

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CÂMPUS LONDRINA
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL**

ALINE CHRISTINE DA SILVA CARVALHO

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *Cryptococcus ssp.* NO BOSQUE
MARECHAL CÂNDIDO RONDON E NA PRAÇA MARECHAL
FLORIANO PEIXOTO NO CENTRO DE LONDRINA- PR**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LONDRINA

2020

ALINE CHRISTINE DA SILVA CARVALHO

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *Cryptococcus ssp.* NO BOSQUE
MARECHAL CÂNDIDO RONDON E NA PRAÇA MARECHAL
FLORIANO PEIXOTO NO CENTRO DE LONDRINA- PR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Superior de Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Engenharia Ambiental.

Orientadora: Profa. Dra. Kátia Valéria Marques Cardoso Prates

**LONDRINA
2020**

TERMO DE APROVAÇÃO

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO - TCC

AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE CRYPTOCOCCUS SSP NO BOSQUE MARECHAL CÂNDIDO RONDON E NA PRAÇA MARECHAL FLORIANO PEIXOTO NO CENTRO DE LONDRINA - PR

Por

Aline Christine da Silva Carvalho

Monografia apresentada às 15 horas 00 min. do dia 26 de novembro de 2020 como requisito parcial, para conclusão do Curso de Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Londrina. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação e conferidas, bem como achadas conforme, as alterações indicadas pela Banca Examinadora, o trabalho de conclusão de curso foi considerado APROVADO.

Banca examinadora:

| | |
|--|--------------------------------|
| Prof. Joseane Débora Peruço Theodoro | Membro |
| Prof. Jorge Alberto Martins | Membro |
| Prof. Kátia Valéria Marques Cardoso Prates | Orientador |
| Prof. Orlando de Carvalho Junior | Professor(a) responsável TCCII |

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus por me dar saúde e força para superar as dificuldades encontradas pelo caminho.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) pelo apoio institucional, sua estrutura e equipamentos e por me assegurar com o auxílio financeiro fornecido pelo edital 2/2019 - PROGRAD/PROREC a oportunidade de aplicar meus conhecimentos adquiridos durante o curso de forma prática por meio deste projeto.

A Professora Dra. Kátia Valéria Marques Cardoso Prates pela sua dedicação, compreensão, apoio e pela sabedoria com que me guiou durante esta longa trajetória.

Ao Thiago, com quem pude contar e aprender muito dentro do laboratório, com toda certeza este trabalho teria sido muito mais arduo sem o auxílio prestado.

Ao IPPUL, onde pude ter contato com a problemática do Bosque Marechal Cândido Rondon e que forneceu apoio e suporte adicionais desde a inspiração inicial deste trabalho.

A minha amada família, especialmente à minha mãe Vilma e seu companheiro Jaime, à minha avó Maria e ao meu tio João, que me proporcionaram suporte e amor incondicional em todas as minhas decisões e ações.

Aos meus mais queridos amigos, Karine, Johvanny, Maira Clara, Bruna e Janaina que são companheiros de curso e me acompanharam durante esta trajetória, sempre dividindo as angústias e preocupações. Desejo todo sucesso do mundo para vocês e espero um dia poder abraçá-los novamente.

As meninas do apartamento 302, Ramily, Jeniffer, Giordana e Daniele. Obrigada por me acolherem quando mais precisei, os dias aí com vocês foram inesquecíveis e fundamentais para a conclusão deste trabalho.

E não menos importante ao meu noivo Felipe, meu companheiro de vida que me fornece amor e carinho para superar os momentos mais difíceis e que é um dos maiores incentivadores e apoiadores do meu crescimento acadêmico-profissional.

*“Comece fazendo o que é necessário,
depois o que é possível, e de repente
você estará fazendo o impossível”*
São Francisco de Assis

RESUMO

CARVALHO, Aline Christine da Silva. **Avaliação da presença de *Cryptococcus ssp.* no Bosque Marechal Cândido Rondon e na Praça Marechal Floriano Peixoto no centro de Londrina- PR.** 2020. 63p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2020.

As enfermidades relacionadas aos pombos urbanos fazem com que essa ave seja tema para a saúde ambiental, visto que abrigam diversos microrganismos patogênicos que são fatores de risco biológico para a saúde humana. Dentre esses microrganismos encontra-se um fungo causador da criptococose, doença que atinge os pulmões e o sistema nervoso central podendo levar a óbito pessoas de saúde mais vulnerável. Acredita-se que esta infecção se adquire do meio ambiente por inalação de bioaerossóis fúngicos do gênero *Cryptococcus*, encontrado comumente nas fezes de pombos. A superpopulação de pombos presentes na região central de Londrina levanta a hipótese que exista um potencial risco de contaminação daqueles que transitam nas proximidades do Bosque Marechal Candido Rondon e na Praça Marechal Floriano Peixoto, principais locais de afetados pelos pombos e de grande circulação de pessoas. Com o objetivo de avaliar a presença do fungo *Cryptococcus ssp.* nestes locais, foram realizadas três campanhas de amostragem nos meses de março, agosto e setembro de um dia, com duas coletas em cada, pela manhã e pela tarde. Foram coletados bioaerossóis pela técnica de sedimentação espontânea em placas de Petri, as quais continham meio de cultura seletivo para fungos. As coletas ocorreram em cinco pontos no Bosque e três pontos na Praça, os quais foram definidos por serem locais com fluxo constante de pessoas. Após incubação em estufa bacteriológica por 96 horas a $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ das amostras coletadas, foi realizada a contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) dos fungos coletados, identificação e isolamento dos que apresentaram característica leveduriforme e coloração branco/bege, bem como a confirmação do gênero *Cryptococcus* por meio de visualização microscópica dos fungos isolados em suspensão de Tinta Nanquim. O número médio da concentração de $\text{UFC}\cdot\text{m}^{-3}$ fúngicas encontrado nas amostras coletadas no período da manhã foi de 633, enquanto a média nas amostras da tarde foi de $1.143 \text{ UFC}\cdot\text{m}^{-3}$. As condições climáticas interferiram diretamente nos resultados, constatando-se uma relação entre a temperatura ambiente no momento da coleta e a concentração média de $\text{UFC}\cdot\text{m}^{-3}$ fúngicas. A porcentagem média de UFC leveduriforme encontrada em todo o conjunto amostral foi de 11,3%, sendo, portanto, minoria em relação aos fungos filamentosos. Das dez colônias leveduriformes isoladas que apresentavam as características do fungo em estudo, 80% foram classificadas como pertencentes ao gênero *Cryptococcus*. Os resultados apontam que nos dois locais de amostragem estão presentes bioaerossóis do gênero *Cryptococcus* que podem vir a ser inalados pelas pessoas que circulam por estes ambientes.

Palavras-chave: Pombos Urbanos. Saúde Ambiental. *Cryptococcus*. Bioaerossóis. Áreas verdes.

ABSTRACT

CARVALHO, Aline Christine da Silva. **Evaluation of the presence of *Cryptococcus ssp.* at Bosque Marechal Cândido Rondon and at Praça Marechal Floriano Peixoto in the center of Londrina- PR.** 2020. 63p. Course Conclusion Paper (Environmental Engineering) - Federal Technological University of Paraná, Londrina, 2020.

Illnesses related to urban pigeons make this bird a subject to environmental health, as they host many pathogenic microorganisms that are biological risk factors for human health. Among these microorganisms there is a causative fungus of cryptococcosis, a disease that affects the lungs and central nervous system and can lead to death of people with more vulnerable health. It is believed that this infection is acquired from the environment by inhaling the fungal bioaerosols *Cryptococcus* genus, commonly found in pigeon droppings. The overpopulation of pigeons in central Londrina raises the hypothesis that there is a potential risk of contamination of people transiting near Bosque Marechal Candido Rondon and Praça Marechal Floriano Peixoto, which are the sites most affected by pigeons, as well as of large people circulation. In order to assess the presence of the fungus *Cryptococcus ssp.* in these sites, three sampling campaigns were carried out in March, August and September of 2020, with two daily samplings, one in the morning and other in the afternoon. Bioaerosols were collected by spontaneous sedimentation technique in Petri plates containing a selective medium for fungi. The collections took place at five points in Bosque and three points in Praça, which were considered as being places with a constant flow of people. After incubation of the collected fungi inside bacteriological oven for 96 hours at 30 ± 1 ° C, we performed the counting of the Forming Units Colonies (CFU). In addition, we carried out identification and isolation of colonies presenting yeast-like and white/beige characteristics, as well as confirmation of the *Cryptococcus* genus through microscopic visualization of the fungi isolated in Tinta Nanquim suspension. The average concentration of CFU.m⁻³ fungal found in samples collected in the morning was 633, while the average in the afternoon samples was 1.143 CFU.m⁻³. The weather conditions directly interfere in the results, suggesting a relationship between the ambient temperature at the time of collection and the average concentration of CFU.m⁻³. The average percentage of yeast-like CFU found throughout the samples was 11.3%, thus being minority compared to filamentous fungi. Of the ten isolated yeast-like colonies that had the characteristics of the fungus in the study, 80% were classified as belonging to the genus *Cryptococcus*. The results show that the two sampling sites presented bioaerosols of the *Cryptococcus* genus that may be inhaled by people who circulate in these environments.

Keywords: Urban Pigeons. Environmental health. *Cryptococcus*. Bioaerosols. Green places.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Funções benéficas das áreas verdes urbanas | 16 |
| Figura 2 – Mapa das Áreas verdes Urbanas de Londrina | 17 |
| Figura 3 – Trilhas de acesso ao Bosque tomadas pelas fezes dos pombos | 19 |
| Figura 4 – Esquema de contágio da infecção criptocócica..... | 25 |
| Figura 5 – Vista superior do Bosque Marechal Candido Rondon e da Praça Marechal Floriano Peixoto..... | 27 |
| Figura 6 – Organograma das etapas do projeto..... | 28 |
| Figura 7 – Pesagem e hidratação do meio de cultura para preparo..... | 29 |
| Figura 8 – Disposição dos pontos de coleta no Bosque Marechal Candido Rondon e na Praça Marechal Floriano Peixoto | 31 |
| Figura 9 – Visualização dos pontos de coleta de fungos no Bosque Marechal Candido Rondon..... | 32 |
| Figura 10 – Visualização dos pontos de coleta de fungos na Praça Marechal Floriano Peixoto | 33 |
| Figura 11 – Incubação das amostras na estufa bacteriológica..... | 34 |
| Figura 12 – Aspecto macroscópico das colônias do gênero <i>Cryptococcus</i> | 35 |
| Figura 13 – Identificação das colônias com características do gênero <i>Cryptococcus</i> | 36 |
| Figura 14 – Identificação das colônias com características leveduriforme diversas | 37 |
| Figura 15 – Técnica de esgotamento..... | 38 |
| Figura 16 – Preparação das lâminas de isoladas de levedura com tinta Nanquim..... | 39 |
| Figura 17 – Gráficos por campanha da concentração média de UFC por metro cúbico de cada coleta. | 44 |
| Figura 18 – Gráficos de temperatura referente aos meses de março, agosto e setembro de 2020 com as indicações das datas das campanhas. | 46 |
| Figura 19 – Gráficos de porcentagem das UFC quantificadas por aspecto leveduriforme e filamentosa. | 48 |
| Figura 20 – Colônias selecionadas e resultados dos isolamentos provenientes das amostras das segunda e terceira campanha..... | 50 |
| Figura 21 – Visualização ao microscópio com aumento de 1000x das células que apresentaram as características do gênero <i>Cryptococcus</i> proveniente das amostras isoladas. | 51 |
| Figura 22 – Visualização ao microscópio com aumento de 1000x de células que não apresentaram as características do gênero <i>Cryptococcus</i> proveniente das amostras isoladas. | 52 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1- Concentração de UFC por metro cúbico de ar amostrado de cada ponto de amostragem nas três campanhas de coleta de dados. | 43 |
| Tabela 2 - Relação dos atributos das amostras isoladas observadas no microscópio e classificação para o gênero <i>Cryptococcus</i> | 52 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APP – Áreas de Preservação Permanente
CETESB – Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental
CMTU – Companhia Municipal de Trânsito e Urbanização
CONAMA – Conselho Nacional de Meio Ambiente
DP – Desvio Padrão
DSC – Dextrose Sabouraud com Cloranfenicol
FUNASA – Fundação Nacional de Saúde
GXM – Glucuronoxilomanana
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IPPUL – Instituto de Pesquisa Planejamento Urbano de Londrina
MMA – Ministério do Meio Ambiente
OMS – Organização Mundial da Saúde
SEMA – Secretaria Municipal do Ambiente
SIMEPAR – Sistema Meteorológico do Paraná
SINVSA – Subsistema Nacional de Vigilância em Saúde Ambiental
SVS – Secretaria de Vigilância em Saúde
UFC – Unidades Formadoras de Colônias
UFC.m⁻³ – Unidades Formadoras de Colônias por metro cúbico

Sumário

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 1. | INTRODUÇÃO..... | 12 |
| 2. | OBJETIVOS | 14 |
| 2.1 | OBJETIVO GERAL | 14 |
| 2.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 14 |
| 3. | REFERENCIAL TEÓRICO | 15 |
| 3.1 | ÁREAS VERDES URBANAS | 15 |
| 3.1.1 | Áreas verdes em Londrina | 16 |
| 3.2 | SAÚDE AMBIENTAL | 20 |
| 3.2.1 | Fatores de Riscos Biológicos | 21 |
| 3.2.2 | Pombos Urbanos - Reservatórios Epidemiológicos | 22 |
| 4. | MATERIAIS E MÉTODOS | 26 |
| 4.1 | CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO..... | 26 |
| 4.2 | ETAPAS DO PROJETO..... | 27 |
| 4.2.1 | Materiais e Preparos Iniciais | 29 |
| 4.3 | COLETA DE DADOS | 30 |
| 4.4 | INCUBAÇÃO E ARMAZENAMENTO | 34 |
| 4.5 | QUANTIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO | 35 |
| 4.6 | ISOLAMENTO | 37 |
| 4.7 | CONFIRMAÇÃO | 38 |
| 5. | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 40 |
| 5.1 | ASPECTOS GERAIS DA AMOSTRAGEM..... | 40 |
| 5.2 | ASPECTOS QUANTIFICATIVOS DA AMOSTRAGEM | 42 |
| 5.2.1 | Diferenciação das UFC filamentosas e leveduriforme | 47 |
| 5.3 | ASPECTOS GERAIS DOS ISOLAMENTOS | 49 |
| 5.4 | CONFIRMAÇÃO MICROSCÓPIA | 51 |
| 6. | CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 53 |
| | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 54 |
| | APÊNDICE1 | 58 |
| | APÊNDICE 2 | 60 |
| | APÊNDICE 3 | 62 |

1. INTRODUÇÃO

Os atuais problemas relacionados ao meio ambiente são resultados do conjunto dos diversos impactos locais em diferentes setores, tanto na área urbana quanto na rural. A capacidade do ambiente de absorver e se recuperar do processo contínuo e acelerado de crescimento demográfico afeta a qualidade de vida das pessoas na mesma intensidade (HELENAS, 2014). Partindo desse pressuposto, as áreas verdes urbanas, um espaço urbano com predomínio de vegetação, tais como jardins, praças, canteiros centrais e parques se tornaram fundamentais para a configuração urbana que busque proporcionar mais qualidade de vida aos seus usuários.

Nos centros urbanos este refúgio para o meio natural pode ser encontrado nas áreas verdes urbanas. Na cidade de Londrina, essa característica natural é oferecida por praças e bosques, onde na região central situam-se principalmente o Bosque Municipal Marechal Cândido Rondon e a Praça Marechal Floriano Peixoto (FROZONI, 2012). Este ambiente já passou por diversas transformações ao longo do tempo, servido a população e a visitantes como ponto de turismo e lazer. Atualmente o local enfrenta graves problemas com a superpopulação de pombos, que tem causado transtornos pela sujeira e forte odor em função de suas fezes que, além disso, estão diretamente relacionados a diversas doenças epidemiológicas (SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFECTOLOGIA, 2018).

As enfermidades relacionadas aos pombos urbanos fazem com que essa ave seja pauta para a saúde ambiental, pois o caracteriza como reservatório que abriga diversos microrganismos patogênicos, sendo estes um fator de risco biológico para a saúde humana. Dentre esses microrganismos encontra-se um fungo causador da criptococose, doença que atinge os pulmões e se atingir o sistema nervoso central a doença se agrava, levando pacientes, principalmente os imunocomprometidos, a óbito (SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFECTOLOGIA, 2018).

A criptococose, na maioria das vezes, é causada pelas espécies patogênicas *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*. A falta de evidência de transmissão pessoa-pessoa reforça a teoria de que a infecção se adquire do meio ambiente por inalação (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010; SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFECTOLOGIA, 2018).

Entre 2008 e 2013 ocorreram três casos fatais de criptococose no município de Londrina sendo que o último levou a óbito um taxista com ponto nas proximidades do bosque (CALSAVARA, 2013). Na época já havia pesquisas correlacionando o fungo e o local, mas as medidas tomadas pela gestão pública não conseguiram solucionar a questão dos pombos que perdura até o presente momento.

