibilidade e sensibilidade da ddPCR para alvos microbianos, ainda que a um custo analítico superior e com faixa dinâmica mais estreita (Guri et al., 2024; Wang et al., 2022). Em paralelo, sínteses metodológicas de DNA presente no ar já a listam como promissora para padronização interlaboratorial em vigilância ambiental (Guo et al., 2024).

Poh et al. (2020) mostraram que a ddPCR foi mais sensível que a qPCR para *Aspergillus* no trato respiratório e mais resistente à inibição (Poh et al., 2020). Em bioaerossóis virais, ddPCR foi sendo empregada para SARS-CoV-2 no ar em hospitais e um centro de quarentena na Malásia (Rashid et al., 2023). Rashid et al. (2023) detectaram RNA viral em 15,2% das amostras com ddPCR contra 3,4% com RT-qPCR, ilustrando a maior sensibilidade em campo (Rashid et al., 2023). Resultados semelhantes foram obtidos em estudos realizados em 2025 em ambientes hospitalares, reforçando a viabilidade da técnica para vigilância ambiental em ambientes interiores (Truyols-Vives et al., 2025).

A caracterização da composição do conjunto presente na amostra, e não apenas de alvos específicos, também avançou. Neste caso, com a utilização do *metabarcoding* de DNA, procedimento em que o DNA é extraído do material coletado, amplificado com *primers* designados para um marcador filogenético, indexado e sequenciado em massa. As determinações resultantes são então atribuídas a táxons por comparação a bancos de referência, retornando dados como a

presença ou a ausência, além de abundâncias relativas (Ruppert; Kline; Rahman, 2019). Para fungos, a região ITS (*Internal Transcribed Spacer*, ITS1–5.8S–ITS2 do rDNA nuclear) é o código de barras padrão, dado que concilia sítios conservados para ancoragem e elevada variabilidade para discriminação taxonômica (Schoch et al., 2012; Schoch; Seifert, 2012).

Um estudo realizado na Itália demonstrou que o *metabarcoding* captura variação sazonal e heterogeneidade espacial na aérea urbana, demonstrando sua aplicabilidade para vigilância e ecologia urbana (Banchi et al., 2018). Em escala global, um levantamento realizado em 2024 mostrou que as comunidades fúngicas aéreas exibem dinâmica espacial, além da sazonal, e que estas são altamente previsíveis. Ademais, o estudo mostrou que as concentrações e variabilidade de composição aumentam com a latitude, sendo esta sazonal. Estes resultados estabelecem o DNA presente na atmosfera como matriz informativa para a biogeografia fúngica (Abrego et al., 2024). Quando aplicada ao material particulado atmosférico, alta diversidade e diferenças marcantes entre frações grossa e fina foram observadas, com mais fitopatógenos na fração grossa e mais alérgenos e patógenos humanos na fração menor que 3 µm (Fröhlich-Nowoisky et al., 2009).

Ao se trabalhar com amostradores de fase líquida, é possível ainda aplicar técnicas como a citometria de fluxo. Esta determina a partir de uma suspensão líquida célula a célula, o espalhamento de luz e fluorescências geradas por corantes. A partir desses sinais, definem-se portas que separam partículas biológicas de detritos e, ainda se pode determinar as frações viáveis e não viáveis (Chen; Li, 2005). Se o objetivo da análise, for este, avaliar a viabilidade por citometria, o par de corantes SYTO9/PI é aplicado. O SYTO9 marca ácidos nucleicos em praticamente todas as células, enquanto o iodeto de propídio (PI) só penetra quando há perda de integridade, sinalizando células “comprometidas”. Assim, o verde (SYTO9) domina no subconjunto intacto e o vermelho (PI) no danificado, com zonas intermediárias que dependem do tempo de incubação e da

permeabilidade de cada espécie. Além desses são aplicáveis corantes como o CTC e o FUN-1 como indicadores de atividade metabólica (Chen; Li, 2005; Negron et al., 2020).

