



## ISOLAMENTO E CONTROLE QUÍMICO DE FUNGOS FILAMENTOSOS DE DOCUMENTOS E OBRAS DE ARTE DO ESTADO DO CEARÁ

Suzana Cláudia Silveira Martins<sup>1</sup>, Claudia Miranda Martins<sup>2</sup>

1 Professora Doutora do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará (suzana220@gmail.com) Fortaleza-Brasil

2 Professora Doutora do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará

Recebido em: 30/09/2013 – Aprovado em: 08/11/2013 – Publicado em: 01/12/2013

### RESUMO

Obras de arte em museus ou armazenadas em depósitos estão sujeitas a colonização fúngica que leva a processos de biodeterioração. Amostras de superfícies de diferentes superfícies foram coletadas de acervos, públicos e privados, nas cidades de Fortaleza, Aracati e Sobral no Estado do Ceará durante 12 meses. Em todos os pontos de coleta, a amostragem foi feita a partir de 2 cm<sup>2</sup> da superfície de cada material, seguido da inoculação e cultivo das referidas amostras. As colônias isoladas foram caracterizadas macroscopicamente e, após microcultivo, 34 isolados foram identificados a nível de gênero e, quando possível, de espécie, como: *Aspergillus niger* (10), *Aspergillus flavus* (10), *Aspergillus fumigatus* (3), *Cladosporium* spp (5), *Dreschlera* spp (2), *Epicoccum* spp (2), *Alternaria alternata* (1) e *Helminthosporium* spp (1). O gênero *Aspergillus* foi predominante nos materiais examinados (67,6%), destacando-se as espécies *Aspergillus niger* (29,4%) e *Aspergillus flavus* (29,4%). A concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração fungicida mínima (CFM) do lysoform e do etanol PA foram determinadas para cada fungo identificado pela técnica da diluição em tubos. Esse resultado foi confirmado por meio da técnica de difusão em ágar. A CFM do etanol e do lysoform, foi 1:4 (25%) para todos os fungos. No teste de difusão em ágar não se observou formação de halo de inibição para nenhum dos isolados frente ao etanol, enquanto para o lysoform os valores variaram de 12mm a 54mm. Esses resultados representam uma contribuição no combate da contaminação fúngica de acervos culturais.

**PALAVRAS-CHAVE:** acervos, biodeterioração, antifúngico, concentração inibitória mínima

## ISOLATION AND CHEMICAL CONTROL OF FILAMENTOUS FUNGI FROM DOCUMENTS AND ARTWORKS OF THE CEARÁ STATE

### ABSTRACT

Artworks in museums or stored in deposits are subject to fungal colonization leading to biodeterioration processes. Samples of different surfaces were collected in collections, public and private, of Fortaleza, Sobral and Aracati cities in Ceará State.

In all sites, sampling was made from 2 cm<sup>2</sup> of the surface of each material, followed by inoculation and cultivation of those samples. The isolated colonies were characterized macroscopically and after microculture, 34 isolates were identified to genus and, when possible, to species, such as *Aspergillus niger* (10), *Aspergillus flavus* (10), *Aspergillus fumigatus* (3), *Cladosporium* spp (5), *Dreschlera* spp (2), *Epicoccum* spp (2), *Alternaria alternata* (1) and *Helminthosporium* spp (1). The genus *Aspergillus* was predominant (67.6%), highlighting the species *Aspergillus niger* (29.4%) and *Aspergillus flavus* (29.4%). The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) of lysoform and ethanol PA were determined for each fungal isolate by dilution tube technique. This result was confirmed by the agar diffusion method. CFM of ethanol and lysoform was 1:4 (25%) for all fungi. In the agar diffusion test was not observed inhibition zone for any isolate to ethanol, while for lysoform all isolates were sensible with values of inhibition halo ranging from 12mm to 54mm. These results represent a contribution in the fight against fungal contamination of cultural patrimony.

**KEYWORDS:** Art collections, biodegradation, antifungal, minimal inhibitory concentration

## INTRODUÇÃO

A biodegradação de materiais orgânicos é muito importante para reciclagem ambiental, no entanto, em alguns casos, esse processo destrói registros e objetos de arte históricos que representam uma herança de inestimável valor não só por suas características artísticas, mas também pelo papel importante na transmissão da história, cultura e tradições para as gerações seguintes (STERFLINGER, 2010).