Considerando que exista um potencial risco de contaminação daqueles que transitam nas proximidades do Bosque Marechal Candido Rondon e da Praça Marechal Floriano Peixoto, torna-se necessária uma nova investigação da presença do fungo *Cryptococcus ssp.* nessa região a fim de apoiar discussões e decisões públicas sobre o manejo e revitalização do Bosque Marechal Cândido Rondon com a perspectiva de que ele possa voltar a ser um ponto de turismo e lazer que proporcione saúde e bem-estar em vez de uma ameaça. Desta forma este trabalho identificou a presença de fungos do gênero *Cryptococcus* como potencial risco de contaminação biológica para população que transita no Bosque Marechal Cândido Rondon e na Praça Marechal Floriano Peixoto, região central da cidade de Londrina.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a presença de fungos do gênero *Cryptococcus* como potencial risco de contaminação biológica para população que transita no Bosque Marechal Cândido Rondon e na Praça Marechal Floriano Peixoto, região central da cidade de Londrina.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Coletar pela técnica da sedimentação espontânea, fungos suspensos no ar em oito pontos distintos nas áreas de estudo, sendo cinco pontos no Bosque e três na praça .
- Quantificar os fungos presentes nas áreas em estudo pela técnica da contagem padrão em placa.
- Comparar a densidade de fungos encontrada nos pontos de amostragem.
- Inferir a presença de fungos do gênero *Cryptococcus* nas áreas em estudo.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

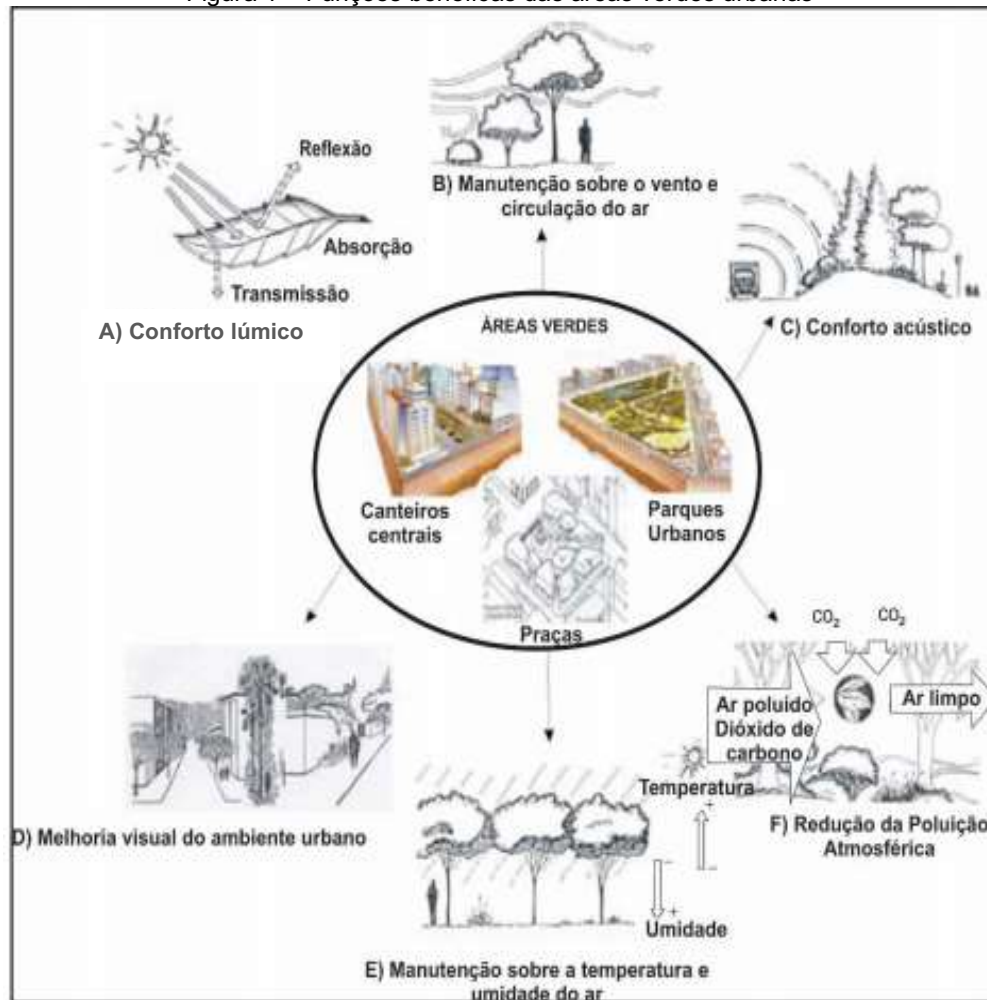
3.1 ÁREAS VERDES URBANAS

A cobertura vegetal arbórea, arbustiva ou rasteira, podendo ser tanto nativa quanto introduzida presente no meio urbano, é classificada como área verde urbana e contribui de modo significativo para a qualidade de vida e o equilíbrio ambiental nas cidades. Essas áreas verdes podem se apresentar de diversos formatos tais como Áreas de Preservação Permanente - APP; áreas públicas; jardins institucionais; terrenos públicos não edificadas; canteiros centrais; praças, parques, florestas e Unidades de Conservação (UC) Urbanas (BRASIL, 2019b).

O Art. 8º, § 1º, da Resolução CONAMA Nº 369/2006, define área verde de domínio público como "o espaço de domínio público que desempenhe função ecológica, paisagística e recreativa, propiciando a melhoria da qualidade estética, funcional e ambiental da cidade, sendo dotado de vegetação e espaços livres de impermeabilização" (BRASIL, 2019b).

Segundo Helenas (2014), os papéis desempenhados no meio urbano pelos espaços livres e áreas verdes podem ser agrupadas em três conjuntos: os visuais ou paisagísticos, os recreativos (sociais) e os ambientais, de forma que estas funções atuem interligadamente, podendo também serem consideradas um indicador de qualidade ambiental. Dentro dos papéis ambientais das áreas verdes urbanas é possível destacar seis principais, apresentados na Figura 1.

Figura 1 – Funções benéficas das áreas verdes urbanas



Fonte: Adaptado de HELENAS (2014)

3.1.1 Áreas verdes em Londrina

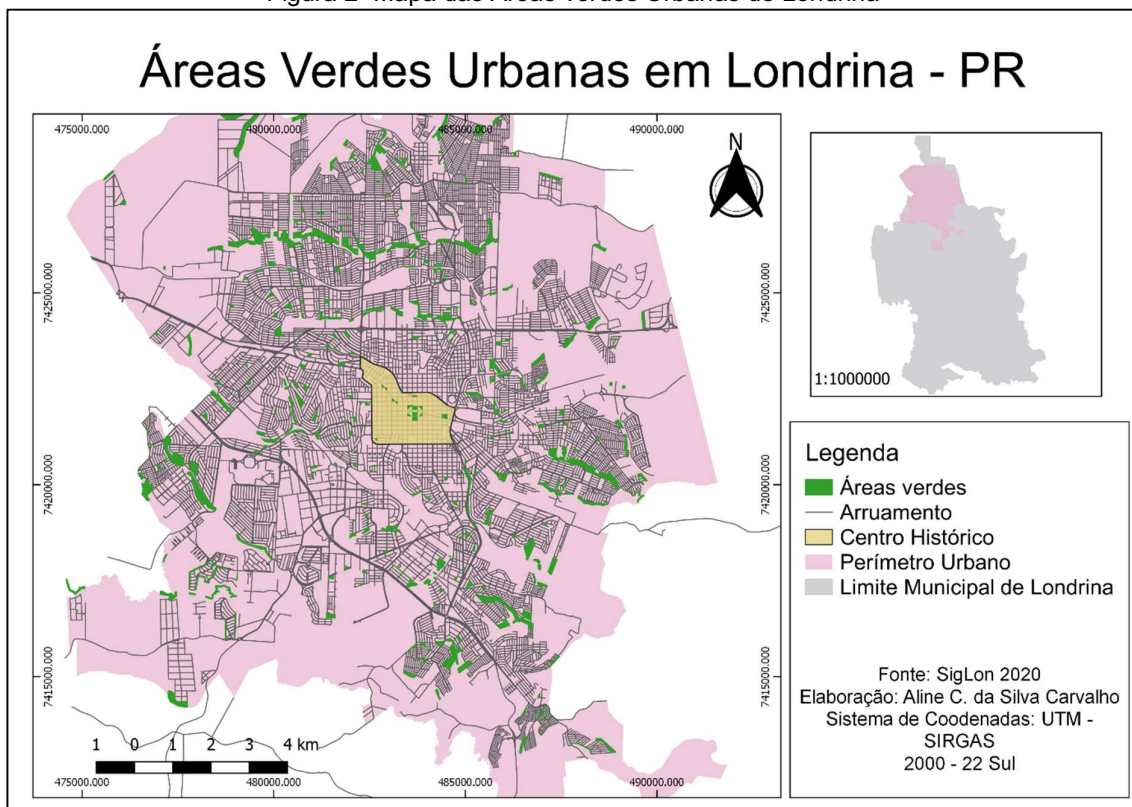
Londrina é considerada uma das maiores cidades do sul do país, sendo ainda uma cidade de rápido crescimento, que conseqüentemente acarretou diversos problemas de cunho ambiental. O desenvolvimento urbano provocou a retirada da vegetação natural e trouxe para o meio uma condição artificial, que ocasiona alterações no clima local, sendo elas na intensidade de radiação solar, temperatura, umidade relativa do ar, precipitação e circulação do ar (PANASOLO; PETERS; NUNES, 2016; HELENAS, 2014).

Em Londrina, a função de garantir melhoria na qualidade de vida da população bem como o planejamento urbano, é de responsabilidade dos órgãos públicos, sendo eles a Secretaria Municipal do Ambiente – SEMA, a Companhia Municipal De Trânsito e Urbanização - CMTU e o Instituto de Pesquisa

Planejamento Urbano de Londrina – IPPUL, que devem propor e executar programas de fiscalização, acompanhamento e manutenção dessas áreas, prevenindo que as mesmas não se transformem em locais degradados e mal frequentados (PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE LONDRINA, 2010; CALSAVARA, 2013; HELENAS, 2014).

A grande maioria dos espaços verdes na cidade proporciona interação entre os munícipes e o meio ambiente, sendo os mais comuns os canteiros viários, praças, unidades de conservação, parques de bairro, jardins de representação e fundos de vale (Figura 2). Para atender aos usuários de forma correta, é necessário o mínimo de estrutura, com elementos antrópicos e naturais, tais como bancos, áreas sem pavimentação, árvores, vegetação de porte diferenciado etc. (PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE LONDRINA, 2010; HELENAS, 2014).

Figura 2- Mapa das Áreas verdes Urbanas de Londrina



Fonte: Própria Autoria (2020)

O clima local de Londrina é caracterizado por verões quentes com regime pluviométrico bem distribuído em todo o ano. A estação quente permanece por 6,1 meses, com temperatura máxima média diária acima de 28°C. O dia mais quente do

ano tem temperatura máxima média de 30°C e a mínima média de 21°C (WEATHERSPARK, 2017).

Logo, os espaços verdes urbanos são de grande importância para controle e amenização de temperaturas encontradas nas ilhas de calor entre a superfície rural circunvizinha e a área urbana (PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE LONDRINA, 2012; HELENAS, 2014).

O bosque municipal é um dos principais espaços de área verde da cidade e se encontra na região central ao lado da Catedral Metropolitana de Londrina. Este denominado Bosque Marechal Candido Rondon, desde sua incorporação como patrimônio municipal, foi cenário de inúmeras situações e acontecimentos marcantes, muitas vezes polêmicos. Segundo Frozoni (2012), sua criação veio como uma “resposta higienista” ao meio urbano, caótico e repleto de construções. Na década de 1950, em meio à emergente modernidade urbana, foi dado ao Bosque o caráter de refúgio, buscando proporcionar à cidade um ar mais saudável, permitindo que todos os cidadãos pudessem desfrutar desse ambiente. Foram então realizadas reformas no local que proporcionaram o lazer, interação com animais, brinquedos para as crianças e quadra de esportes, destinado à população (FROZONI, 2012).

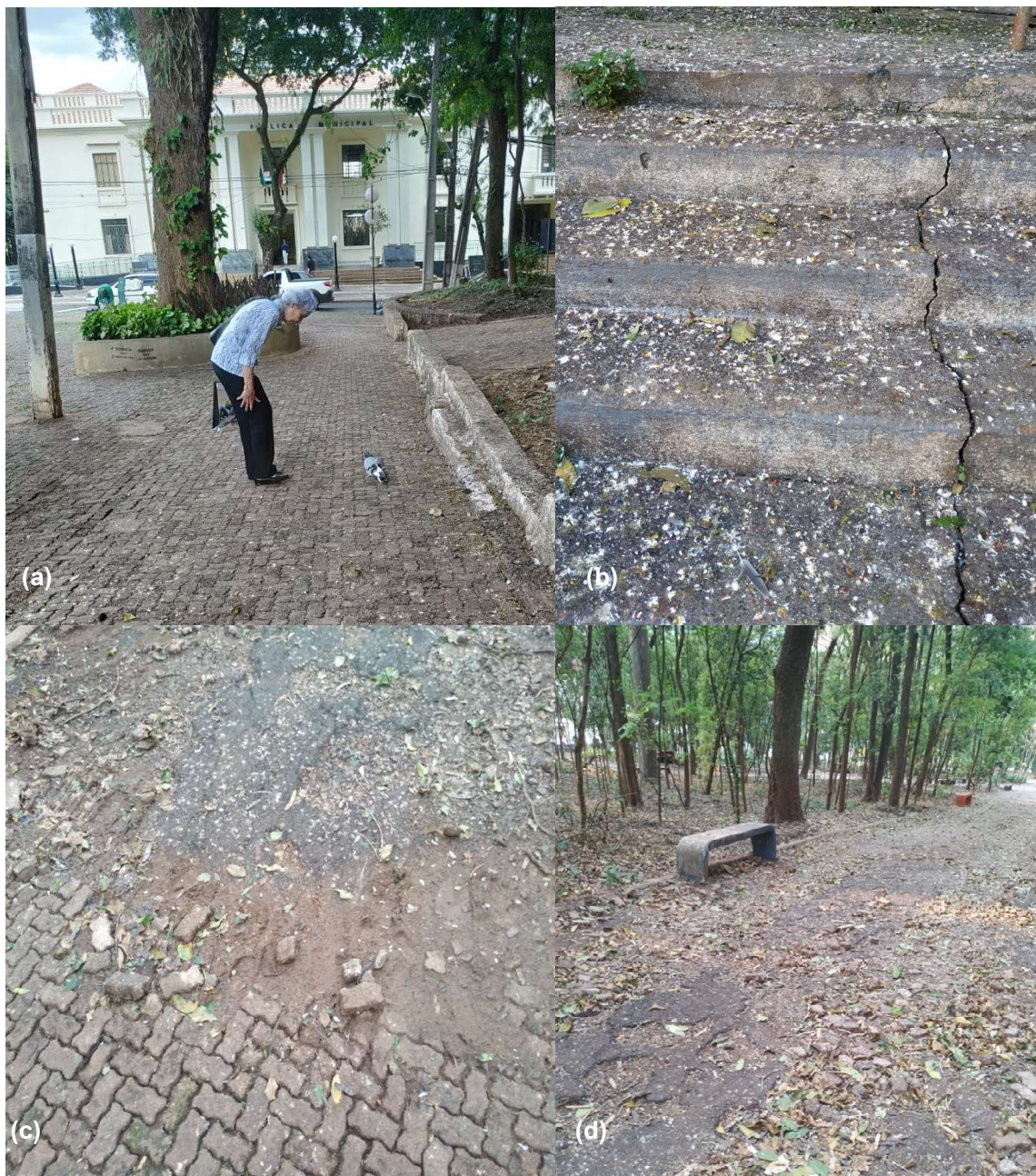
No outro lado da Catedral, se encontra a Praça Marechal Floriano Peixoto, também conhecida como Praça da Matriz ou Praça da Bandeira. Esta, inaugurada em 7 de setembro de 1934, foi revitalizada no ano de 2000 e é atualmente destinada a circulação, encontros e protestos sociais. A praça possui vegetação mais esparsa e uma maior área impermeabilizada própria para a movimentação urbana. Sendo praticamente uma extensão do Calçadão com fluxo diário de pessoas relativamente alto (IBGE, 2020).

Do ponto de vista natural, o Bosque oferece uma cobertura vegetal robusta e densa, algo que não se encontra na Praça Matriz. No entanto, há um problema maior que impede o uso das dependências do Bosque, a super população de pombos urbanos que elegeram o lugar como seu local de refúgio (FROZONI, 2012).

A presença das aves compromete o ar da região pelas fezes, como pode ser observado na Figura 3, sendo essas portadoras de microrganismos patogênicos. Esses animais acabaram tornando-se foco de discussão na cidade: alguns acreditam que os pombos não fazem mal a ninguém e devem continuar vivos (Figura 3a); outros já são a favor de seu extermínio, como os que dependem do bosque para o seu sustento, como proprietários de restaurantes, taxistas e

funcionários da empresa Zona Azul do entorno. Entretanto, a população de pombos é muito grande e a limpeza diária do local não soluciona permanentemente o problema (FROZONI, 2012).

Figura 3 – Trilhas de acesso ao Bosque tomadas pelas fezes dos pombos



Legenda: (a) Interação entre o pombo e uma senhora idosa na parte superior do bosque; (b) escadaria central do bosque repleta de dejetos de pombos; (c) Lodo formado pelas fezes acumulado nas falhas do calçamento das trilhas; (d) Trilha central que liga a catedral ao centro do bosque coberta por folhas e lodo das fezes;

Fonte: Própria Autoria (2020)

No ano de 2019, o IPPUL realizou uma pesquisa online para saber a opinião da população sobre o projeto que foi elaborado pelo órgão de revitalização do Bosque Marechal Rondon. A pesquisa, que ocorreu entre os dias 27 junho a 7 de julho de 2019, foi respondida por mais de 2 mil pessoas. Posteriormente, foi realizada uma reunião pública promovida pela prefeitura que apresentou os dados da pesquisa, detalhou o projeto do bosque e deu voz a comunidade (PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE LONDRINA, 2019).

Dentre as melhorias solicitadas pela população, a principal se refere à iluminação interna (85%) e segurança (6%); seguida por limpeza e manutenção (78,9%), incluindo formas para solucionar o problema do mau cheiro causado pelos pombos; poda da vegetação e visibilidade (60,6%); acessibilidade, rampas, piso tátil e calçadas em boas condições (60%) (PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE LONDRINA, 2019).

A maior parte dos participantes da pesquisa (54%) destacou pontos positivos do bosque, entre eles: cartão postal, coração de Londrina, patrimônio, infância, história, lazer, recreação. Entre os destaques negativos estiveram: odor forte, mal cuidado e abandono (PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE LONDRINA, 2019).

A atual proposta de projeto de revitalização visa resgatar a origem histórica do bosque que era uma área de praça destinada a lazer e recreação, e não uma área de preservação permanente. Sabe-se que sua história é permeada por momentos de uso intenso e outros de quase abandono, do que se depreendem sérios conflitos em sua constituição. Contudo, o lugar é um símbolo local que tem direito de ser novamente estruturado (PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE LONDRINA, 2019).

3.2 SAÚDE AMBIENTAL

As diversas concepções de ambiente se desenvolveram a partir da relação existente entre ele e a saúde. No Brasil, as demandas elencadas pela sociedade e o avanço científico conferem ao meio uma preocupação para a saúde pública (AUGUSTO, 2003; BRASIL, 2002). Dessa forma, o processo saúde-doença é mais bem compreendido quando o movimento de promoção da saúde se aproxima do contexto ambiental. Essa intersectorialidade é capaz de garantir melhores condições

socioambientais condicionando assim o desenvolvimento e a aplicação de políticas públicas (KORB; CLARO, 2010).

De acordo com Silva (2012), os fatores ambientais decorrentes da inadequação do saneamento básico, poluição atmosférica, exposição a substâncias químicas e físicas, desastres naturais, fatores biológicos como vetores, hospedeiros e reservatórios, representam segundo a Organização Mundial da Saúde – OMS, 30% dos danos à saúde humana pelo mundo.

Parte essencial da saúde ambiental é a ação vigilante que consiste na Vigilância em Saúde Ambiental, sendo esta definida pela Fundação Nacional de Saúde - FUNASA, como:

[...] um conjunto de ações que proporciona o conhecimento e a detecção de qualquer mudança nos fatores determinantes e condicionantes do meio ambiente que interferem na saúde humana, com a finalidade de identificar as medidas de prevenção e controle dos fatores de risco ambientais relacionados às doenças ou outros agravos à saúde (BRASIL, 2002).