Técnicas mais modernas também envolvem monitoramento em tempo real. O WIBS (*Wideband Integrated Bioaerosol Sensor*) é um sensor UV-LIF (*Ultraviolet Laser-Induced Fluorescence*) que ilumina partículas individuais em voo com luz ultravioleta e registra, simultaneamente, o espalhamento elástico e a autofluorescência de fluoróforos biológicos como triptofano e NADH (Fennelly et al., 2017; Forde et al., 2019). A partir desses sinais, cada evento recebe uma assinatura de fluorescência e um diâmetro óptico, o que permite estimar o número de partículas biológicas fluorescentes e acompanhar variações minuto a minuto em ambientes internos e externos (Huffman et al., 2020; Li et al., 2022). Entretanto, como a assinatura óptica não é específica por espécie, não retorna dados taxonômicos. e outras partículas também podem fluorescer. Além disso, nem todo bioaerossol é fortemente fluorescente, e fatores ambientais podem atenuar ou realçar o sinal, por isso, os resultados do WIBS são indicadores probabilísticos (Huffman et al., 2020; Markey et al., 2024).

A obtenção de informações taxonômicas com técnicas de ionização de matriz (*Matrix-Assisted Laser Ionization – Time of Flight Mass Spectrometry* MALDI-TOF-MS) também despontou com os avanços analíticos. Cabe destacar que nesta é necessário trabalhar com bioaerossóis viáveis, sendo a etapa de cultura essencial. Para tal, inicialmente o microrganismo deve crescer em placa; em seguida, um pequeno fragmento é misturado a uma matriz e irradiado por laser, e as proteínas são ionizadas e se diferenciam pelo tempo-de-voo, gerando um espectro. Esse espectro é comparado a bibliotecas de referência e o software retorna a melhor correspondência (Health Care Providers, 2024; Lau, 2021). Como o perfil proteico é obtido diretamente, a identificação ocorre em minutos. No entanto, seu desempenho depende,

principalmente, de duas coisas: (i) a qualidade e a cobertura da biblioteca espectral e (ii) o protocolo de extração/preparo (Health Care Providers, 2024).

Em um estudo com bioaerossóis de ambientes internos, Madsen et al. (2016) geraram e coletaram aerossóis fúngicos a partir de materiais de construção colonizados e os identificaram por MALDI-TOF. Este estudo demonstrou a viabilidade da técnica para detecção da taxonomia fúngica, mas destacou a importância de bibliotecas expandidas para espécies ambientais (Madsen et al., 2016).

Em paralelo ao desenvolvimento de técnicas analíticas de quantificação de fungos e suas viabilidades, consolidou-se o uso de biomarcadores químicos como ergosterol e os sacarídeos arabitol e manitol para inferir a biomassa fúngica e a contribuição de esporos ao material particulado (Di Filippo et al., 2013b). Um estudo realizado em Hong Kong quantificou, através de cromatografia gasosa, e validou o ergosterol como biomarcador ao estimar o número de esporos a partir da massa de ergosterol e compará-lo com contagens de fungos viáveis presente tanto no material particulado igual ou menor que 10 μm (PM_{10}) quanto no igual ou menor que 2,5 μm ($\text{PM}_{2,5}$) (Lau et al., 2006).

Em um estudo realizado na França, o qual monitorou a presença em 28 pontos amostrais, tanto arabitol quanto manitol foram quantificados em todas as amostras coletadas e predominantes no material particulado grosso (PM_{10}) (Samaké et al., 2019).

No contexto brasileiro, uma campanha em São Carlos (2015–2018) quantificou 21 sacarídeos e derivados, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e íons em PM_{10} , e por meio de uma metodologia estatística (Fatoração de Matriz Positiva, em inglês Positive Matrix Factorization - PMF) determinou as fontes de material particulado para a atmosfera. Arabitol e

manitol foram os marcadores de bioaerossóis quantificados em maiores concentrações, fração a qual foi responsável por quase 27% do material particulado total (Carvalho et al., 2023).

Embora estes derivados sacarídeos apresentem correlações com material fúngico e estejam sendo utilizados como biomarcadores químicos, Clemente et al., (2024) reportaram contextos em que estes não se comportam como traçadores exclusivos de emissão biogênica. Portanto, são necessárias avaliações das possíveis fontes locais, e integração com outras evidências antes de inferir o número de esporos a partir dos marcadores (Clemente et al., 2024).

Para sintetizar as informações apresentadas, os métodos discutidos e suas características foram compilados na Tabela 2.