É bem conhecido que os fungos são capazes de colonizar, alterar e degradar todos os tipos de materiais e peças de arte não são exceção. A literatura registra a deterioração de pinturas (VUKOJEVIĆ & GRBIĆ, 2010), esculturas de madeira (FAZIO et al., 2010), papel e materiais de pergaminho (SEQUEIRA et al., 2012, MICHAELSEN et al., 2013), têxtil (ABDEL-KAREEM, 2010) e filmes cinematográficos (VIVAR et al., 2013). Assim, a colonização fúngica de peças de arte em salas de museus, galerias ou em depósitos é um problema relevante para os profissionais que se dedicam a conservar ou restaurar esses materiais (STERFLINGER, 2010).

Quando um material é afetado por fungos, além do desenvolvimento das estruturas fúngicas, produtos de excreção do metabolismo como ácidos e pigmentos se acumulam nos materiais e são responsáveis pela descoloração e formação de manchas denominadas *foxing*, que alteram a estética do documento ou do objeto de arte (VASANTHAKUMAR et al., 2013). Esses metabólitos continuam a exercer uma ação deletéria mesmo depois dos fungos serem eliminados (ABDEL-KAREEM, 2010).

Segundo GRBIĆ et al., (2013) enquanto a biodeterioração de monumentos históricos de pedra e alvenaria, edifícios e afrescos, foi extensivamente estudada na última década ainda são escassos relatos sobre a contaminação de objetos de arte, livros e outros documentos conservados em museus, galerias ou em outros ambientes fechados.

Ressalte-se ainda que, alguns fungos envolvidos nessa deterioração podem representar um risco para os profissionais restauradores e os habituais

frequentadores do ambiente em que está localizada a obra de arte, devido à produção de micotoxinas. Essas substâncias entram no corpo através de inalação de esporos toxicogênicos e o contato dérmico direto, e podem causar várias doenças como, infecções das vias aéreas, micoses, asma e afetar o sistema imunológico (NIELSEN, 2003).

O controle das condições ambientais, principalmente temperatura e umidade, é fundamental para inibir a contaminação fúngica, no entanto, uma vez que a mesma tenha se instalado, o conhecimento do tipo de fungo e de substâncias químicas, que sejam inócuas para o documento a ser recuperado e eficiente contra o micro-organismo contaminante, é fundamental para recuperação/restauração desses materiais (MONTANARI et al., 2012).

Levando-se em conta, que no Brasil, principalmente nos Estados da região Nordeste, onde o clima tropical, quente e úmido, aliado aos elevados índices de salinidade no ar favorece o desenvolvimento dos fungos, e que a padronização de concentrações mínimas dos agentes químicos usados para combater infecções fúngicas, é economicamente importante e reduz à seleção de linhagens de fungos resistentes, esse trabalho teve por objetivos isolar e caracterizar fungos filamentosos de material bibliográfico, artístico, fotográfico, científico, histórico e documental do Estado do Ceará, determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) de lysoform e etanol, substâncias amplamente usadas para restauração de documentos e obras de arte e testar a susceptibilidade dessas concentrações quando em contato direto com os fungos isolados.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostragem

As amostras, classificadas de acordo com as superfícies, como papel fotográfico, papel impresso e obras de arte em papel, pergaminho e madeira, foram coletadas em acervos, públicos e privados, nas cidades de Fortaleza e Sobral, no Estado do Ceará. Durante 12 meses bimestralmente, foram analisados um total de seis acervos localizados, sendo quatro localizados em três bairros da cidade de Fortaleza (Centro, Aldeota e Fátima) e dois nas cidades de Aracati e Sobral. Para coleta das amostras, *swabs* estéreis umedecidos em água destilada foram passados numa área de 2 cm<sup>2</sup> das superfícies onde foi identificado sinal de contaminação microbiológica. O material coletado foi inserido em tubo de ensaio e, em seguida, vedado para transporte ao Laboratório de Microbiologia Ambiental do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará (UFC). Foram tomadas as devidas precauções para que não ocorresse contaminação durante a etapa de coleta e transporte, sendo fundamentais as condições de esterilização, assepsia e o não contato manual com o material coletado conforme GUERRA et al., (2012).

No momento da coleta foi aplicado um questionário para os profissionais responsáveis pela manutenção do acervo relativa à localização, condições ambientais, identificação e características da contaminação.