A Instrução Normativa nº 01 da Secretaria de Vigilância em Saúde - SVS, de 7 de março de 2005 definiu às competências na área de vigilância em saúde ambiental nas esferas nacional, estadual e municipal e instituiu o Subsistema Nacional de Vigilância em Saúde Ambiental – SINVSA com a finalidade de preconizar e programar medidas visando a promoção da saúde ambiental, bem como o controle e prevenção dos fatores de riscos relacionados às doenças e outros agravos à saúde que podem ser advindos da água para consumo humano, ar, solo, substâncias químicas e contaminantes ambientais, entre outros (BRASIL, 2005).

Logo, compete à vigilância em saúde ambiental o monitoramento de vetores, alimentos e água para consumo humano, bem como o acompanhamento de ocorrências das doenças e suas suspeitas, a fim de articular os índices epidemiológicos (BRASIL, 2002).

3.2.1 Fatores de Riscos Biológicos

Os riscos biológicos relacionados aos hospedeiros e reservatórios tais como os caramujos, cães, gatos, morcegos, roedores, saguis, raposas, suínos, bovinos e aves, transmissores de doenças como raiva, leishmanioses, equinococose,

leptospirose, sarna, toxoplasmoses e criptococose são monitorados e mapeados pela vigilância de fatores de riscos biológicos (BRASIL, 2002).

Assim, as áreas consideradas de risco em determinados lugares podem por meio da vigilância ambiental e da vigilância epidemiológica impulsionar tanto a saúde pública quanto a área de saneamento para que ações de controle reduzam a incidência e prevalência dessas doenças (BRASIL, 2002).

Segundo Silva (2012) estima-se que 60% dos patógenos humanos são zoonóticos e que 75% das enfermidades humanas emergentes são de origem animal. Portanto, para fiscalizar o cumprimento de normas e padrões de interesse sanitário, são promovidas inspeções zoonosanitárias que também funcionam como orientação para controle, manejo e eliminação de animais vetores, hospedeiros e reservatórios para que problemas decorrentes da presença de animais de interesse em saúde pública sejam minimizados evitando que a convivência homem-animal gere riscos à saúde humana.

3.2.2 Pombos Urbanos - Reservatórios Epidemiológicos

Os pombos são aves oportunistas e onívoras, adaptadas às cidades pertencentes à ordem columbiformes e a família Columbidae, sendo sua espécie mais comum em regiões urbanas a *Columba livia*. Seu habitat original é mediterrâneo, trazidos ao Brasil no século XVI (NORONHA, 2013).

Como são capazes de viver com facilidade nas cidades, os pombos costumam se alojar em edificações onde fazem seus ninhos em telhados, forros, caixas de ar-condicionado, igrejas, parques e bosques urbanos. Causam prejuízos por danificar as estruturas dos prédios, bem como pela imundice em áreas públicas e privadas. Estima-se que um único pombo excrete 2,5 kg por ano (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011; NORONHA, 2013).

Segundo o último levantamento realizado em 2016 pela SEMA, estimava-se que população de pombos no município de Londrina ultrapasse ao todo 400 mil aves na zona urbana e rural (AVANSINI, 2018). Outro estudo anterior apontava uma estimativa de 170 mil aves somente na região central (NAVARRO, 2006).

Estima-se que nas fezes de pombos possa haver 107 fungos/grama, pelo fato de tais fezes serem ricas em bases nitrogenadas oferecendo um meio favorável para o crescimento desses organismos (REIS, 2015). Solos contaminados com excretas

de pombos e outras aves são geralmente colonizados por agentes patogênicos (bactérias e fungos) e os propágulos são eventualmente aerossolizados e eliminadas para o meio ambiente (ARAÚJO JÚNIOR, 2015).

Estas aves muitas vezes são alimentadas de forma inadequada com restos de comida, pães ou pipoca, por pessoas que os consideram simpáticos e até mesmo simbólicos e inconscientemente acabam viciando essas aves (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011; NORONHA, 2013). Como a predação dos pombos por outros animais dificilmente ocorre, sua população costuma crescer rapidamente e este desequilíbrio populacional tornou-se um grave problema para a saúde pública, tendo em vista que são intermediários de parasitas que são nocivos à saúde humana, proporcionando a ocorrência de doenças graves, que podem levar à morte ou deixar sequelas severas. Dentre as doenças relacionadas aos pombos urbanos, bem como seus agentes patogênicos destacam-se os presentes no Quadro 1.

Quadro 1 – Principais doenças relacionadas aos pombos urbanos

| Doenças | Características |
|--------------------|--|
| Salmonelose | Doença infecciosa provocada por bactérias do gênero <i>Salmonella</i> . A contaminação ao homem ocorre pela ingestão de alimentos contaminados com fezes animais. |
| Criptococose | Doença provocada por fungos do gênero <i>Cryptococcus</i> , encontrados nos excrementos de aves, principalmente pombos, que também sobrevive no solo, em frutas secas e cereais e nas árvores. A contaminação ao homem ocorre pela inalação dos esporos (células reprodutoras do fungo). |
| Histoplasmose | Doença provocada por fungos do gênero <i>Histoplasma</i> que se proliferam nas fezes de aves e morcegos. A contaminação ao homem ocorre pela inalação dos esporos. |
| Ornitose/Psitacose | Doença infecciosa provocada por bactérias do gênero <i>Chlamydia</i> . A contaminação ao homem ocorre pelo contato com aves portadoras da bactéria ou com seus dejetos. |

Fonte: Adaptado de BRASIL (2004) e MINISTÉRIO DA SAÚDE (2011).

O papel dos pombos como portadores de fungos patogênicos foi estabelecido por Emmos em 1955, quando se isolou *C. neoformans* de excreções das pombas urbanas (*Columba livia*), sendo o primeiro a estabelecer a relação existente e atualmente consolidada entre o fungo e as fezes dessas aves (SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFECTOLOGIA, 2018).

A criptococose é uma infecção que atinge primeiramente os pulmões, e se agrava pelo sistema nervoso central causando meningites, podendo atingir pele e outros tecidos. Do ponto de vista clínico e epidemiológico esta doença abrange duas formas distintas de desenvolvimento, dispostas no Quadro 2.

Quadro 2 – Formas da criptococose do ponto de vista clínico e epidemiológico

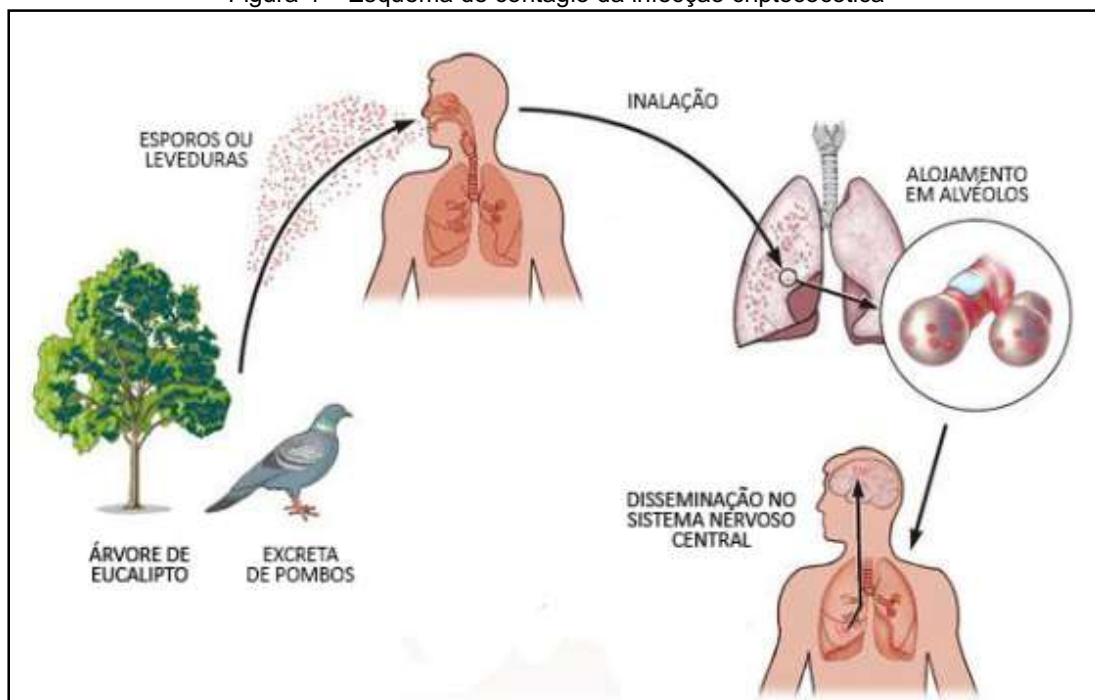
| | |
|--------------------------|---|
| Criptococose oportunista | Relacionada às condições de imunodepressão celular do indivíduo infectado, causada predominantemente pela espécie <i>C. neoformans</i> . |
| Criptococose primária | Ocorrência em hospedeiro com sistema imunológico funcional, endêmica em áreas tropicais e subtropicais, geralmente ocasionada por <i>C. gatti</i> . |

Fonte: Baseado em BARBOZA (2011)

Essa infecção é adquirida a partir de uma fonte ambiental pela inalação de propágulos infecciosos (Figura 4). Aos imunocomprometidos, a criptococose independente da espécie infecciosa que se entra em contato, na maioria dos casos tem conduzido ao óbito. A mortalidade por criptococose é estimada em 10% em países desenvolvidos, e chega a 43% nos países em desenvolvimento (BARBOZA, 2011). No Brasil, estas porcentagens variam entre 40 a 66% (REIS, 2015).

O gênero *Cryptococcus*, abrange cerca de 39 espécies pertencentes ao Reino Fungi; Filo Eumycota; Classe Blastomycetes; Família Cryptococcaceae (BARBOZA, 2011). Apresenta células com forma globosa ou ovalada com diâmetro que varia de 3 a 10µm que exibem brotamentos únicos ou múltiplos. As espécies desse gênero desenvolvem-se entre 36 a 72 horas e são caracterizadas como leveduras capsuladas que formam colônias de margem lisa e inteira, cor branca a creme, brilhante, de textura mucóide, sendo o grau de mucosidade da colônia dependente da formação da cápsula mucopolissacarídeocujo principal componente é a glucuronoxilomanana – GXM (BARBOZA, 2011; NASSER; FILHO; VIEIRA, 2011;MORAES; RODRIGUES; MORAES, 2018).

Figura 4 – Esquema de contágio da infecção criptocócica



Fonte: Adaptado de BRASIL (2019)

Todas as espécies de *Cryptococcus* são capazes de hidrolisar amido, assimilar inositol, produzir urease e não realizam fermentação. A metaloenzima presente nesse gênero, hidrolisa uréia em amônia e carbamato, o que pode elevar o pH do meio (MORAES; RODRIGUES; MORAES, 2018; BARBOZA, 2011; ARAÚJO JÚNIOR et al., 2015).

Na natureza, a espécie *C. neoformans* é normalmente encontrada nas fezes de pombos, outras aves e em árvores, podendo viver sem provocar maiores danos no organismo de humanos e dos animais domésticos e silvestres imunologicamente competentes. Já a espécie *C. gatti* costuma estar presente na matéria orgânica vegetal de árvores pertencentes às espécies australianas *Eucalyptus camaldulensis* e *Eucalyptus tereticornis*, bem como de árvores nativas de espécies presentes em regiões de clima tropical e subtropical (MORAES; RODRIGUES; MORAES, 2018; BARBOZA, 2011; ARAÚJO JÚNIOR et al., 2015).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

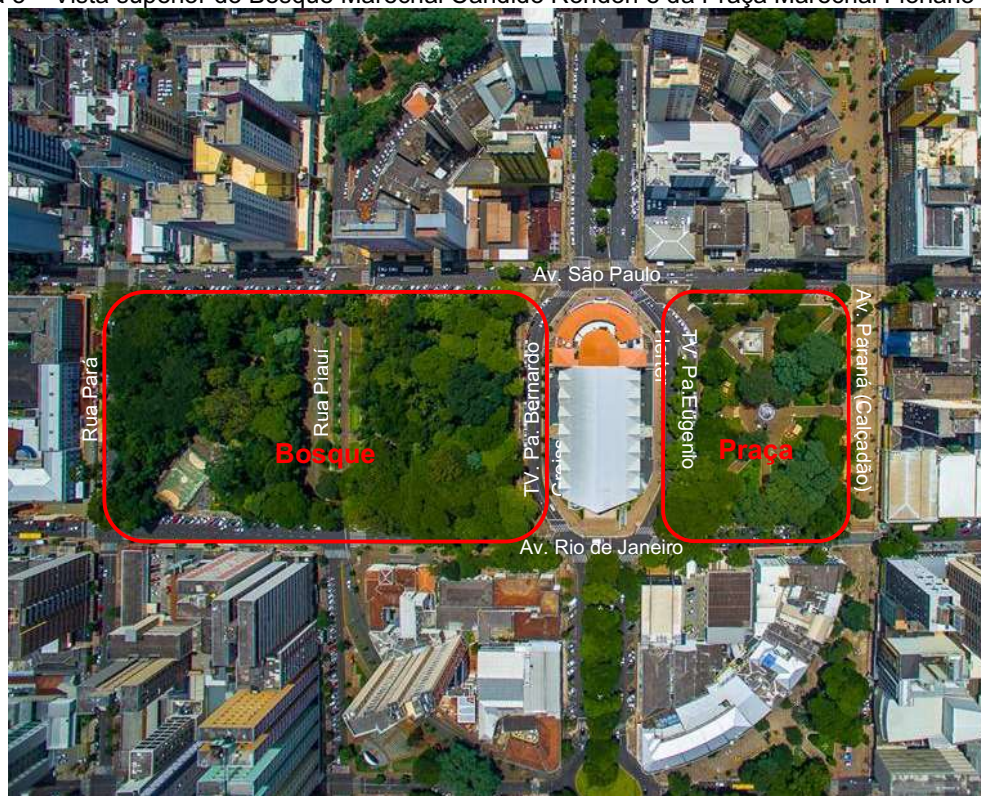
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO

O Bosque Marechal Candido Rondon está localizado na latitude 23°18'45"S e longitude 51°9'36"L, município de Londrina, norte do Paraná. Possui uma área de 20.000 m² que compreende duas partes separadas por um trecho fechado da Rua Piauí e limitado pela Travessa Padre Bernardo Greiss (norte), Rua Pará (sul), Avenida Rio de Janeiro (leste) e Avenida São Paulo (oeste). O terreno foi doado pela Companhia De Terras Melhoramentos Norte do Paraná em 1930, com alguns indivíduos arbóreos remanescentes da cobertura original e no decorrer dos anos tiveram a introdução de diversas espécies arbóreas que constituem majoritariamente a atual configuração da vegetação arbórea do local. O espaço possui também um parquinho infantil, mini-pista para *cooper*, aparelhos para exercícios físicos, banheiros e bancos para descanso (FROZONI, 2012; PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE LONDRINA, 2010).

A fim de realizar uma comparação de uma área verde com baixa densidade vegetativa onde a população costuma circular diariamente, com o Bosque, definiu-se como área de estudo secundária a Praça Marechal Floriano Peixoto, com uma área de aproximadamente 10.000 m² onde também se situa parte do calçadão na Avenida Paraná, sendo limitada também pela Travessa Padre Eugenio Herter (sul), Avenida Rio de Janeiro (leste) e Avenida São Paulo (oeste).

Pela Figura 5 é possível observar como estas áreas são adjacentes, mas estruturalmente e vegetativamente distintas. À esquerda o Bosque apresenta dossel fechado em sua maior parte, enquanto à direita na Praça é possível observar inclusive o desenho traçado pelo calçamento, que imita o formato da bandeira da Grã-Bretanha.

Figura 5 – Vista superior do Bosque Marechal Candido Rondon e da Praça Marechal Floriano Peixoto



Fonte: Adaptado de VIEIRA (2016)

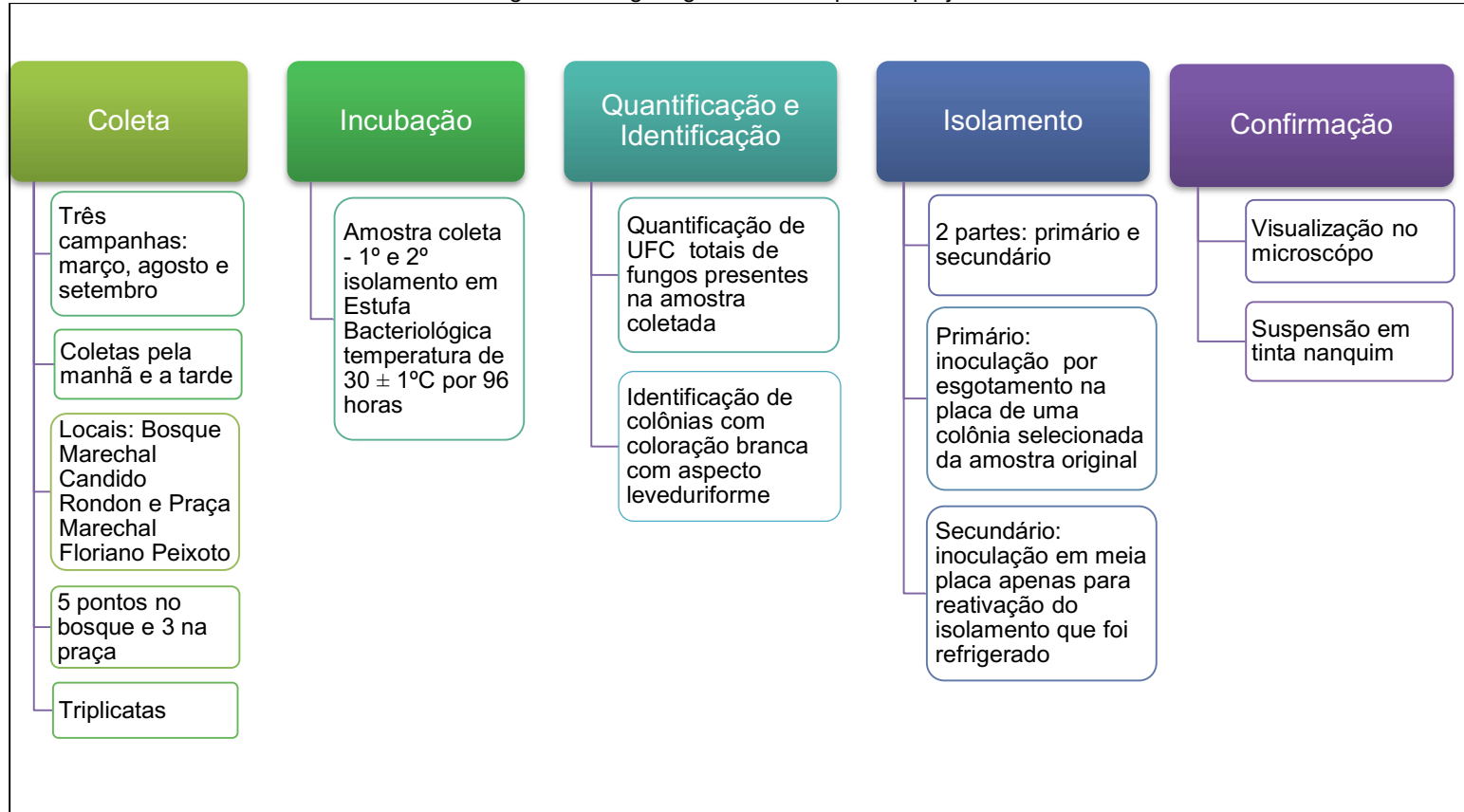
4.2 ETAPAS DO PROJETO

O projeto pode ser dividido em cinco etapas as quais estão organizadas no organograma a seguir (Figura 6).