Tabela 2: Métodos de análises e principais características

Método	Resolução taxonômica	Viabilidade	Matriz compatível	Desvantagem
Microscopia óptica	Morfotipos	Não mede	Lâmina/adensivo	Não distingue espécie; não registra viabilidade.
Cultura em ágar	Espécie	Direta	Placas/impactadores; impinger→placa	Subestima não cultiváveis; necessário tempo de incubação.
ELISA	Alvo específico	Não mede	Filtro; líquido; EDC	Depende de anticorpos.
qPCR / RT-qPCR	Alvo específico	Indireta	Filtros (PTFE/gelatina); líquido de impinger	Sensível a inibidores; não indica viabilidade.
Metabarcoding	Gênero–espécie	Não mede	Filtro; líquido; EDC	Vieses de primer; sem quantificação absoluta.
Citometria de fluxo	Nenhuma	Indireta	Líquido	Requer suspensão estável.
WIBS	Nenhuma	Indireta	In situ	Falsos positivos; requer calibração e co-amostragem.
MALDI-TOF	Espécie	Direta	Colônias em placa	Depende de isolamento prévio; biblioteca de referência.
ddPCR	Alvo específico	Indireta	Filtro; líquido	Custo alto.

Fonte: O auto

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse trabalho teve por objetivo sintetizar, em perspectiva histórica e comparativa, como a seleção dos métodos de amostragem e análise condicionam inferências sobre bioaerossóis e seus impactos na qualidade do ar, no clima e na saúde humana, evidenciando que não há uma metodologia universal.

Enquanto coletores do tipo Hirst/Burkard oferecem séries temporais contínuas, impactadores Andersen preservam a viabilidade e fracionam por tamanho, *impingers* e ciclones fornecem extratos líquidos versáteis, filtros e impactadores em cascata ampliam a recuperação dos bioaerossóis quando presentes em menores concentrações, e dispositivos pessoais permitem determinar as exposições em microambientes.

Já em relação as metodologias analíticas, a microscopia e a cultura fornecem contagem e viabilidade com menor resolução taxonômica, ensaios imunológicos mapeiam alérgenos, qPCR/ddPCR agregam sensibilidade e especificidade, *metabarcoding* amplia cobertura taxonômica e MALDI-TOF acelera a identificação de fungos isolados.

Todos os métodos possuem limitações relevantes: sensibilidade de métodos passivos a vento/chuva; perdas por faixa aerodinâmica; estresse de coleta reduzindo viabilidade; e inibição/viés de extração em métodos moleculares, sendo assim necessários controles e tratamentos de dados adequados. Para garantir um bom estudo é necessário que antes das campanhas, sejam definidos o objetivo do estudo e qual a resposta pretendida. Por exemplo, é necessário adequar variáveis como altura, vazão e tempo de amostragem, incluindo co-amostragem meteorológica, número de replicatas e brancos, bem como co-localização passivo-

ativo para calibração. Além disso, quando pertinente deve-se integrar série contínua e coleta discreta, o que potencializa análises moleculares. Desta forma, podemos consolidar os métodos discutidos, relacionando-os como apresentado na Tabela 3.

Tabela 3: Correlação entre métodos de amostragem de bioaerossóis e análises predominantes

Método de amostragem	Estado da amostra	Preserva viabilidade	Fraciona por tamanho	Análise predominante
Passivo	Sólido/adesivo	Não	Não	Microscopia; ELISA
Hirst/Burkard	Sólido/adesivo	Não	Não	Microscopia
Rotorod	Sólido/adesivo	Não	Não	Microscopia
Andersen	Placa de ágar	Sim	Sim ¹	Cultura e MALDI-TOF
Impingers	Líquido	Parcial	Não	qPCR e Cultura
Ciclones	Líquido	Parcial	Não	qPCR e ddPCR
Filtros	Sólido em filtro	Não	Não	ddPCR e Metabarcoding
Impactador em cascata	Sólido por estágio	Não	Sim	ddPCR e Metabarcoding
Pessoais	Tubos + filtro	Parcial	Sim	qPCR e Citometria
WIBS	In situ	—	—	UV-LIF/WIBS

¹Fracionamento por tamanho fornecido especificamente pelo Andersen de 6 estágios

FONTE: O autor

5. REFERÊNCIAS

ABDEL HAMEED, A. A. *et al.* Study on some factors affecting survivability of airborne fungi. **Science of the Total Environment**, v. 414, p. 696–700, 1 jan. 2012.

ABREGO, Nerea *et al.* Airborne DNA reveals predictable spatial and seasonal dynamics of fungi. **Nature**, v. 631, n. 8022, p. 835–842, 25 jul. 2024.

AMATO, P. *et al.* A fate for organic acids, formaldehyde and methanol in cloud water: their biotransformation by micro-organisms. **Atmospheric Chemistry and Physics**, v. 7, n. 15, p. 4159–4169, 9 ago. 2007.