### Isolamento e identificação de fungos

O material coletado foi semeado em placas de Petri com meio de cultura batata dextrose ágar (BDA), adicionado de estreptomina. As placas foram

incubadas a temperatura de 28 °C. Após sete dias de cultivo as colônias foram semeadas individualmente em placas de Petri contendo Sabouraud dextrose ágar (SDA) para melhor visualização de suas características macroscópicas. Estes isolados foram submetidos ao método de microcultivo em lâmina para observação ao microscópio óptico com o corante Lactofenol Cotton Blue (Sigma) usando-se BDA para a produção de elementos de frutificação que permitissem sua identificação a nível de gênero e, quando possível, de espécie (WATANABE, 2002). Esporos dos fungos isolados cultivados em pedaços de batata dextrose ágar (BDA) foram mantidos em tubos com salina fisiológica estéril (NaCl 0,85%), recobertos com óleo mineral na coleção de culturas do Laboratório de Microbiologia Ambiental da Universidade Federal do Ceará.

### **Preparo do inóculo**

Cada fungo isolado foi cultivado em tubos contendo (SDA) que foram incubados a 25° C por 72 horas. As colônias fúngicas foram cobertas com 5 mL de salina fisiológica estéril (NaCl 0,85%), e, a seguir, homogeneizadas gentilmente com pipeta Pasteur. A mistura de hifas e conídios foi transferida para tubos cônicos esterilizados e deixada em repouso por 20 minutos para sedimentação. O sobrenadante foi removido por aspiração, transferido para outro tubo, e a densidade do inóculo foi ajustada para 68-70% de transmitância em 530 nm, em espectrofotômetro (Bausch & Lomb). Essa suspensão foi diluída, de modo a obter uma concentração final próxima de 10<sup>4</sup> UFC (Unidade Formadora de Colônia) /mL. Essa concentração foi conferida por meio do plaqueamento de 10 µL do inóculo preparado em SDA e contagem do número de colônias (ALMEIDA et al., 2009).

### **Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs) de lysoform e etanol para os fungos isolados**

A concentração inibitória mínima (CIM) visa determinar a menor concentração de um agente químico para inibir o crescimento dos micro-organismos testes. Segundo a ficha preenchida pelos restauradores as substâncias lysoform (formaldeído 10%, etanol 10% e cloreto de benzalcônio de lauril dimetila 7,5%) e etanol PA estão entre as mais utilizadas para eliminar a contaminação fúngica de documentos e obras de arte. As referidas substâncias são aplicadas topicamente sobre o papel em solução a 50%.

O método empregado para determinar as CIMs desses agentes químicos foi o da diluição em tubos de acordo com o protocolo recomendado pelo CLSI, (2008). Nessa técnica foi avaliada também a concentração fungicida mínima (CFM).

Considerando-se que os restauradores aplicam o lysoform e o etanol, empiricamente, nas concentrações de 50%, as substâncias originais foram diluídas em caldo Sabouraud em concentrações decrescentes de 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 e 1:64, correspondentes a concentrações de 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,25% e 1,56%. Um tubo contendo somente caldo Sabouraud foi usado como controle. Os tubos, nas respectivas concentrações, foram inoculados com 10<sup>4</sup> UFC/mL de cada fungo isolado, que foram incubados a 28 °C por 48 horas. Após a incubação foi avaliado o crescimento microbiano pela presença de turvação do meio de cultura. A menor concentração de lysoform e de etanol capaz de inibir o crescimento microbiano foi considerada como CIM.

Para avaliar a concentração fungicida mínima, as culturas procedentes das diluições nas quais não foi detectado crescimento microbiano, foram inoculadas em

SDA e após incubação, a 28 °C por 48 horas foi realizada a leitura para verificar em qual diluição ocorreu ausência do crescimento microbiano, ou seja, a atividade fungicida do agente químico. Todos os isolados foram avaliados em triplicatas.