Vale ser ressaltado que devido à pandemia da Covid-19, que levou a suspensão das atividades acadêmicas entre meados de março/2020 e agosto/2020, o cronograma prático deste projeto ficou igualmente suspenso, sendo retomado apenas com a autorização da instituição quando a segurança pudesse ser mantida. Outro fator importante que interferiu diretamente na execução deste projeto foi a alteração de residência e de rotina do discente por motivo de trabalho em outro município e estado.

Desta forma, a segunda e terceira campanha de coletas, bem como as etapas de análises em laboratório, tiveram que ser minuciosamente programadas em função da carga horária disponível acordada com superior direto do discente em seu local de trabalho.

Figura 6 – Organograma das etapas do projeto



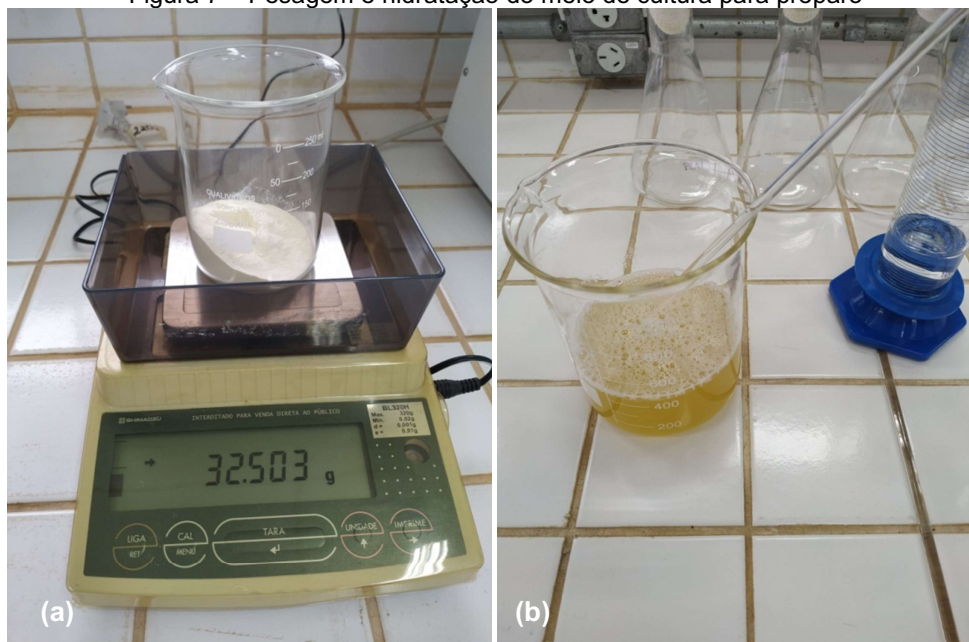
Fonte: Própria Autoria (2020).

4.2.1 Materiais e Preparos Iniciais

Para a coleta e isolamento do material microbiológico foi utilizado o meio Agar Dextrose Sabouraud com Cloranfenicol – Agar DSC da NEOGEN, por oferecer melhores condições para o crescimento de fungos e ainda inibir o crescimento de bactérias, facilitando a identificação de colônias de leveduras que são muito semelhantes às de bactérias quanto às características culturais.

As instruções de preparo para o meio Agar DSC consistiram na pesagem de 65 gramas de meio desidratado dividido entre dois béqueres pequenos na balança analítica e deposição de cada uma dessas medidas em dois béqueres de 1 litro cada. Hidratou-se em pequena quantidade de água destilada até que todo o meio ficasse úmido e só depois se adicionou o restante até que se completasse 500 mL de água destilada colocada em cada béquer (Figura 7).

Figura 7 – Pesagem e hidratação do meio de cultura para preparo



Legenda: (a) Pesagem do meio de cultura na balança analítica de acordo com as especificações do fabricante; (b) Hidratação do meio de cultura e solubilização do mesmo em água destilada;
Fonte: Própria Autoria (2020)

Aqueceu-se no micro-ondas parando a cada um minuto e meio para homogeneização e se permitindo a fervura para completa dissolução do meio, evitando a formação de bolhas e de espuma. Posteriormente, se dividiu cada béquer com o meio homogeneizado em outros dois erlenmeyers que foram fechados com

tampões de algodão para levar a autoclave, onde permaneceram a 121 °C por 15 minutos. Aguardou-se esfriar até 50 – 45 °C antes de dispor nas placas.

Os tampões foram retirados somente na zona estéril da câmara de fluxo laminar, onde em cada placa foi disposto cerca de 20mL (5 mm de altura) aguardou-se até que o meio se solidificasse completamente.

Depois de solidificado e atingida a temperatura ambiente, as placas foram unidas em três, embrulhadas em filme plástico PVC e em cada lote foi anotada a data de fabricação, bem como o código para amostragem. As placas foram armazenadas invertidas (com o meio voltado para baixo) em geladeira até o momento da utilização.

O código da amostragem foi elaborado de acordo com o Quadro 3 a seguir.

Quadro 3 – Composição do código de amostragem

| | |
|----------------------|---------------------------------------|
| Lugar de coleta | Bosque = B; Praça = P |
| Número do ponto | B1, B2, B3, B4, B5; P1, P2, P3 |
| Número da triplicata | B1T1, B1T2, B1T3, B2T1, B2T2, B2T3... |
| Turno da coleta | T= tarde; M= manhã |

Fonte: Própria Autoria (2020)

Para identificar os isolamentos as amostras tiveram seu código iniciados com os prefixos Is = isolamento + código da amostra original, tal como o exemplo seguinte: Is1B1T1M, Is2B1T1T... Is1P3T3M, Is2P3T3T

4.3 COLETA DE DADOS

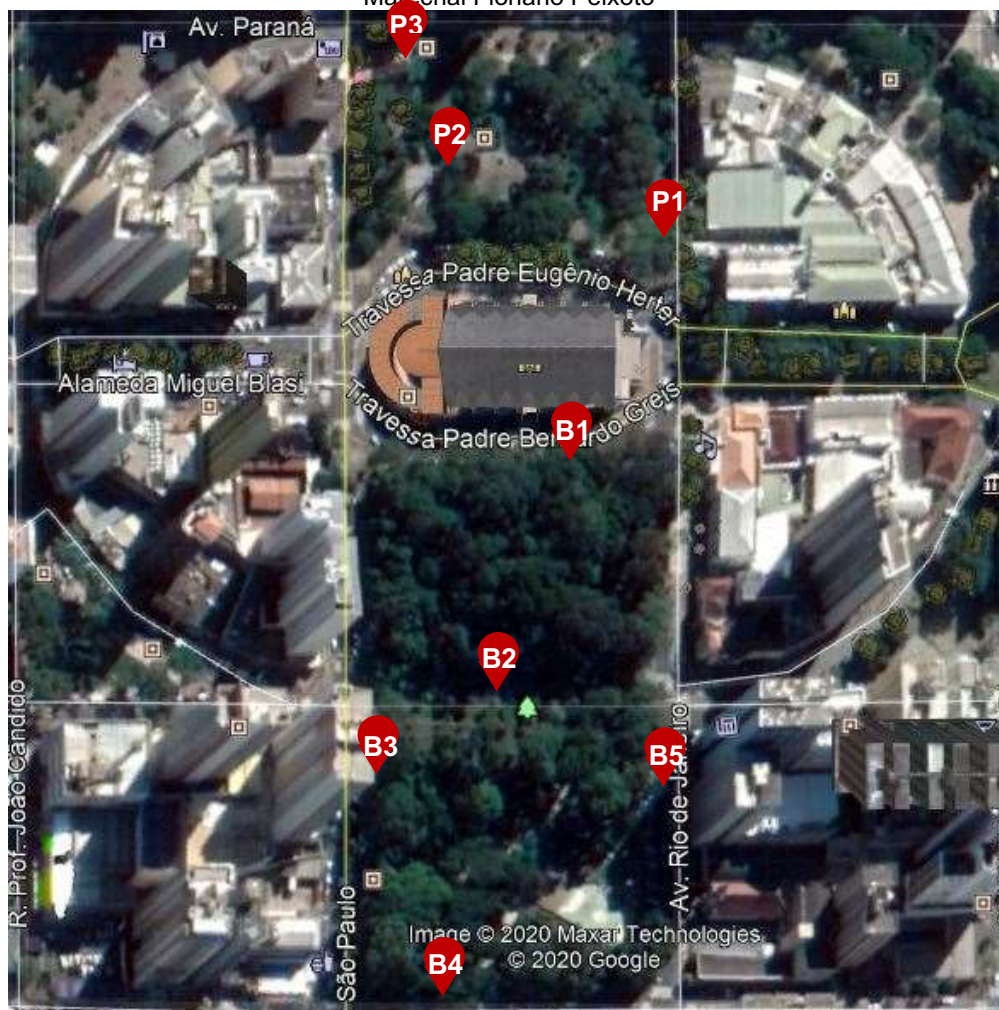
Foram realizadas três campanhas de amostragem com coletas no período da manhã e da tarde em oito pontos distribuídos, cinco no Bosque Marechal Candido Rondon e três na Praça Marechal Floriano Peixoto como mostrado na Figura 8. O critério adotado para escolha dos pontos de coleta foi a presença de pontos de ônibus e mototáxi, paquímetros, bancos ou arquibancadas de descanso, onde o fluxo pessoas é recorrente. As campanhas ocorreram conforme as datas e horários dispostos no Quadro 4.

Quadro 4 – Dias e horários da realização das coletas

| | Data | Coleta da manhã | Coleta da Tarde |
|--------------------|------------------------|-----------------|-----------------|
| 1ª Campanha | 16 de março de 2020 | 8:00 as 9:30 | 17:00 as 18:30 |
| 2ª Campanha | 22 de agosto de 2020 | 8:00 as 9:30 | 16:20 as 17:50 |
| 3ª Campanha | 18 de setembro de 2020 | 8:00 as 9:30 | 16:00 as 17:30 |

Fonte: Própria Autoria (2020)

Figura 8 – Disposição dos pontos de coleta no Bosque Marechal Candido Rondon e na Praça Marechal Floriano Peixoto



Legenda: P1, P2 e P3 – pontos 1, 2 e 3 de amostragem na praça; B1, B2, B3, B4 e B5 – pontos 1, 2, 3, 4 e 5 de amostragem no bosque.

Fonte: Modificado de Google Earth (2020)

Os cinco pontos do bosque, como mostrados na Figura 9, tiveram como suporte as muretas que delimitam o local, sendo o ponto B1 ao norte próximo ao ponto de ônibus da Tv. Padre Bernardo Greis, B2 em seu corredor interno onde há maior fluxo de pedestres e concentração de idosos nas mesas de lazer leste, B3 na Av. São Paulo próximo a um paquímetro, B4 na rua Pará próximo ao ponto de

ônibus em frente ao Colégio Mãe de Deus, e por fim B5 na Av. Rio de Janeiro próximo ao *playground* e academia pública.

Figura 9 - Visualização dos pontos de coleta de fungos no Bosque Marechal Candido Rondon



Legenda: B1, B2, B3, B4 e B5 – pontos 1, 2, 3, 4 e 5 de amostragem no bosque;
 Fonte: Própria Autoria (2020)

Os três pontos da praça mostrados na Figura 10, sendo: P1 sobre a mureta lateral a sudeste, próximo ao estacionamento de motos na Av. Rio de Janeiro; P2

sobre um banco, ao centro próximo aos banheiros públicos; e P3 a noroeste, nas arquibancadas que dão acesso ao calçadão.

Figura 10 – Visualização dos pontos de coleta de fungos na Praça Marechal Floriano Peixoto



Legenda: P1, P2 e P3 – pontos 1, 2 e 3 de amostragem na praça.
Fonte: Própria Autoria (2020)

Considerando que o processo de contaminação pelo *Cryptococcus ssp.* ocorre por inalação do ar contaminado optou-se por realizar as coletas pelo método de sedimentação espontânea, com o objetivo de que somente seja coletado os bioaerossóis que entram em contato direto com quem transita nesses espaços diariamente. Esta técnica, também conhecida como deposição gravitacional, consiste na utilização de placa de Petri com meio seletivo para o organismo de interesse, abertas no local da amostragem e expostas à sedimentação ou deposição espontânea do ar analisado.

Foram dispostas placas de Petri em triplicata contendo o meio Agar DSC que ficaram abertas por dez minutos de acordo com a Estratégia de Amostragem preconizada pela ANVISA (2000), na Resolução - RE n ° 176, de 24 de outubro de 2000, Seção VI, Norma Técnica 001. Posteriormente as placas foram transportadas

em recipiente fechado ao abrigo de luz. Foram levadas também três placas de controle ao local da coleta, mas permaneceram fechadas a fim de confirmar a não contaminação por externalidades no processo de amostragem e transporte.

4.4 INCUBAÇÃO E ARMAZENAMENTO

As placas com as amostras coletadas nas campanhas foram levadas imediatamente ao Laboratório A306 da Universidade Tecnológica Federal do Paraná para incubação na estufa bacteriológica à temperatura de 30 ± 1 °C.

Figura 11 – Incubação das amostras na estufa bacteriológica



Fonte: Própria Autoria (2020)

A duração do tempo de incubação variou de acordo com o crescimento e maturação desejado das amostras, a fim de tornar mais perceptíveis o aspecto típico de cada colônia. No entanto o período de incubação foi o mínimo de 72 horas e seu máximo não superou às 96 horas.

Ao se alcançar o crescimento ideal das colônias, as placas foram novamente armazenadas em sacos plásticos e mantidas na geladeira a 4°C a fim de prevenir o ressecamento e interromper seu desenvolvimento exponencial. Lá, permaneceram refrigeradas, sendo retiradas apenas para realização de registros fotográficos, quantificação, identificação e isolamento.

4.5 QUANTIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO

Após o período de incubação, foi realizada a quantificação das UFC totais utilizando o Contador de colônias, sendo convertidas a UFC por metro cúbico de ar através da Equação 1, elaborada por Omelyansky (1940) (HAYLLEYESUS; EJESO; DERSEH, 2015; WIKUATS, 2020).

$$N = 5a * 10^4(bt)^{-1} \quad (1)$$

Onde: N é a concentração de microrganismos em UFC.m⁻³; a é o número de colônias em cada placa de Petri; b é a área da placa de Petri em cm²; t é o tempo de exposição em minutos.

Sincronamente à contagem, como as características das colônias estavam visíveis a olho nu, foi realizada a identificação presuntiva do gênero *Cryptococcus* por meio da observação da morfologia macroscópica das colônias.

As placas foram analisadas individualmente em busca de colônias que apresentassem aspecto leveduriforme de cor branca a creme, brilhante, margem lisa e inteira como mostrado na Figura 12.

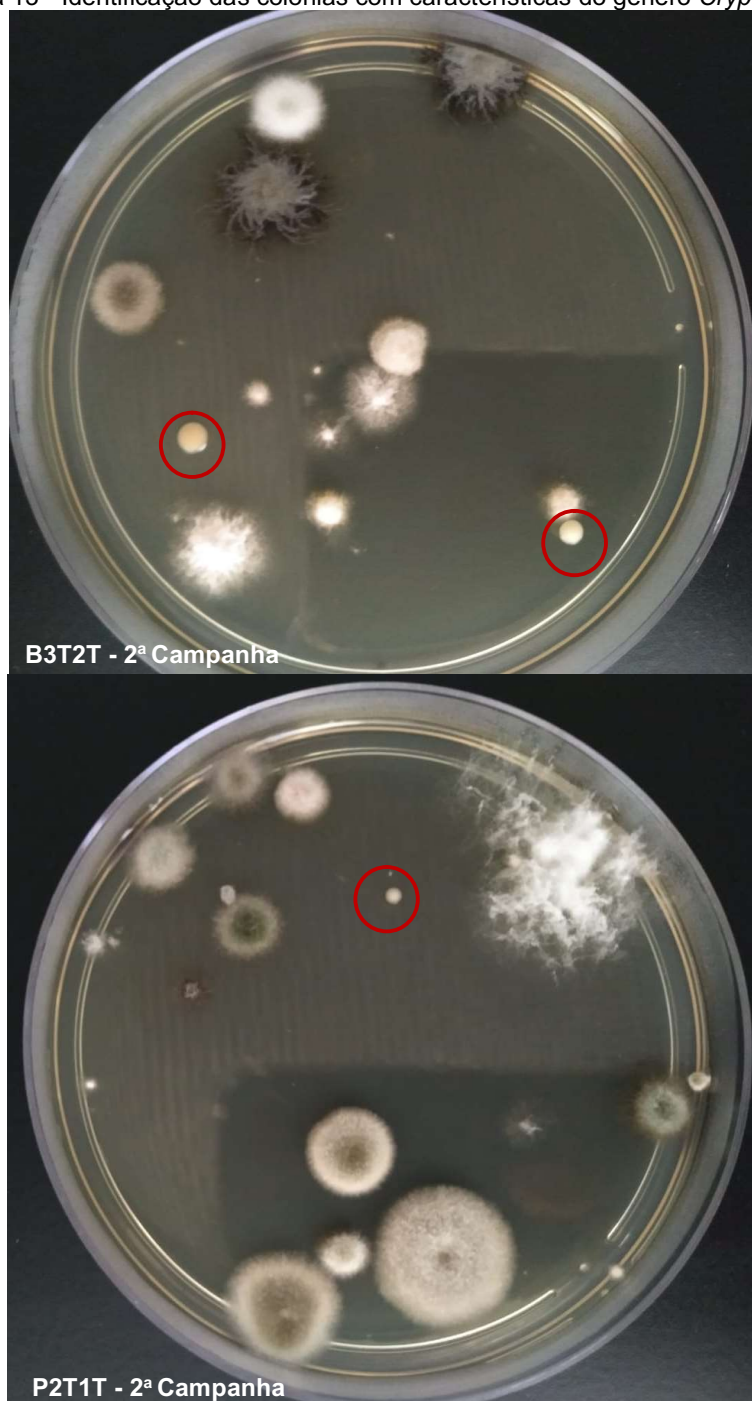
Figura 12 - Aspecto macroscópico das colônias do gênero *Cryptococcus*



Fonte: NASSER; FILHO; VIEIRA (2011)

Seguindo então essas características, a Figura 13 indica algumas colônias identificadas na amostra original circuladas em vermelho. Vale ressaltar que houve uma grande diversidade, principalmente de fungos filamentosos nas amostras coletadas em ambos os locais.