ANDERSEN, A. A. New sampler for the collection, sizing, and enumeration of viable airborne particles. **Journal of bacteriology**, v. 76, n. 5, p. 471–84, nov. 1958.

ANEES-HILL, Samuel *et al.* **A systematic review of outdoor airborne fungal spore seasonality across Europe and the implications for health.** **Science of the Total Environment** Elsevier B.V., , 20 abr. 2022.

BANCHI, Elisa *et al.* DNA metabarcoding uncovers fungal diversity of mixed airborne samples in Italy. **PloS one**, v. 13, n. 3, p. e0194489, 2018.

BEGGS PJ *et al.* **Australian Airborne Pollen and Spore Monitoring Network Interim Standard and Protocols.** [*S.l.: S.n.*].

BERTIN TECHNOLOGIES. **Coriolis μ New generation AIR SAMPLER Quick & reliable air control.** [*S.l.: S.n.*].

BLACKLEY, Pollen; SUBIZA, Javier. How to interpret pollen counts. v. 16, out. 2001.

BØIFOT, Kari Oline; SKOGAN, Gunnar; DYBWAD, Marius. Sampling efficiency and nucleic acid stability during long-term sampling with different bioaerosol samplers. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 196, n. 6, p. 1–16, 1 jun. 2024.

BORGES, João Tito *et al.* SARS-CoV-2: a systematic review of indoor air sampling for virus detection. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 30, p. 40460–40473, 25 ago. 2021.

BURGE, Harriet A. *et al.* Dynamics of Airborne Fungal Populations in a Large Office Building. **Current Microbiology**, v. 40, n. 1, p. 10–16, 31 jan. 2000.

CAN-GÜVEN, E. The current status and future needs of global bioaerosol research: a bibliometric analysis. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 19, n. 8, p. 7857–7868, 1 ago. 2022.

CARVALHO, Jonatas Schadeck *et al.* Source apportionment and health impact assessment of atmospheric particulate matter in the city of São Carlos, Brazil. **Chemosphere**, v. 326, p. 138450, jun. 2023.

CHAO, H. Jasmine *et al.* **Populations and Determinants of Airborne Fungi in Large Office Buildings** *Environmental Health Perspectives* • VOLUME. [S.l.: S.n.]. Disponível em: <<http://ehpnet1.niehs.nih.gov/docs/2002/110p777-782chao/abstract.html>>.

CHEN, Pei-Shih; LI, Chih-Shan. Bioaerosol characterization by flow cytometry with fluorochrome. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 7, n. 10, p. 950, 2005.

CHIA, Po Ying *et al.* Detection of air and surface contamination by SARS-CoV-2 in hospital rooms of infected patients. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, p. 2800, 29 maio 2020.

CHRUSZCZ, Maksymilian *et al.* *Alternaria alternata* allergen Alt a 1: A unique β -barrel protein dimer found exclusively in fungi. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 130, n. 1, p. 241- 247.e9, jul. 2012.

CLEMENTE, Álvaro *et al.* Organic tracers in fine and coarse aerosols at an urban Mediterranean site: contribution of biomass burning and biogenic emissions. **Environmental science and pollution research international**, v. 31, n. 17, p. 25216–25226, abr. 2024.

Clinical Overview of Aspergillosis | Aspergillosis | CDC. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/aspergillosis/hcp/clinical-overview/index.html>>. Acesso em: 26 ago. 2025.

CRISP, Howard C. *et al.* A side-by-side comparison of Rotorod and Burkard pollen and spore collections. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, v. 111, n. 2, p. 118–125, 1 ago. 2013.

DE LINARES, Concepción *et al.* Airborne Alt a 1 Dynamic and Its Relationship with the Airborne Dynamics of Alternaria Conidia and Pleosporales Spores. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 8, n. 2, 27 jan. 2022.

DI FILIPPO, Patrizia *et al.* Fungal contribution to size-segregated aerosol measured through biomarkers. **Atmospheric Environment**, v. 64, p. 132–140, jan. 2013a.

DI FILIPPO, Patrizia *et al.* Fungal contribution to size-segregated aerosol measured through biomarkers. **Atmospheric Environment**, v. 64, p. 132–140, jan. 2013b.

DILLON, Kevin P. *et al.* Comparison of Airborne Bacterial Populations Determined by Passive and Active Air Sampling at puy de Dôme, France. **Aerosol and Air Quality Research**, v. 23, n. 4, p. 220403, 1 abr. 2023.