### **Susceptibilidade dos fungos isolados ao lysoform e etanol nas respectivas Concentrações Fungicidas Mínimas**

A susceptibilidade de cada fungo isolado foi avaliada frente às substâncias lysoform e etanol nas respectivas CBMs pelo teste de difusão em ágar (antifungigrama). Água destilada foi usada como controle. Nessa técnica, discos de 6 mm de diâmetro foram imersos nas soluções correspondentes e na água destilada. Esses discos foram dispostos em placas de Petri com SDA, previamente inoculadas com o isolado fúngico ( $10^4$  UFC/mL), de tal forma, que a distância até a lateral da placa fosse maior que 15 mm, para evitar sobreposição das zonas de inibição. Essas placas foram invertidas e incubadas a 28°C por um período de 4-7 dias. Todos os isolados foram avaliados em triplicatas. Após esse tempo foi observada a presença/ausência de zonas de inibição. No caso da presença, foi realizada a medida do diâmetro dos halos de inibição em milímetros (mm). Como não se dispõe na literatura de uma medida limite que represente sensibilidade para as substâncias avaliadas, convencionou-se que a presença de halo de inibição representou sensibilidade à substância testada enquanto a ausência foi caracterizada como resistência conforme NWEZE et al., (2010).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os valores médios de temperatura e umidade relativa do ar nos locais de coleta foram de 31,4°C e 58%, respectivamente. MONTANARI et al., (2012) destacam que a *International Federation of Library Associations* (IFLA) recomenda temperaturas entre 18 °C a 20 °C e umidade relativa do ar entre 50% a 60% para efetiva preservação de documentos e periódicos em bibliotecas. Na prática, esses autores destacam que mesmo com ar condicionado é difícil manter estável os citados índices. No presente estudo, embora o valor médio da umidade relativa do ar estivesse dentro dos limites sugeridos pela literatura, a medida da temperatura ambiente estava muito acima do valor recomendado o que provavelmente contribuiu para o desenvolvimento dos fungos nas superfícies dos materiais avaliados. Seria recomendável estabelecer um controle efetivo para reduzir e manter estável o referido parâmetro.

A partir das superfícies dos diferentes materiais, procedentes de cada ponto de coleta, foram selecionadas colônias com diferentes características macroscópicas, perfazendo um total de 34 isolados. A técnica de microcultivo permitiu a identificação a nível de gênero/espécie conforme apresentado no quadro 1, que também apresenta a distribuição de isolados por ponto de coleta e superfícies amostradas.

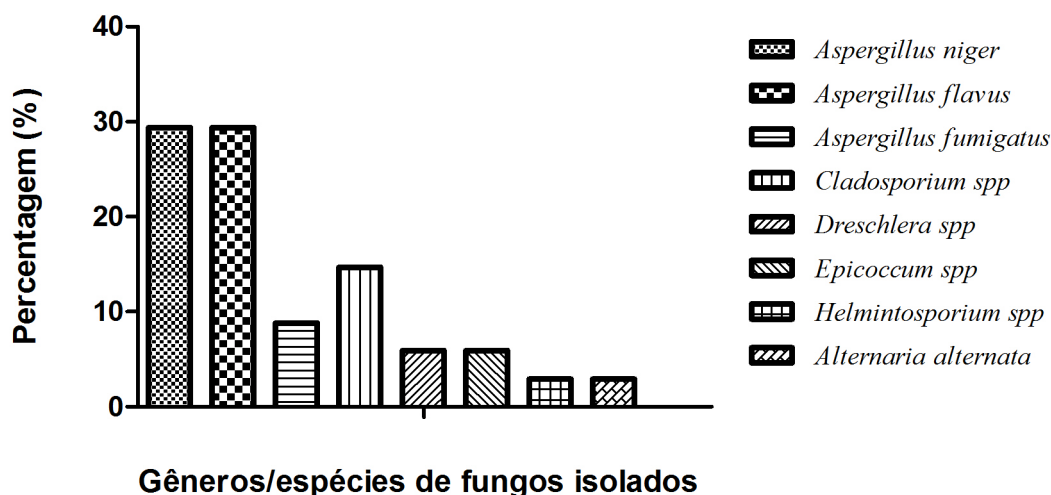
**QUADRO 1-** Distribuição e identificação dos isolados fúngicos por pontos de coleta, e materiais amostrados.

Locais de coleta	Material	Gêneros/Espécies
<b>Acervo público</b> <b>(Fortaleza-Centro e Aldeota)</b>	Pinturas (quadros)	(8) <i>Aspergillus flavus</i> * (1) <i>Aspergillus niger</i>
	Livro impresso	(1) <i>Dreschlera</i> spp (1) <i>Helminthosporium</i> spp (1) <i>Epicoccum</i> spp
		<b>Semi-total</b>
<b>Acervo público</b> <b>(Fortaleza - Bairro de Fátima)</b>	Litografia – papel (fibras de madeira)	(2) <i>Aspergillus niger</i> *
	Aculica- papel (fibras de madeira)	(1) <i>Dreschlera</i> spp
	Quadro-(papel madeira)	(1) <i>Aspergillus fumigatus</i>
<b>Semi -total</b>		04
<b>Acervo particular</b> <b>(Fortaleza-Aldeota)</b>	Obra de arte (papel madeira)	(1) <i>Aspergillus fumigatus</i>
	Livro impresso (papel madeira)	(1) <i>Cladosporium</i> spp
<b>Semi -total</b>		02
<b>Acervo público</b> <b>(Aracati)</b>	Papel fotográfico	(1) <i>Aspergillus niger</i> *
	Livro impresso celulose (madeira)	(1) <i>Aspergillus fumigatus</i> (2) <i>Aspergillus niger</i> * (1) <i>Alternaria alternata</i>
		Pergaminho papel (madeira)
<b>Semi-total</b>		07
<b>Acervo público</b> <b>(Sobral)</b>	Livros impressos	(4) <i>Cladosporium</i> spp* (2) <i>Aspergillus niger</i> (2) <i>Aspergillus flavus</i> (1) <i>Epicoccum</i> spp
<b>Semi-total</b>		09
<b>Total de isolados</b>		<b>34</b>