Figura 13 - Identificação das colônias com características do gênero *Cryptococcus*



Legenda: B3T2T – ponto 3 do bosque, triplicata 2, coleta da tarde; P2T1T – ponto 2 da praça, triplicata 1, coleta da tarde;
Fonte: Própria Autoria (2020)

Notou-se que havia também colônias leveduriformes de colorações distintas, que não se encaixavam nas características do gênero *Cryptococcus* tal como a destacada na Figura 14.

Figura 14 – Identificação das colônias com características leveduriforme diversas



Legenda: P1T1T – ponto 1 da praça, triplicata 1, coleta da tarde;
Fonte: Própria Autoria (2020)

4.6 ISOLAMENTO

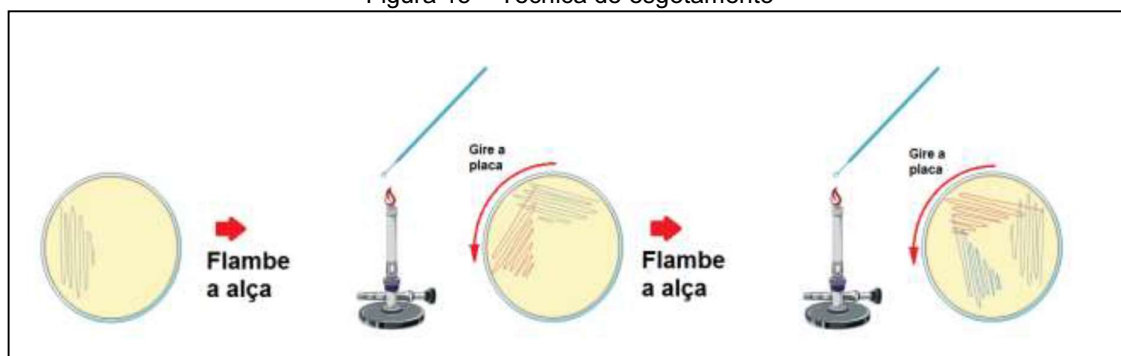
Devido à suspensão das atividades acadêmicas logo após a realização da primeira campanha, as amostras que ficaram armazenadas entre março e agosto na geladeira perderam sua viabilidade para realização do isolamento na retomada das atividades. Sendo assim desta etapa em diante as análises foram desenvolvidas apenas com as amostras da segunda e terceira campanha.

Dentre as placas em que se encontraram colônias que apresentaram a morfologia indicada anteriormente, apenas uma de cada placa da amostra original foi selecionada para realizar o isolamento. A escolha levou em conta a maior facilidade de alcance com a alça de inoculação e o menor risco de contaminação do inoculo por outros fungos filamentosos.

O isolamento primário foi feito pela técnica do esgotamento. Em zona estéril, com a placa dividida em três partes, foram feitas estrias utilizando a alça de inoculação previamente esterilizada pelo Bico de Bunsen. A alça foi passada sobre a

colônia selecionada da amostra original, e em seguida passada em placa estéril contendo o meio Agar DSC criando estrias na superfície. Esterilizando a alça, o processo é repetido mais duas vezes, mas a recarga de microrganismos na alça foi através das estrias já feitas na placa como mostra a Figura 15.

Figura 15 – Técnica de esgotamento



Fonte: PRATES (2019)

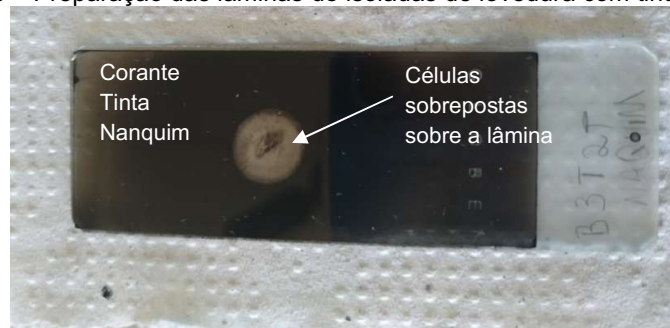
O isolamento secundário foi realizado apenas para reativação do isolamento anterior que necessitou ser refrigerado para armazenamento entre os períodos de análises. Foi então coletado material de uma colônia já isolada e inoculada por meio de estrias em meia placa.

4.7 CONFIRMAÇÃO

A confirmação ocorreu por meio de visualização microscópica da morfologia celular dos fungos com uso do corante Tinta da Nanquim RenyLab que permitiu destacar a cápsula deste fungo contra um fundo negro.

A preparação da lâmina foi feita na zona estéril criada pelo bico de Bunsen da seguinte forma: sobre uma lâmina limpa, colocou-se primeiro uma gota do corante Tinta da China; em seguida, com a alça de inoculação, emulsionou-se nesta gota uma pequena quantidade de células fúngicas coletadas de uma colônia proveniente do isolamento mais recente, colocou-se a lamínula sobre a gota do corante já inoculada, de forma que se obtivesse um filme bem delgado entre a lâmina e a lamínula como mostra a Figura 16, que foi levada para observação no microscópio (ANVISA, 2000).

Figura 16 – Preparação das lâminas de isoladas de levedura com tinta Nanquim



Fonte: Própria Autoria (2020)

Para melhor observar os atributos dos fungos na lâmina, o microscópio permaneceu com o diafragma quase totalmente fechado, assim como o condensador de luz. Nas amostras foram observadas o formato das células, a presença de brotamentos ou hifas e a presença ou não de cápsula, sendo feito para cada visualização o registro fotográfico.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ASPECTOS GERAIS DA AMOSTRAGEM

De modo geral, nas três campanhas de amostragem foi encontrada uma grande diversidade de fungos com colorações, texturas, tamanhos e formatos variados. Muitos chamaram atenção pela recorrência que apresentaram sendo encontrados em mais de um ponto ou coleta, outros por apresentar características peculiares como a liberação de pigmentação no meio de cultura.

No Quadro 4 encontram-se algumas colônias que se destacaram pelos fatores já citados, bem como uma breve descrição das suas características e a indicação de qual campanha, coleta e ponto foi encontrada.

Os Apêndices 1, 2 e 3 que se encontram ao final do trabalho mostram uma coleção fotográfica das placas de fungos elaborada com as amostras respectivamente da primeira, segunda e terceira campanha.

Quadro 4 – Colônias de fungos filamentosos encontradas na amostragem e suas características.

| | | | |
|--|---|--|---|
| |  | | <p>Filamentosa, textura algodoadosa, coloração rosada, tamanho grande (cresceu até os limites da placa), teve pouca recorrência.</p> <p>Foto: 1ª campanha - tarde - ponto 5 do bosque</p> |
| |  | | <p>Filamentosa, textura cotonosa, coloração branca com sulcos escuros, tamanho médio-grande (3 cm de diâmetro), coloração do reverso branco-amarelo, formato regular, recorrente em todas as campanhas.</p> <p>Foto: 1ª campanha - tarde - ponto 4 do bosque.</p> |
| |  | | <p>Filamentosa, com protuberância, formato de redemoinho, coloração cinza escuro, tamanho pequeno-médio (1,5 cm de diâmetro), borda irregular.</p> <p>Foto: 2ª campanha – tarde - ponto 1 da praça.</p> |
| |  | | <p>Filamentosa, textura cotonosa, com protuberância, formato de flor, coloração rosa claro e reverso laranjada, tamanho pequeno-médio (1,5 cm de diâmetro), borda irregular.</p> <p>Foto: 2ª campanha - manhã - ponto 2 do bosque.</p> |
| |  | | <p>Filamentosa, superfície plana, coloração branco translúcido, tamanho médio (2 cm de diâmetro), borda irregular, pouco recorrente.</p> <p>Foto: 3ª campanha - manhã - ponto 4 do bosque</p> |
| |  | | <p>Filamentosa, textura cotonosa, coloração cinza-lilás, sulcos, tamanho médio (2 cm de diâmetro), borda regular, com liberação de pigmento amarelado no meio de cultura, pouco recorrente</p> <p>Foto: 3ª campanha - tarde - ponto 5 do bosque.</p> |

Fonte: Própria Autoria (2020)

5.2 ASPECTOS QUANTIFICATIVOS DA AMOSTRAGEM

Em termos numéricos, o resultado da quantificação de fungos convertidos pela Equação 1 em UFC.m⁻³ de cada placa, bem como suas respectivas médias e desvio padrão para cada ponto, nas três campanhas de amostragem pode ser observado na Tabela 1.

Os valores médios da concentração de UFC por metro cúbico de ar apresentaram grande variação entre as campanhas, indicando uma forte influência dos fatores climáticos locais. Na primeira campanha, realizada em março, a concentração média variou de 524 UFC.m⁻³ (B3 e B4 pela manhã) a 1.546 UFC.m⁻³ (B3 pela tarde). Já na segunda campanha, realizada em agosto, a variação esteve entre 183 UFC.m⁻³ (B3 pela manhã) e 1.991 UFC.m⁻³ (B2 pela tarde). E por fim, na terceira campanha, realizada em setembro, a concentração média foi de 550 UFC.m⁻³ (B5 pela manhã) a 1.860 UFC.m⁻³ (B1 pela tarde). Embora a variação seja alta, é perceptível que os maiores valores se repetem pela tarde e os menores pela manhã. Isto acontece em decorrência das alterações climatológicas e atmosféricas que ocorrem durante o dia, como aumento da temperatura ambiente e de particulados suspensos pela movimentação dos carros.

Comparando ainda as médias de concentração aqui apontadas com as encontradas por Castro e Silva (2019) em um monitoramento atmosférico em São Paulo, nota-se que os valores médios de UFC.m⁻³ de fungos encontrados no presente estudo são consideravelmente maiores, sendo observados os mesmos períodos de amostragem, média para o verão de 83,4 UFC.m⁻³ e para o inverno de 114,5 UFC.m⁻³ (CASTRO E SILVA, 2019 pag. 51).

Esta diferença pode estar associada à qualidade do ar encontrada em cada um dos locais em estudo, sendo o ar de Londrina mais favorável ao crescimento de fungos do que São Paulo. Isto se dá em vista as altas concentrações de poluentes atmosféricos químicos encontrados na Região Metropolitana de São Paulo (CETESB, 2019; NATALI, 2008), que dificultam a reprodução de grande partes dos microrganismos presentes no ar. Ressalta-se também que os pontos de amostragem do presente estudo são em áreas verdes, onde se encontra muita matéria orgânica de fácil degradação, advindas das excretas das aves e outros animais, onde o crescimento microbiológico ocorre mais acelerado.

Tabela 1- Concentração de UFC por metro cúbico de ar amostrado de cada ponto de amostragem nas três campanhas de coleta de dados.

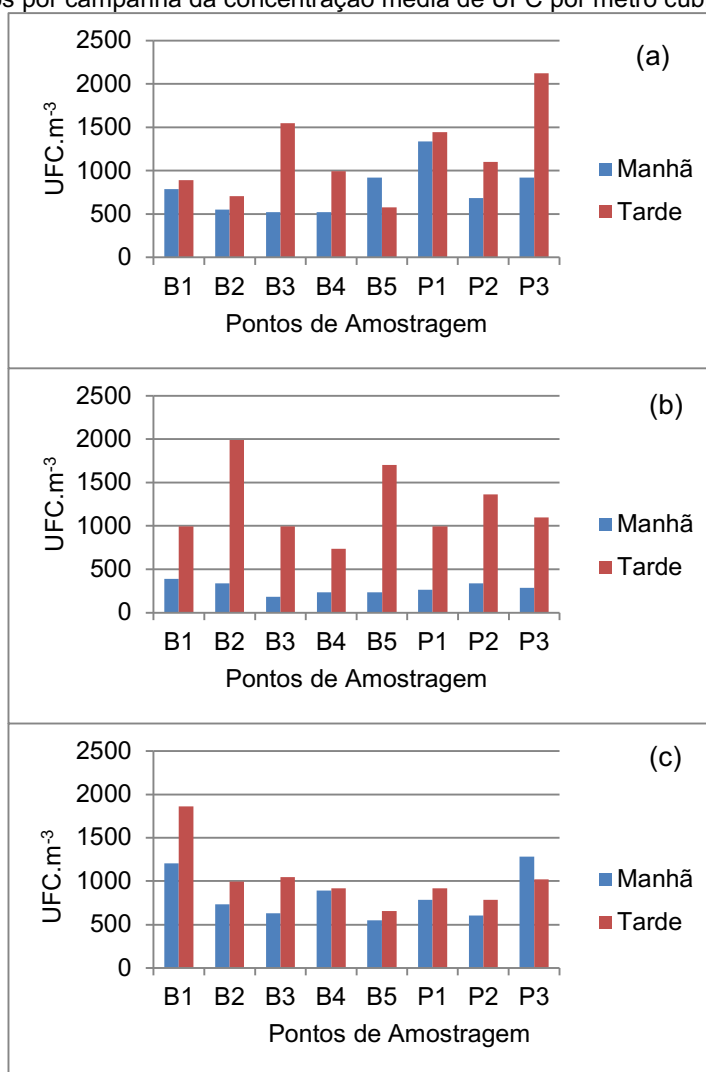
| Ponto | Triplicata | 1ª Campanha | | | | | | 2ª Campanha | | | | | | 3ª Campanha | | | | | |
|-------|------------|----------------|----------------|-----------------|-------|------|-----|-------------|-----|-----|-------|------|-----|-------------|------|-----|-------|------|-----|
| | | Manhã | | | Tarde | | | Manhã | | | Tarde | | | Manhã | | | Tarde | | |
| | | C ^a | M ^b | DP ^c | C | M | DP | C | M | DP | C | M | DP | C | M | DP | C | M | DP |
| B1 | T1 | 1022 | | | 629 | | | 707 | | | 393 | | | 1022 | | | 943 | | |
| | T2 | 707 | 786 | 157 | 1022 | 891 | 175 | 236 | 393 | 210 | 1572 | 996 | 402 | 1179 | 1205 | 140 | 2122 | 1860 | 611 |
| | T3 | 629 | | | 1022 | | | 236 | | | 1022 | | | 1415 | | | 2515 | | |
| B2 | T1 | 314 | | | 707 | | | 393 | | | 1729 | | | 1258 | | | 1336 | | |
| | T2 | 472 | 550 | 210 | 707 | 707 | 0 | 550 | 341 | 175 | 2436 | 1991 | 297 | 157 | 734 | 384 | 1022 | 996 | 245 |
| | T3 | 865 | | | 707 | | | 79 | | | 1808 | | | 786 | | | 629 | | |
| B3 | T1 | 550 | | | 1415 | | | 236 | | | 629 | | | 393 | | | 1022 | | |
| | T2 | 550 | 524 | 35 | 1179 | 1546 | 332 | 236 | 183 | 70 | 1022 | 996 | 245 | 707 | 629 | 157 | 1336 | 1048 | 192 |
| | T3 | 472 | | | 2043 | | | 79 | | | 1336 | | | 786 | | | 786 | | |
| B4 | T1 | 786 | | | 1336 | | | 157 | | | 472 | | | 1729 | | | 1022 | | |
| | T2 | 472 | 524 | 175 | 865 | 996 | 227 | 314 | 236 | 52 | 943 | 734 | 175 | 550 | 891 | 559 | 786 | 917 | 87 |
| | T3 | 314 | | | 786 | | | 236 | | | 786 | | | 393 | | | 943 | | |
| B5 | T1 | 707 | | | 314 | | | 314 | | | 2358 | | | 786 | | | 550 | | |
| | T2 | 786 | 917 | 227 | 1100 | 576 | 349 | 157 | 236 | 52 | 1336 | 1703 | 437 | 314 | 550 | 157 | 629 | 655 | 87 |
| | T3 | 1258 | | | 314 | | | 236 | | | 1415 | | | 550 | | | 786 | | |
| P1 | T1 | 2122 | | | 1572 | | | 236 | | | 1493 | | | 707 | | | 943 | | |
| | T2 | 1022 | 1336 | 524 | 1729 | 1441 | 279 | 236 | 262 | 35 | 550 | 996 | 332 | 472 | 786 | 262 | 943 | 917 | 35 |
| | T3 | 865 | | | 1022 | | | 314 | | | 943 | | | 1179 | | | 865 | | |
| P2 | T1 | 629 | | | 865 | | | 236 | | | 1336 | | | 472 | | | 1100 | | |
| | T2 | 629 | 681 | 70 | 1100 | 1100 | 157 | 393 | 341 | 70 | 1415 | 1362 | 35 | 865 | 603 | 175 | 629 | 786 | 210 |
| | T3 | 786 | | | 1336 | | | 393 | | | 1336 | | | 472 | | | 629 | | |
| P3 | T1 | 1100 | | | 1808 | | | 314 | | | 1258 | | | 2279 | | | 943 | | |
| | T2 | 707 | 917 | 140 | 2908 | 2122 | 524 | 314 | 288 | 35 | 1022 | 1100 | 105 | 786 | 1284 | 664 | 1100 | 1022 | 52 |
| | T3 | 943 | | | 1650 | | | 236 | | | 1022 | | | 786 | | | 1022 | | |

^aC=Concentração de UFC por metro cúbico (UFC.m⁻³); ^bM=Média de UFC.m⁻³; ^cDP= Desvio Padrão de UFC.m⁻³; B1, B2, B3, B4 e B5 – pontos 1, 2, 3, 4 e 5 de amostragem no bosque; P1, P2 e P3 – pontos 1, 2 e 3 de amostragem na praça.

Fonte: Própria Autoria (2020)

Para melhor analisar o padrão de organismos sedimentados nas placas bem como a diferença entre o período matutino e vespertino, foram elaborados gráficos por campanha com a concentração média de UFC.m⁻³ por ponto de coleta (Figura 17).

Figura 17 – Gráficos por campanha da concentração média de UFC por metro cúbico de cada coleta.



Legenda: (a) primeira campanha; (b) segunda campanha; (c) terceira campanha; B1, B2, B3, B4 e B5 – pontos 1, 2, 3, 4 e 5 de amostragem no bosque; P1, P2 e P3 – pontos 1, 2 e 3 de amostragem na praça.

Fonte: Própria Autoria (2020).

Pelo gráfico referente à primeira campanha (Figura 17a), nota-se que em quase todos os pontos a concentração de UFC.m⁻³ obtidos foi maior no período da tarde com exceção apenas do ponto B5. Notou-se também uma variação superior a 100% da coleta da tarde em relação à coleta da manhã nos pontos B3 e P3.

Observa-se também que em média a concentração de UFC.m⁻³ é maior nos pontos da praça do que nos do bosque, possivelmente em decorrência das movimentações veiculares e de pessoas nas proximidades no momento da coleta.

Na segunda campanha, observando o gráfico presente na Figura 17b, nota-se que na coleta matutina a concentração de UFC.m⁻³ foi homogeneamente baixa, não ultrapassando a média de 400 UFC.m⁻³ em todos os pontos. Na coleta vespertina as concentrações médias foram consideravelmente maiores com destaque para os pontos B2 e B5 onde a média ultrapassou 1.700 UFC.m⁻³, novamente confirmando a tendência de maiores médias para o período da tarde. Entre os pontos da praça e do bosque, a média foi relativamente homogênea tanto pela manhã quanto pela tarde.