DING, Pei-Hsiou; WANG, Chiu-Sen. Effect of Sampling Time on the Total Recovery Rate of AGI - 30 Impingers for E. coli Aerosols. **Aerosol and Air Quality Research**, v. 1, n. 1, p. 31–36, 2001.

DORIZAS, P. V. *et al.* Correlation of Particulate Matter with Airborne Fungi in Schools in Greece. **International Journal of Ventilation**, v. 12, n. 1, p. 1–16, 29 jun. 2013.

DOUWES, J. *et al.* Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects. **The Annals of occupational hygiene**, v. 47, n. 3, p. 187–200, abr. 2003.

DURHAM, Oren C. The volumetric incidence of atmospheric allergens. **Journal of Allergy**, v. 17, n. 2, p. 79–86, mar. 1946.

DURHAM, Oren C. Report of the pollen survey committee of the American Academy of Allergy for the season of 1949. **Journal of Allergy**, v. 21, n. 5, p. 442–454, set. 1950.

FANG, Zhiguo *et al.* Culturable airborne fungi in outdoor environments in Beijing, China. **Science of The Total Environment**, v. 350, n. 1–3, p. 47–58, nov. 2005.

FENNELLY, Mehael *et al.* Review: The Use of Real-Time Fluorescence Instrumentation to Monitor Ambient Primary Biological Aerosol Particles (PBAP). **Atmosphere**, v. 9, n. 1, p. 1, 21 dez. 2017.

FEO BRITO, F. *et al.* Correlation between Alt a 1 levels and clinical symptoms in *Alternaria alternata*-monosensitized patients. **Journal of investigational allergology & clinical immunology**, v. 22, n. 3, p. 154–9, 2012.

FLOW. Thermo Scientific N6 Single Stage Andersen Cascade Impactor. 2012.

FORDE, Elizabeth *et al.* Intercomparison of Multiple UV-LIF Spectrometers Using the Aerosol Challenge Simulator. **Atmosphere**, v. 10, n. 12, p. 797, 9 dez. 2019.

FRENZ, David A. Comparing pollen and spore counts collected with the Rotorod Sampler and Burkard spore trap. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, v. 83, n. 5, p. 341–349, nov. 1999.

FRÖHLICH-NOWOISKY, Janine *et al.* High diversity of fungi in air particulate matter. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 31, p. 12814–9, 4 ago. 2009.

FRÖHLICH-NOWOISKY, Janine *et al.* Bioaerosols in the Earth system: Climate, health, and ecosystem interactions. **Atmospheric Research**, v. 182, p. 346–376, dez. 2016.

GREWLING, Łukasz *et al.* Temporal variability in the allergenicity of airborne *Alternaria* spores. **Medical Mycology**, v. 57, n. 4, p. 403–411, 1 jun. 2019.

GRIFFIN, Dale W. Atmospheric Movement of Microorganisms in Clouds of Desert Dust and Implications for Human Health. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 3, p. 459–477, jul. 2007.

GUO, Jian *et al.* Analytical and clinical validation of multiplex droplet digital PCR assay for detecting pathogenic fungal infection in lungs. **Mycology**, v. 15, n. 1, p. 110–119, 2 jan. 2024.

GUO, Zhen-Dong *et al.* Aerosol and Surface Distribution of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Hospital Wards, Wuhan, China, 2020. **Emerging infectious diseases**, v. 26, n. 7, p. 1583–1591, jul. 2020.

GURI, Gledis *et al.* Quantifying the Detection Sensitivity and Precision of qPCR and ddPCR Mechanisms for eDNA Samples. **Ecology and evolution**, v. 14, n. 12, p. e70678, dez. 2024.

HAN, Taewon; MAINELIS, Gediminas. Investigation of inherent and latent internal losses in liquid-based bioaerosol samplers. **Journal of Aerosol Science**, v. 45, p. 58–68, mar. 2012.

HEALTH CARE PROVIDERS, CDC. **Identification of Molds Using MALDI-TOF | Fungal Diseases | CDC**. Disponível em: <https://www.cdc.gov/fungal/hcp/laboratories/identification-of-molds-using-maldi-tof.html?utm_source=chatgpt.com>. Acesso em: 14 out. 2025.

HIRST, J. M. AN AUTOMATIC VOLUMETRIC SPORE TRAP. **Annals of Applied Biology**, v. 39, n. 2, p. 257–265, 26 jun. 1952.

HOSPODSKY, Denina; YAMAMOTO, Naomichi; PECCIA, Jordan. Accuracy, Precision, and Method Detection Limits of Quantitative PCR for Airborne Bacteria and Fungi. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 21, p. 7004–7012, nov. 2010.

HUBBARD, J. A. *et al.* Liquid Consumption of Wetted Wall Bioaerosol Sampling Cyclones: Characterization and Control. **Aerosol Science and Technology**, v. 45, n. 2, p. 172–182, fev. 2011.

HUFFMAN, J. Alex *et al.* Real-time sensing of bioaerosols: Review and current perspectives. **Aerosol Science and Technology**, v. 54, n. 5, p. 465–495, 3 maio 2020.

IBEKWE, Mark A. *et al.* Comparative Use of Quantitative PCR (qPCR), Droplet Digital PCR (ddPCR), and Recombinase Polymerase Amplification (RPA) in the Detection of Shiga Toxin-Producing *E. coli* (STEC) in Environmental Samples. **Water**, v. 12, n. 12, p. 3507, 13 dez. 2020.

JIA, Chunrong; BATTERMAN, Stuart; GODWIN, Christopher. VOCs in industrial, urban and suburban neighborhoods, Part 1: Indoor and outdoor concentrations, variation, and risk drivers. **Atmospheric Environment**, v. 42, n. 9, p. 2083–2100, mar. 2008.

KANJI, Zamin A. *et al.* Overview of Ice Nucleating Particles. **Meteorological Monographs**, v. 58, p. 1.1-1.33, 1 jan. 2017.

KIM, Tae Gwan; JEONG, So-Yeon; CHO, Kyung-Suk. Comparison of droplet digital PCR and quantitative real-time PCR in *mcrA*-based methanogen community analysis. **Biotechnology reports (Amsterdam, Netherlands)**, v. 4, p. 1–4, dez. 2014.

LAU, Anna F. MALDI-TOF for Fungal Identification. **Clinics in laboratory medicine**, v. 41, n. 2, p. 267, 1 jun. 2021.

LAU, Arthur P. S. *et al.* Ergosterol as a biomarker for the quantification of the fungal biomass in atmospheric aerosols. **Atmospheric Environment**, v. 40, n. 2, p. 249–259, jan. 2006.

LEDNICKY, John A.; LOEB, Julia C. Detection and Isolation of Airborne Influenza A H3N2 Virus Using a Sioutas Personal Cascade Impactor Sampler. **Influenza Research and Treatment**, v. 2013, p. 1–8, 10 out. 2013.

LEVETIN, Estelle. Methods for aeroallergen sampling. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 4, n. 5, p. 376–383, set. 2004.

LI, Jiayu *et al.* Comparing the performance of 3 bioaerosol samplers for influenza virus. **Journal of aerosol science**, v. 115, p. 133–145, jan. 2018.

LI, Jiayu *et al.* Diurnal trends of indoor and outdoor fluorescent biological aerosol particles in a tropical urban area. **Science of The Total Environment**, v. 848, p. 157811, 20 nov. 2022.

LIN, Xuejun *et al.* Long-term sampling of airborne bacteria and fungi into a non-evaporating liquid. **Atmospheric Environment**, v. 33, n. 26, p. 4291–4298, nov. 1999.

LIU, Yuan *et al.* Aerodynamic analysis of SARS-CoV-2 in two Wuhan hospitals. **Nature**, v. 582, n. 7813, p. 557–560, 25 jun. 2020.

MACHER, JANET M. Positive-Hole Correction of Multiple-Jet Impactors for Collecting Viable Microorganisms. **American Industrial Hygiene Association Journal**, v. 50, n. 11, p. 561–568, 4 nov. 1989.

MADSEN, Anne Mette *et al.* Generation and Characterization of Indoor Fungal Aerosols for Inhalation Studies. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 82, n. 8, p. 2479, 1 abr. 2016.

MAINELIS, Gediminas. Bioaerosol sampling: Classical approaches, advances, and perspectives. **Aerosol Science and Technology**, v. 54, n. 5, p. 496–519, 3 maio 2020a.

MAINELIS, Gediminas. Bioaerosol sampling: Classical approaches, advances, and perspectives. **Aerosol Science and Technology**, v. 54, n. 5, p. 496–519, 3 maio 2020b.

MANIBUSAN, Sydonia; MAINELIS, Gediminas. Passive bioaerosol samplers: A complementary tool for bioaerosol research. A review. **Journal of Aerosol Science**, v. 163, p. 105992, jun. 2022.