Na terceira campanha, conforme pode ser visualizado na Figura 17c houve uma média maior no ponto B1, tanto pela manhã quanto a tarde. A demais as médias vespertinas seguem maiores que as matutinas, com exceção apenas ao ponto P3. Comparando-se os pontos do bosque com os da praça, nessa campanha a média de UFC.m⁻³ foi um pouco maior no bosque do que na praça.

Para tais resultados podem ser levantadas ao menos duas hipóteses. A primeira consiste na relação direta que a temperatura ambiente exerce sobre crescimento dos microrganismos, sendo que quanto maior a temperatura, maior a velocidade de reprodução; e a segunda na interferência de outros fatores externos no momento da coleta, tais como vento forte, invasão de insetos sobre as placas e intensidade do fluxo de pessoas nas proximidades.

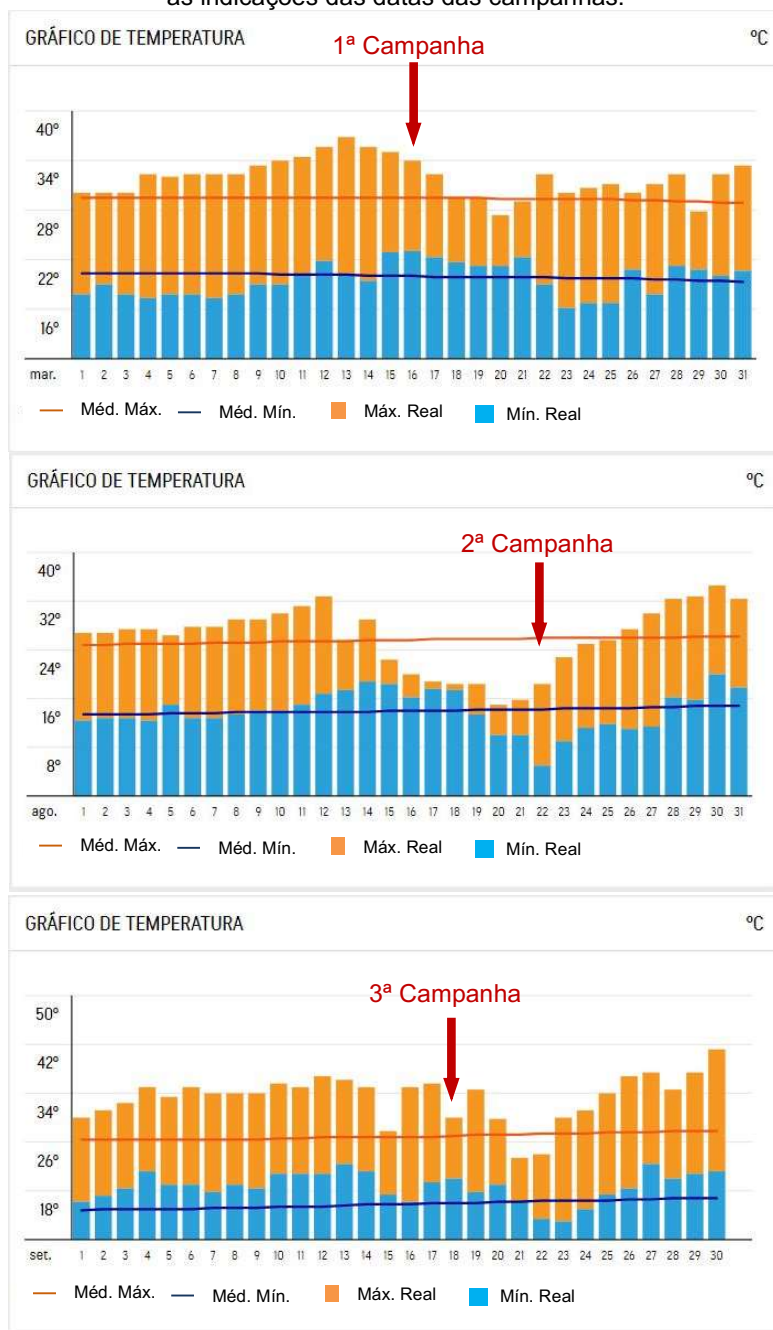
Conforme a Figura 18 nota-se que segundo dados registrados na estação meteorológica de Londrina, as temperaturas mínimas e máximas registradas nos dias da realização das campanhas foram de: 23 a 34 °C, na primeira campanha em 16 de março; 5 a 18 °C, na segunda campanha em 22 de agosto; e 21 a 35 °C, na terceira campanha em 18 de setembro (ACCUWEATHER, 2020).

A partir dos valores apresentados, pela primeira hipótese levantada anteriormente é possível notar a relação existente entre a baixa temperatura pela manhã e a baixa concentração de microrganismos no ar, que se torna visível principalmente nas médias de UFC.m⁻³ da segunda campanha, onde a temperatura no momento da coleta esteve em torno de 6 a 11 °C (SIMEPAR, 2020).

Notou-se também que as médias da primeira e terceira campanha são mais parecidas, embora tenham ocorrido em estações do ano distintas, sendo a primeira ao final do Verão e a terceira ao final do Inverno, as faixas de temperatura em que

as coletas foram realizadas são igualmente próximas. Esta associação confirma novamente a interferência exercida pela temperatura na velocidade de reprodução dos microrganismos.

Figura 18 – Gráficos de temperatura referente aos meses de março, agosto e setembro de 2020 com as indicações das datas das campanhas.



Fonte: Modificado de ACCUWEATHER (2020).

5.2.1 Diferenciação das UFC filamentosas e leveduriforme

Em termos de porcentagem, a recorrência de UFC leveduriformes foi minoritária e em nenhum momento alcançou 50% da amostra, conforme se observa na Figura 19.

Na primeira campanha a maior incidência de UFC leveduriforme ocorreu no ponto B2 pela manhã, chegando a representar 38% das UFC ali coletadas, algo incomum, sendo que já era esperado que a maior parte dos fungos coletados fosse filamentosos. (Figura 19-a). Nos demais pontos nesta campanha as UFC leveduriformes não ultrapassaram os 20%, tanto pela manhã quanto pela tarde (Figuras 19-a, 19-b).

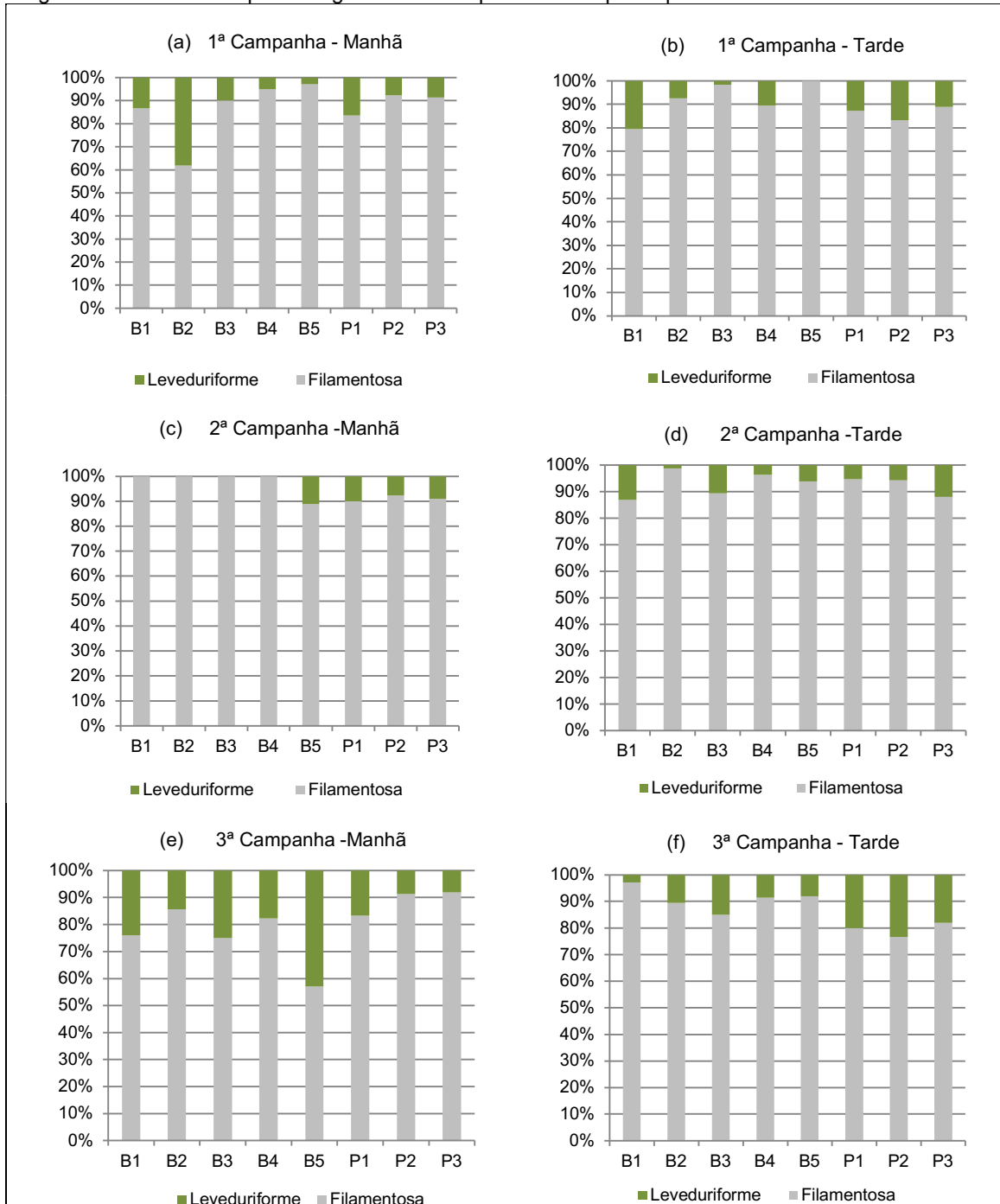
Na segunda campanha pela manhã (Figura 19-c), em metade dos pontos a porcentagem de UFC leveduriforme foi nula, o que pode indicar que os fungos leveduriformes são mais afetados por temperaturas mais baixas. Nos demais elas representaram cerca de +/- 10% da amostra. Já no período vespertino (Figura 19-d) não houve nulidade nas porcentagens de UFC leveduriformes, tendo seu valor mínimo de 1,3% no ponto B2 e seu máximo de 13% no ponto B1.

No ponto B5 da terceira campanha no período da manhã, o número UFC leveduriforme chegou a ser de 43% do total coletado neste ponto. No entanto, esta porcentagem está mais relacionada ao baixo número de UFC filamentosas coletadas, do que a presença de fezes de pombos, visto que o ponto B5 é o mais limpo e aberto vegetativamente. Nos outros pontos a porcentagem variou entre 8% (P3) e 24% (B1) (Figura 19-e). No período da tarde (Figura 19-f) a porcentagem das UFC leveduriforme esteve entre 3% (B1) e 23% (P2).

Na primeira e terceira campanha também é possível notar um padrão de ocorrência das UFC leveduriformes diferenciado nos pontos do Bosque em relação aos pontos da Praça. Nas coletas da manhã em ambas as campanhas a porcentagem de UFC leveduriforme encontrada no Bosque foi em média mais alta que as encontradas nos pontos da Praça (Figuras 19-a;19-e). Nas coletas da tarde ocorreu o oposto, ou seja, a porcentagem de UFC média entre os pontos de amostragem da Praça foi maior que as encontradas nos pontos de amostragem do Bosque (Figuras 19-b;19-f). Este padrão pode estar relacionado ao comportamento

de movimentação dos pombos, que dormem no bosque, mas durante o dia circulam por toda a praça em busca de alimentação, retornando para seus ninhos ao final da tarde.

Figura 19 - Gráficos de porcentagem das UFC quantificadas por aspecto leveduriforme e filamentosa.



Legenda: B1, B2, B3, B4 e B5 – pontos 1, 2, 3, 4 e 5 de amostragem no bosque; P1, P2 e P3 – pontos 1, 2 e 3 de amostragem na praça.

Fonte: Própria Autoria (2020)

5.3 ASPECTOS GERAIS DOS ISOLAMENTOS

Conforme indicado na metodologia o critério para realização dos isolamentos foi o aspecto macroscópico das colônias, sendo que nas placas isoladas este aspecto ficou mais claro e melhor definido.

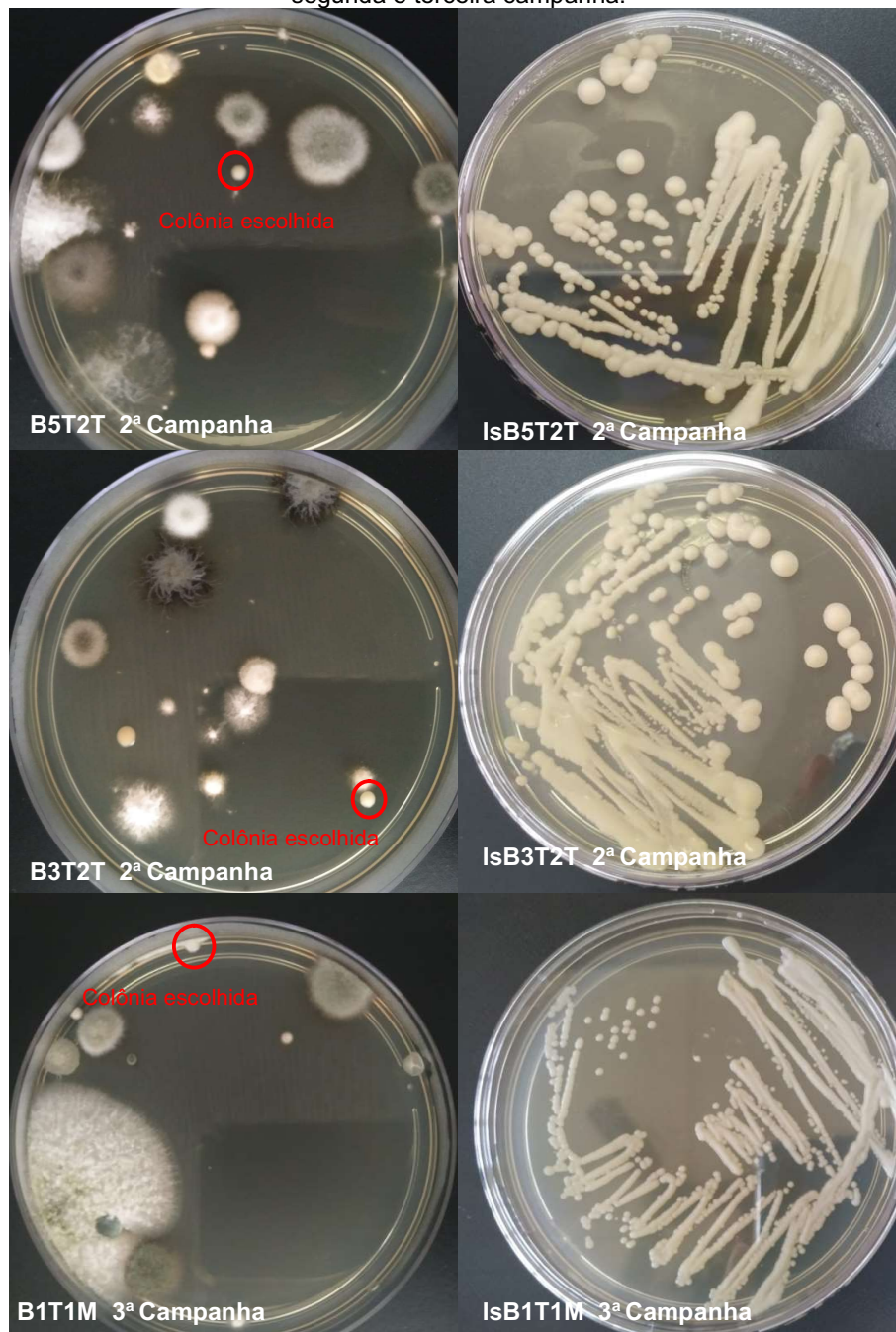
A Figura 20 mostra três colônias selecionadas das amostras provenientes das segunda e terceira campanhas para o isolamento, bem como o resultado desses isolamentos após o período de incubação na estufa bacteriológica de 72 horas a $30 \pm 1^\circ\text{C}$.

Com o isolamento foi possível notar que nem todas as colônias pré-selecionadas das amostras originais apresentavam o aspecto característico esperado para o gênero *Cryptococcus*. Dos seis isolamentos realizados com as amostras da segunda campanha, dois foram descartados após o crescimento por não se encaixarem nas características das colônias de interesse.

Das amostras da terceira campanha também foram selecionadas seis colônias de aspecto leveduriforme, as quais possivelmente pertenciam ao fungo estudado. Destas nenhuma foi descartada após o crescimento das colônias, pois todas mantiveram as características buscadas.

Ao todo foram realizados doze isolamentos com amostras provenientes das segunda e terceira campanhas. Considerando este espaço amostral, pode-se inferir que os isolamentos representam 12,5% das placas amostradas pela segunda e terceira campanhas ou ainda 8,3% das placas amostradas em todas as campanhas, sendo cada colônia isolada representante de uma placa da amostra original.

Figura 20– Colônias selecionadas e resultados dos isolamentos provenientes das amostras das segunda e terceira campanha.



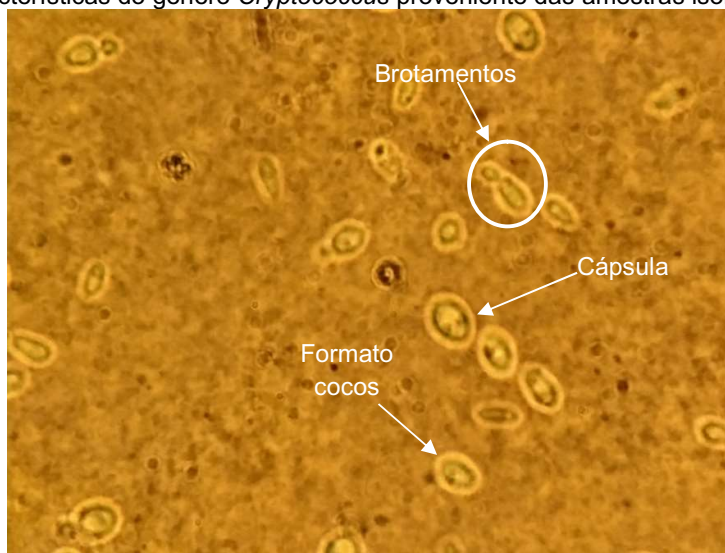
Legenda: B5T2T – ponto 5 do bosque, triplicata 2, coleta da tarde; B3T2T – ponto 3 do bosque, triplicata 2, coleta da tarde; B1T1M – ponto 1 do bosque, triplicata 1, coleta da manhã; Prefixo Is - Isolamento da amostra indicada;
Fonte: Própria Autoria (2020)

5.4 CONFIRMAÇÃO MICROSCÓPIA

A observação microscópica da suspensão em Tinta Nanquim foi realizada em dez amostras isoladas provenientes das segunda e terceira campanhas. Sobre a visualização foram avaliados os parâmetros de formato das células tipo cocos (circular), presença de cápsula mucopolissacarídeo, presença de brotamentos, sendo que as amostras que apresentaram todos estes atributos foram consideradas positivas para o gênero *Cryptococcus*.