MARIE-ALIX D’HALEWYN; PIERRE CHEVALIER. **Cladosporium cladosporioides** | **Institut national de santé publique du Québec**. Disponível em: <<https://www.inspq.qc.ca/en/moulds/fact-sheets/cladosporium-cladosporioides>>. Acesso em: 26 ago. 2025a.

MARIE-ALIX D’HALEWYN; PIERRE CHEVALIER. **Penicillium spp.** | **Institut national de santé publique du Québec**. Disponível em: <<https://www.inspq.qc.ca/en/moulds/fact-sheets/penicillium-spp>>. Acesso em: 26 ago. 2025b.

MARKEY, Emma *et al.* Spectroscopic detection of bioaerosols with the wibs-4+: Anthropogenic and meteorological impacts. **Science of The Total Environment**, v. 943, p. 173649, 15 set. 2024.

MATSUDA, Soken; KAWASHIMA, Shigeto. Relationship between laser light scattering and physical properties of airborne pollen. **Journal of Aerosol Science**, v. 124, p. 122–132, out. 2018.

MAYA-MANZANO, José M. *et al.* Towards European automatic bioaerosol monitoring: Comparison of 9 automatic pollen observational instruments with classic Hirst-type traps. **Science of The Total Environment**, v. 866, p. 161220, mar. 2023.

MCDEVITT, James J. *et al.* Development of a method to detect and quantify *Aspergillus fumigatus* conidia by quantitative PCR for environmental air samples. **Mycopathologia**, v. 158, n. 3, p. 325–335, out. 2004.

NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH. **NIOSH cyclone samplers for personal bioaerosol sampling**. [*S.l.: S.n.*].

NEGRON, Arnaldo *et al.* Using flow cytometry and light-induced fluorescence to characterize the variability and characteristics of bioaerosols in springtime in Metro Atlanta, Georgia. **Atmospheric Chemistry and Physics**, v. 20, n. 3, p. 1817–1838, 14 fev. 2020.

NIE, Changliang *et al.* Specific Sources Exert Influence on the Community Structures of Bioaerosols. **Aerobiology**, v. 2, n. 4, p. 72–84, 24 set. 2024.

NÚÑEZ, Andrés *et al.* Validation of the Hirst-Type Spore Trap for Simultaneous Monitoring of Prokaryotic and Eukaryotic Biodiversities in Urban Air Samples by Next-Generation Sequencing. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 83, n. 13, jul. 2017.

OGDEN, Eugene C.; RAYNOR, Gilbert S. A new sampler for airborne pollen: The roto-slide. **Journal of Allergy**, v. 40, n. 1, p. 1–11, jul. 1967.

PASSANANTI, Monica *et al.* Siderophores in Cloud Waters and Potential Impact on Atmospheric Chemistry: Photoreactivity of Iron Complexes under Sun-Simulated Conditions. **Environmental Science & Technology**, v. 50, n. 17, p. 9324–9332, 6 set. 2016.

POH, Tuang Yeow *et al.* Evaluation of Droplet Digital Polymerase Chain Reaction (ddPCR) for the Absolute Quantification of *Aspergillus* species in the Human Airway. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 9, 26 abr. 2020.

QUAN, Phenix-Lan; SAUZADE, Martin; BROUZES, Eric. dPCR: A Technology Review. **Sensors (Basel, Switzerland)**, v. 18, n. 4, 20 abr. 2018.

RASHID, Siti Aishah *et al.* Droplet digital PCR application for the detection of SARS-CoV-2 in air sample. **Frontiers in Public Health**, v. 11, 27 out. 2023.

RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ, Alberto *et al.* Identifying key environmental factors to model Alt a 1 airborne allergen presence and variation. **Science of The Total Environment**, v. 917, p. 170597, mar. 2024.

Rotorod Spore Sampler - Agri Samplers Ltd. Disponível em: <https://agri-samplers.co.uk/product/rotorod-spore-sampler/?utm_source=chatgpt.com>. Acesso em: 4 set. 2025.

RUPPERT, Krista M.; KLINE, Richard J.; RAHMAN, Md Saydur. Past, present, and future perspectives of environmental DNA (eDNA) metabarcoding: A systematic review in methods, monitoring, and applications of global eDNA. **Global Ecology and Conservation**, v. 17, p. e00547, jan. 2019.

SAMAKÉ, Abdoulaye *et al.* Arabitol, mannitol, and glucose as tracers of primary biogenic organic aerosol: the influence of environmental factors on ambient air concentrations and spatial distribution over France. **Atmospheric Chemistry and Physics**, v. 19, n. 16, p. 11013–11030, 29 ago. 2019.

ŠANTL-TEMKIV, Tina *et al.* Hailstones: A Window into the Microbial and Chemical Inventory of a Storm Cloud. **PLoS ONE**, v. 8, n. 1, p. e53550, 23 jan. 2013.

SCHOCH, Conrad L. *et al.* Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for *Fungi*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 16, p. 6241–6246, 17 abr. 2012.

SCHOCH, Conrad L.; SEIFERT, Keith A. Reply to Kiss: Internal transcribed spacer (ITS) remains the best candidate as a universal DNA barcode marker for *Fungi* despite imperfections. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 27, 3 jul. 2012.

SHELTON, Brian G. *et al.* Profiles of Airborne Fungi in Buildings and Outdoor Environments in the United States. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 4, p. 1743–1753, abr. 2002.

SKC EUROPE. **Sioutas Personal Cascade Impactor**. Disponível em: <<https://www.skcltd.com/products2/sampling-heads/sioutas-personal-cascade-impactor.html>>. Acesso em: 26 ago. 2025.

SKC INC. **BioSampler® Operating Instructions**. [S.l.: S.n.].

SKC INC. **Sioutas Cascade Impactor**. [S.l.: S.n.]. Disponível em: <<http://archive.epa.gov/nrmrl/archive-etv/>>.

SPRINGORUM, A. C.; CLAUSS, M.; HARTUNG, J. A Temperature-Controlled AGI-30 Impinger for Sampling of Bioaerosols. **Aerosol Science and Technology**, v. 45, n. 10, p. 1231–1239, 23 out. 2011.

STACH, Alicja. The use of Hirst volumetric trap, preparation of drums and slides. **Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii**, v. 20, n. 4, p. 246–249, 2003.

THERKORN, Jennifer *et al.* Field performance of a novel passive bioaerosol sampler using polarized ferroelectric polymer films. **Aerosol Science and Technology**, v. 51, n. 7, p. 787–800, 3 jul. 2017.

THERMO FISHER SCIENTIFIC. **N6 Single Stage Andersen Cascade Impactor: Product Specifications**. Franklin, MA: [S.n.]. Disponível em: <www.thermoscientific.com/AQI>.

TRUYOLS-VIVES, Joan *et al.* Airborne SARS-CoV-2 Detection by ddPCR in Adequately Ventilated Hospital Corridors. **Toxics**, v. 13, n. 7, p. 583, 12 jul. 2025.

VAUGHAN, N. P. The Andersen impactor: Calibration, wall losses and numerical simulation. **Journal of Aerosol Science**, v. 20, n. 1, p. 67–90, jan. 1989.

WANG, Chi Hsun *et al.* Field evaluation of personal sampling methods for multiple bioaerosols. **PLoS ONE**, v. 10, n. 3, 23 mar. 2015.

WANG, Danrui *et al.* <sc>ddPCR</sc> surpasses classical <sc>qPCR</sc> technology in quantitating bacteria and fungi in the environment. **Molecular Ecology Resources**, v. 22, n. 7, p. 2587–2598, 2 out. 2022.

WEST, J. S.; KIMBER, R. B. E. Innovations in air sampling to detect plant pathogens. **Annals of Applied Biology**, v. 166, n. 1, p. 4–17, 19 jan. 2015.

WILLEKE, Klaus; LIN, Xuejun; GRINSHPUN, Sergey A. Improved Aerosol Collection by Combined Impaction and Centrifugal Motion. **Aerosol Science and Technology**, v. 28, n. 5, p. 439–456, jan. 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, WHO. **Ambient (outdoor) air pollution**. Disponível em: <[https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/ambient-\(outdoor\)-air-quality-and-health](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/ambient-(outdoor)-air-quality-and-health)>. Acesso em: 16 maio. 2023.

XU, Jingsha *et al.* Biomass burning and fungal spores as sources of fine aerosols in Yangtze River Delta, China – Using multiple organic tracers to understand variability, correlations and origins. **Environmental Pollution**, v. 251, p. 155–165, ago. 2019.

YAMAMOTO, Naomichi *et al.* Optimization of a real-time PCR assay to quantitate airborne fungi collected on a gelatin filter. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 109, n. 1, p. 83–88, jan. 2010.

ZUNIGA-MONTANEZ, Rogelio *et al.* The challenge of SARS-CoV-2 environmental monitoring in schools using floors and portable HEPA filtration units: Fresh or relic RNA? **PloS one**, v. 17, n. 4, p. e0267212, 2022.