Na Figura 21 se encontra a visualização microscópica de células proveniente do isolamento da segunda campanha. Nela também se encontram indicados os atributos capazes de atribuir classificação para *Cryptococcus*.

Figura 21 - Visualização ao microscópio com aumento de 1000x das células que apresentaram as características do gênero *Cryptococcus* proveniente das amostras isoladas.



Fonte: Própria Aatoria (2020)

Das amostras isoladas levadas à observação microscópica, apenas duas não corresponderam à característica morfológicas correspondente ao gênero *Cryptococcus* e apresentaram células longas em formato de bastonetes, as quais não possuíam cápsula (Figura 22).

Figura 22 - Visualização ao microscópio com aumento de 1000x de células que não apresentaram as características do gênero *Cryptococcus* proveniente das amostras isoladas.



Fonte: Própria Autoria (2020)

A Tabela 2 apresenta a relação de cada amostra com os parâmetros descritos, bem como a classificação final para o gênero em estudo.

Tabela 2 - Relação dos atributos das amostras isoladas observadas no microscópio e classificação para o gênero *Cryptococcus*

| Amostra-Campanha | Formato cocos | Presença de Cápsula | Presença de Brotamentos | Positividade para <i>Cryptococcus</i> |
|------------------------------------|----------------|---------------------|-------------------------|---------------------------------------|
| B2T1T ^a -2 ^a | N ^b | N | S | N |
| B3T2T-2 ^a | S ^c | S | S | S |
| B5T2T-2 ^a | S | S | S | S |
| P3T2T-2 ^a | S | S | S | S |
| B1T1M-3 ^a | S | S | S | S |
| B3T2M-3 ^a | S | S | S | S |
| B4T3M-3 ^a | N | N | S | N |
| P1T1M-3 ^a | S | S | S | S |
| P3T3M-3 ^a | S | S | S | S |
| B3T2T-3 ^a | S | S | S | S |

^aBxTyZ/PxTyZ: Código da amostra coletada, onde Bx = número do ponto do bosque, Px = número do ponto da praça, Ty = número da triplicata, z = T para coleta da tarde, M para coleta da manhã;

^bN = Não apresentou; ^cS = Sim;

Fonte: Própria Autoria (2020)

De acordo com a análise dos dados apresentados na Tabela 3, o resultado positivo para o gênero *Cryptococcus* foi de 80% em relação às amostras avaliadas nesta etapa, sendo que para as amostras analisadas provenientes apenas da segunda campanha, esta taxa cai para 75%, enquanto para as provenientes da terceira campanha, a taxa sobe para 83%.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste trabalho confirmam, no Bosque Marechal Candido Rondon e na Praça Marechal Floriano Peixoto, a presença de fungos do gênero *Cryptococcus* como bioaerossóis que podem vir a ser inalados pelas pessoas que circulam por estes ambientes.

Encontrou-se uma concentração média de fungos no ar 633 UFC.m⁻³ nas amostras coletadas no período da manhã e 1.143 UFC.m⁻³ nas amostras da tarde. A recorrência de fungos leveduriformes foi minoritária e em nenhum momento alcançou 50% da amostra. Dentre os fungos identificados como leveduriformes e isolados 80% foram classificados como pertencentes ao gênero *Cryptococcus*.

Embora o fungo se mostre presente em ambos os espaços, sustenta-se a ideia de que uma revitalização do Bosque Marechal Candido Rondon possa reduzir consideravelmente a ocorrência deste fungo por toda a região central de Londrina, pois lá se encontram a concentração de ninhos dos pombos. Tornar o bosque menos atrativo e agradável aos pombos, significa uma menor população deles, e conseqüentemente, uma diminuição de fezes, odores e principalmente os fungos *Cryptococcus ssp.*

Para uma avaliação do grau do risco a saúde ambiental, estudos mais profundos na área se mostram necessários, os quais deverão buscar uma continuidade a fim de se tornar um monitoramento de qualidade ambiental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCUWEATHER. **Condições meteorológicas mensais em Londrina, Paraná, Brasil**. 2020. Disponível em: <<https://www.accuweather.com/pt/br/londrina/44945/november-weather/44945>>. Acesso em: 29 out. 2020.

ANVISA. **Manual de Procedimentos Básicos em MICROBIOLOGIA CLÍNICA para o Controle de Infecção Hospitalar**. Brasília: Ministério da Saúde, 2000. 56 p.

ANVISA. **Microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde**. Brasília: Agência Nacional De Vigilância Sanitária, 2013. v. 1º. 46 p. Disponível em: <<http://www.saude.mt.gov.br/upload/controle-infecoes/pasta13/modulo8.pdf>>. Acesso em: 11 set. 2019.

ANVISA. **Resolução - RE n º 176, de 24 de outubro de 2000**: Orientação Técnica elaborada por Grupo Técnico Assessor sobre Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo. Disponível em: <<http://www.pncq.org.br/uploads/2015/qualinews/RE%20176%202000.pdf>>. Acesso em 04 de dez. 2020.

ARAÚJO JÚNIOR, E. C. et al. Cryptococcus: Isolamento ambiental e caracterização bioquímica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 4, p. 1003–1008, 2015.

AUGUSTO, L. G. DA S. Saúde e vigilância ambiental: um tema em construção. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 12, n. 4, p. 177–187, 2003.

AVANSINI, C. Revitalização do bosque não reduz superpopulação de pombos. **Folha de Londrina**, Londrina, p. 1-2, 23 maio 2018. Disponível em: <<https://www.folhadelondrina.com.br/cidades/revitalizacao-do-bosque-nao-reduz-superpopulacao-de-pombos-1007289.html>>. Acesso em: 3 dez. 2020.

BARBOZA, L. S. **ESTUDO MICROBIOLÓGICO : AMOSTRAGEM *Cryptococcus sp* EM SÃO JOSÉ DO RIO PRETO / SP**. São José do Rio Preto: Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2011. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/94843>>. Acesso em: 17 out. 2019.

BRASIL. **Vigilância Ambiental em Saúde**. Brasília: FUNASA, 2002. 42 p.

BRASIL. **Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso**. 4ª ed. Amp. Brasília: Ministério da Saude, 2004. 332 p.

BRASIL. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº01 , DE 7 DE MARÇO DE 2005**. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs/2005/int0001_07_03_2005_rep.html>. Acesso em: 1 nov. 2019.

BRASIL. **Criptococose: causas, sintomas, tratamento e prevenção**. Ministério Da Saúde, 2019a. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/criptococose>>. Acesso em: 28 out. 2019.

BRASIL. **Parques e Áreas Verdes**. Ministério do Meio Ambiente, 2019b. Disponível em: <<https://www.mma.gov.br/cidades-sustentaveis/areas-verdes-urbanas/item/8051.html>> . Acesso em: 28 out. 2019.

CALSAVARA, F. **Bosque é foco de fungo causador da criptococose**. Londrina: Gazeta do Povo, 2013. Disponível em: <<https://www.gazetadopovo.com.br/vida-e-cidadania/bosque-e-foco-de-fungo-causador-da-criptococose-b5y0v9vnqoxala3dwobchuqmm/>>. Acesso em: 17 out. 2019.

CASTRO E SILVA, D. de M. **Monitoramento de espécies fúngicas no ar atmosférico da região metropolitana de São Paulo**. Orientador: Maria Regina Alves Cardoso. 2019. 120 p. Tese (Doutorado em Faculdade de Saúde Pública) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/6/6141/tde-27052019-154808/publico/DulcilenaDeMatosCastroSilva_REVISADA_DR1488.pdf. Acesso em: 10 nov. 2020.

CETESB. **Relatório de qualidade do ar no Estado de São Paulo – 2019**. São Paulo: CETESB, Série Relatórios/ Secretaria de Estado do Meio Ambiente. 2020. Disponível em: <<https://cetesb.sp.gov.br/ar/wp-content/uploads/sites/28/2020/07/Relat%C3%B3rio-de-Qualidade-do-Ar-2019.pdf>>. Acesso em: 4 dez. 2020.

FROZONI, F. Bosque Marechal Cândido Rondon (Londrina – PR): patrimônio e identidade. **Revista Trilhas da História**, v. 2, n. 3, p. 115–128, 2012.

HAYLEEYESUS, S. F.; EJESO, A.; DERSEH, F. A. Quantitative assessment of bioaerosols contamination in indoor air of university dormitory rooms. **International Journal of Health Sciences**, v. 9, n. 3, p. 247–254, 2015.

HELENAS, J. K. **VALORAÇÃO ECONÔMICA DO BOSQUE MARECHAL CÂNDIDO RONDON – LONDRINA/PR – PARA FINS DE TRÁFEGO VEICULAR**. Monografia. Londrina: Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2014. 57 p.

IBGE. **Panorama Cidades: Londrina PR**. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/londrina/panorama>>. Acesso em: 20 nov. 2019.

IBGE. **Biblioteca Digital**. Notas: Praça Marechal Floriano Peixoto. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/biblioteca-catalogo.html?id=443199&view=detalhes>>. Acesso em: 21 jun 2020.

KORB, A.; CLARO, J. A. S. **Saúde Ambiental : Concepções E Interpretações Sobre**. V Encontro Associação Nacional De Pós Graduação E Pesquisa Em Ambiente e Sociedade. Florianópolis: 2010. Disponível em: <<http://www.anppas.org.br/encontro5/cd/artigos/GT4-610-808-20100814150548.pdf>>. Acesso em: 17 out. 2019.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Pombos: conheça os riscos que eles trazem para a saúde**. 2011. Disponível em:
<http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/dicas/238_pombos.html>. Acesso em: 12 nov. 2019.

MORAES, G. Y. B. DE; RODRIGUES, A. G.; MORAES, T. I. Fisiopatologia da criptococose em pacientes com hiv/aids e o papel do biomédico. **Revista Saúde em Foco**.p. 308–318, 2018.

MORAIS, G. R. et al. Qualidade do ar interno em uma instituição de ensino superior brasileira. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 2, p. 305–310, 2010.

NASSER, N.; FILHO, N. N.; VIEIRA, A. G. Criptococose cutânea primária em paciente imunocompetente. **An Bras Dermatol**. 2011, p. 1178–1180, 2011.

NATALI, L. **Utilização dos produtos obtidos por sensoriamento remoto na caracterização da qualidade do ar na Região Metropolitana de São Paulo**, 2008, 122 f. Dissertação de Mestrado do Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências Atmosféricas da Universidade de São Paulo, 2008. Disponível em:
<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/14/14133/tde-07122008-151154/publico/Dissertacao_Luciene_Natali_2008.pdf>. Acesso em: 4 dez. 2020.

NAVARRO, V. Saúde Pública: População de pombos em Londrina ultrapassa 170 mil. **Folha de Londrina**, Londrina, p. 1-2, 17 maio 2006. Disponível em:
<<https://www.folhadelondrina.com.br/cidades/saude-publica---populacao-de-pombos-em-londrina-ultrapassa-170-mil-565857.html>>. Acesso em: 4 dez. 2020.

NETTO, G. **A Vigilância em Saúde Ambiental**. Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador, 56 p., 2013.

NORONHA, M. L. M. **Pombos urbanos: biologia, problemas, manejo e controle**. Rio de Janeiro, 2013. Disponível em:
<http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/dicas/238_pombos.html>. Acesso em: 12 nov. 2019..

PANASOLO, A.; PETERS, E. L.; NUNES, M. S. **Áreas Verdes Urbanas À Luz da Nova Legislação Florestal**. Curitiba: Ambiente Juris, 2016. 292 p.

PRATES, K. V. M. C. **ROTEIROS DE AULA PRÁTICA MICROBIOLOGIA**. 74 p., 2019.

PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE LONDRINA. **Bosque Municipal Marechal Cândido Rondon**. 2010. Disponível em:
<https://www.londrina.pr.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=88&Itemid=122>. Acesso em: 12 set. 2019.

PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE LONDRINA. **Relatório de Diagnóstico da Situação do Saneamento - ASPECTOS AMBIENTAIS**. 2012. Disponível em:
<http://www1.londrina.pr.gov.br/dados/images/stories/Storage/gabinete/PMSB/aspectos_ambientais_03_10.pdf> Acesso em: 20 nov. 2019.

PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE LONDRINA. **Prefeitura finaliza pesquisa online e debate sobre revitalização do Bosque**. 2019. Disponível em: <<https://blog.londrina.pr.gov.br/?p=57132>>. Acesso em: 26 out. 2019.

REIS, I. D. G.; CÉSAR, A. **Crescendo em Cultura - Criptococose**. 2015. Disponível em: <<https://crescendoemcultura.blogspot.com/2015/06/criptococose.html?showComment=1572652522266>>. Acesso em: 1 nov. 2019.

SILVA, C. F. B. DA. **Vigilância Ambiental em Saúde**. Secretaria da Saúde de Santa Maria, 2012. Disponível em: <<http://sites.multiweb.ufsm.br/residencia/images/Disciplinas/3 - VIGILANCIA AMBIENTAL- Carlos Flvio.pdf>>. Acesso em: 12 nov. 2019.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFECTOLOGIA. **Parecer Técnico Sobre Doenças Fúngicas Transmitidas Por Aves**. São Paulo: Associação Médica Brasileira, 2018. Disponível em: <<https://www.infectologia.org.br/admin/zcloud/125/2018/07/c8959e020ef3534d4926a5a9a6cedc754892bef43c8af01ad09e6aac3bd8f2c7.pdf>> Acesso em: 12 set. 2019.

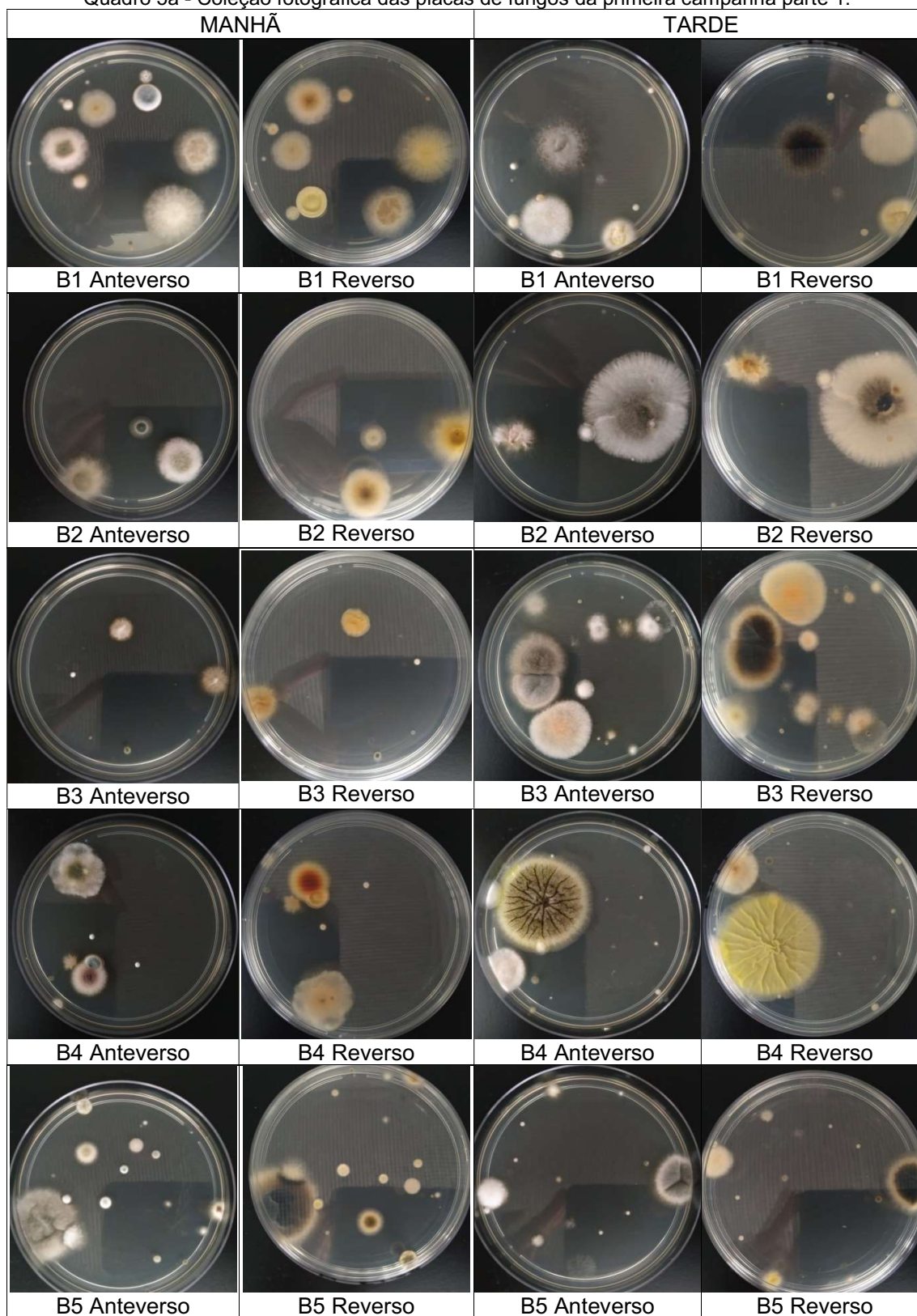
VIEIRA, W. **Foto aérea da Catedral Metropolitana de Londrina e entorno**. Fotografia. Londrina. 2016. Disponível em: <<https://kikaboneca.files.wordpress.com/2016/06/foto-aerea-bosque.jpg>>. Acesso em: 12 set. 2020.

WEATHERSPARK. **Condições meteorológicas médias de Londrina**. 2017. Disponível em: <<https://pt.weatherspark.com/y/29737/Clima-característico-em-Londrina-Brasil-durante-o-ano#Sections-Precipitation>>. Acesso em: 20 nov. 2019.

WIKUATS, C. F. H. **Estudo da exposição de trabalhadores ao material particulado e bioaerossóis em cooperativa de processamento de materiais recicláveis**. 2020. 135 p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental (PPGEA), Câmpus Apucarana/Londrina, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2020.

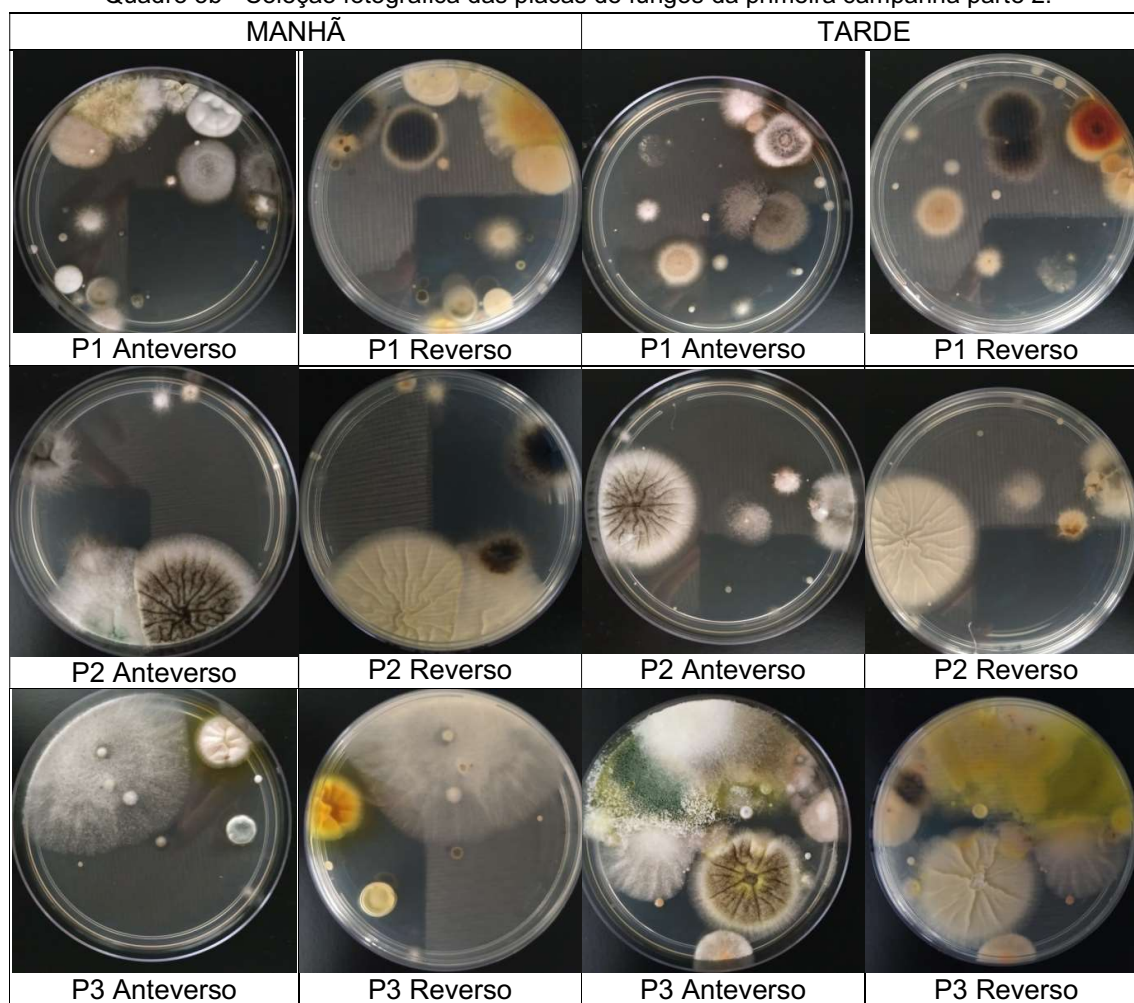
APÊNDICE1

Quadro 5a - Coleção fotográfica das placas de fungos da primeira campanha parte 1.



Continuação

Quadro 5b - Coleção fotográfica das placas de fungos da primeira campanha parte 2.

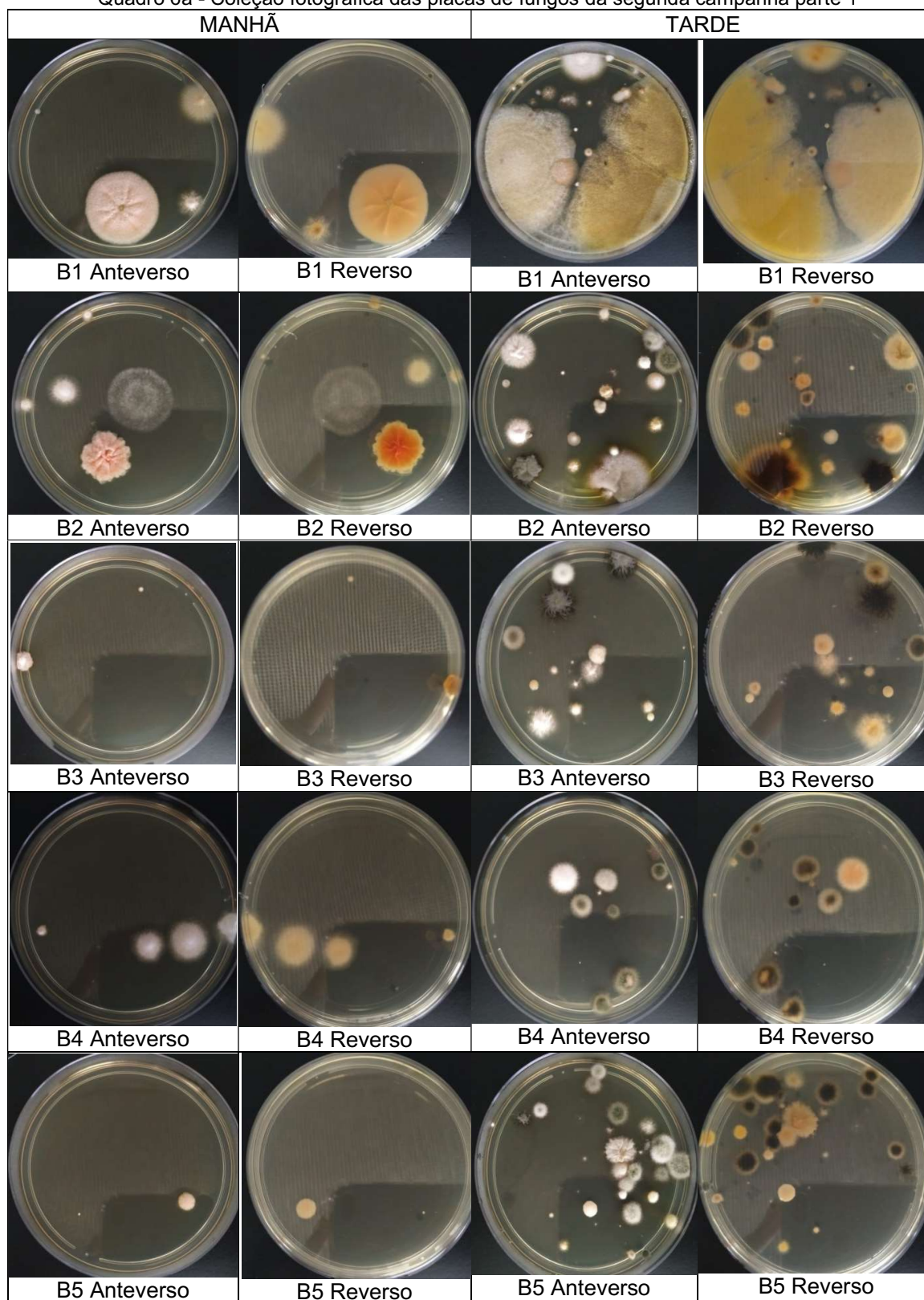


Legenda: B1, B2, B3, B4 e B5 – pontos 1, 2, 3, 4 e 5 de amostragem no bosque; P1, P2 e P3 – pontos 1, 2 e 3 de amostragem na praça.

Fonte: Própria Autoria (2020)

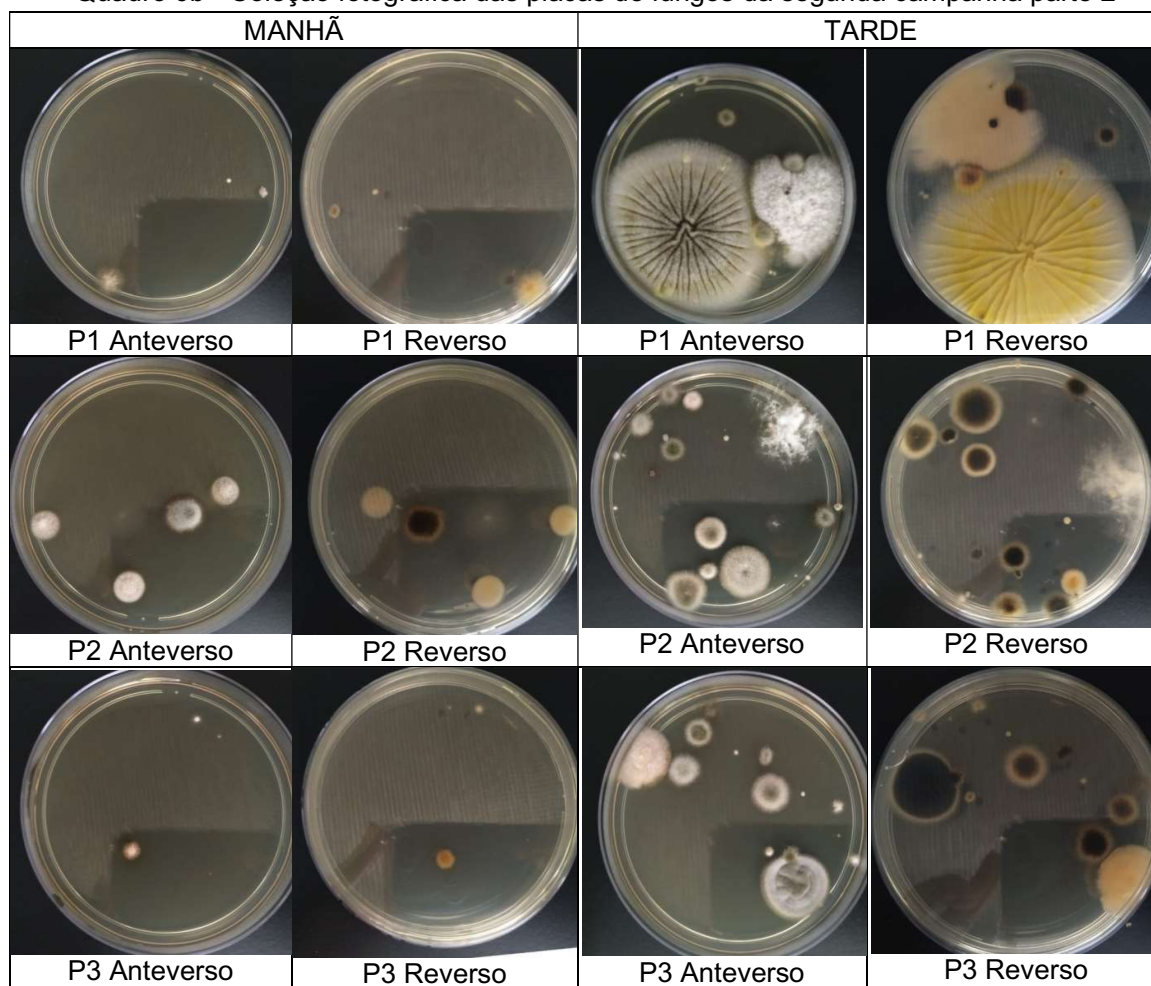
APÊNDICE 2

Quadro 6a - Coleção fotográfica das placas de fungos da segunda campanha parte 1



Continuação

Quadro 6b - Coleção fotográfica das placas de fungos da segunda campanha parte 2

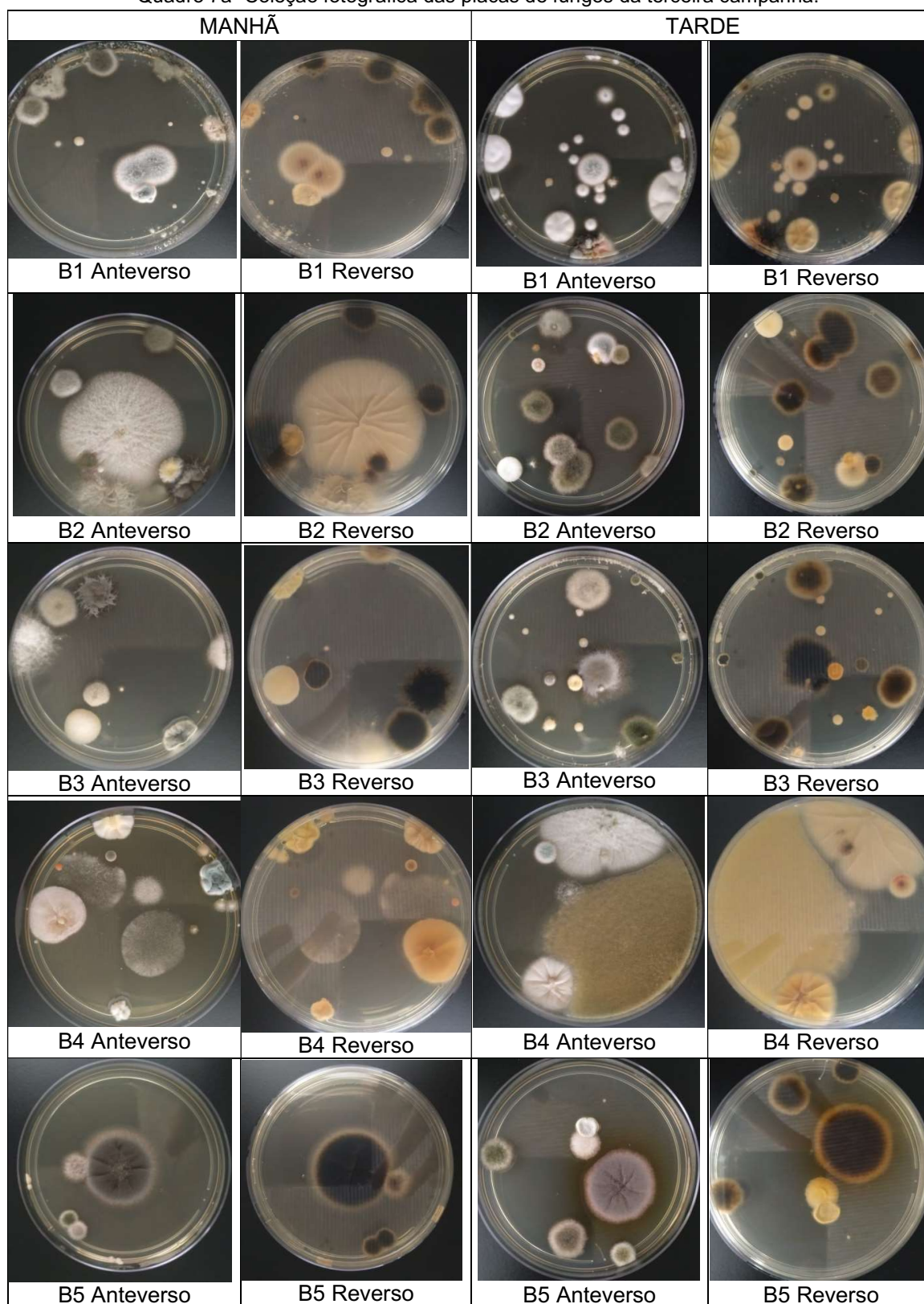


Legenda: B1, B2, B3, B4 e B5 – pontos 1, 2, 3, 4 e 5 de amostragem no bosque; P1, P2 e P3 – pontos 1, 2 e 3 de amostragem na praça.

Fonte: Própria Autoria (2020)

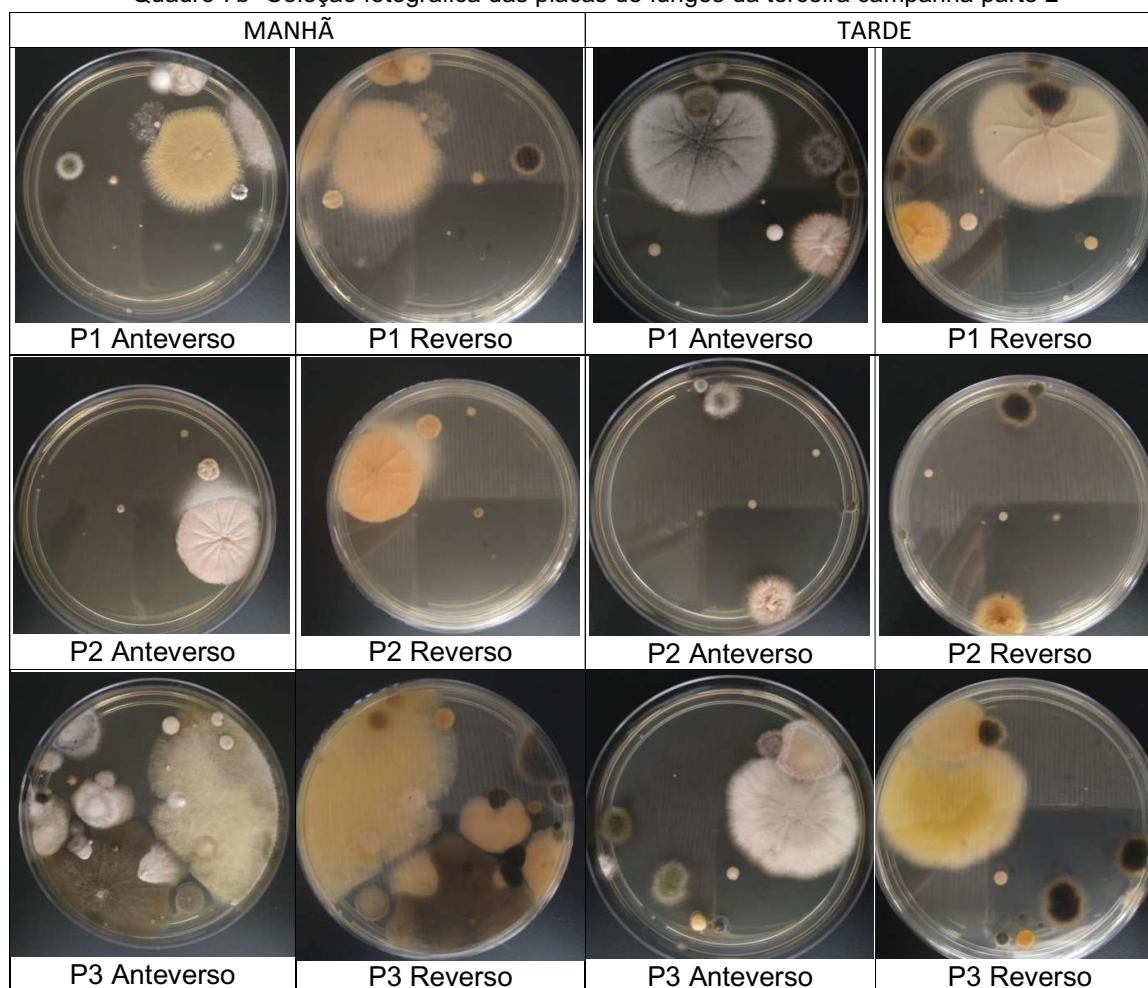
APÊNDICE 3

Quadro 7a- Coleção fotográfica das placas de fungos da terceira campanha.



Continuação

Quadro 7b- Coleção fotográfica das placas de fungos da terceira campanha parte 2



Legenda: B1, B2, B3, B4 e B5 – pontos 1, 2, 3, 4 e 5 de amostragem no bosque; P1, P2 e P3 – pontos 1, 2 e 3 de amostragem na praça.

Fonte: Própria Autoria (2020)