\*Gênero/Espécie dominante em cada ponto

Observa-se que a maior diversidade fúngica foi observada no ponto de coleta 1, possivelmente em decorrência da maior abrangência amostral do referido ponto. A menor diversidade correspondeu no atelier particular (ponto 3).

Os isolados foram identificados a nível de gênero e, quando possível, de espécie como: *Aspergillus niger* (29,4%), *Aspergillus flavus* (29,4%), *Aspergillus fumigatus* (8,8%), *Cladosporium* spp (14,7%), *Dreschlera* spp (5,9%), *Helminthosporium* spp (5,9%), *Epicoccum* spp (2,9%) e *Alternaria alternata* (2,9%) (Figura 1). Foram identificados oito diferentes gêneros/espécies de fungos e o gênero *Aspergillus* foi predominante nos materiais examinados (67,6%), Embora as espécies *A. niger* e *A. flavus* tenham sido detectadas no mesmo percentual a primeira esteve presente nos quatro dos cinco pontos de coleta enquanto a segunda somente em dois (Quadro 1).



**FIGURA 1** Percentual dos gêneros/espécies de fungos filamentosos isolados das superfícies de documentos e obras de arte de acervos do Estado do Ceará

KONKOL et al., (2010) em estudo sobre fungos em superfícies de materiais de bibliotecas encontraram a predominância da espécie *Aspergillus niger*. ROSA et al., (2008) relataram a dominância do gênero *Aspergillus* em acervo da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiânia. Resultado similar foi registrado por MONTANARI et al., (2012) que avaliaram a contaminação fúngica em livros de bibliotecas na Itália. GRBIĆ et al., (2013) registraram o fungo *Aspergillus niger* como dominante em superfícies de fotografias em museu de arte contemporânea em Belgrado. No presente trabalho, cinco isolados foram identificados como pertencentes ao gênero *Cladosporium*, que foi dominante nos materiais procedentes do acervo de Sobral. MESQUITA et al., (2009) reportaram esse gênero como o mais comum em superfícies de materiais do acervo da Universidade de Coimbra. RIBEIRO (2013) reportou que em relação a 33 gêneros de fungos evidenciados em livros de bibliotecas, os gêneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Epicoccum* e *Trichoderma* foram às variedades mais evidenciadas na contaminação de acervos bibliotecários.

Os gêneros *Cladosporium*, *Dreschlera* e *Epicoccum* em dois locais de coleta. *Helminthosporium spp* e a espécie *Alternaria alternata* foram encontrados somente em um dos pontos de amostragem. O gênero/espécie dominante também foi variável para cada ponto amostrado. GUGLIELMINETTI et al., (1994) relataram uma evidente variação entre as espécies de fungos identificadas a partir de amostras do Mosteiro de São Damião, em Assis, na Itália. Por outro lado, JEFFRIES (1986) reportou que apenas uma espécie de fungo foi repetidamente isolada a partir de um mural na Catedral de Canterbury. Analogamente, NUGARI et al., (1993) identificaram apenas uma espécie de *Cladosporium* em afrescos danificados de uma igreja italiana.

CIFERRI (1999) discute que embora a microbiota colonizadora de uma obra de arte varie com a composição química da superfície amostrada, fatores externos, como a idade da obra de arte, pode alterar as estruturas químicas de alguns dos componentes do substrato modificando a superfície a ser avaliada. Tais variações são resultantes de modificações na composição química do substrato, para a qual os próprios micro-organismos podem ter contribuído.

A identificação dos micro-organismos presentes em livros, documentos e obras de artes é importante para indicar o tratamento químico que vai interromper a colonização microbiana antes que o dano se torna visível e irreversível.

A concentração inibitória mínima e concentração fungicida mínima do lysoform e do etanol foi 1:4 (25%) para todos os fungos isolados. Embora esse resultado seja decorrente de testes *in vitro* eles indicam que as substâncias em questão podem ser aplicadas em concentrações duas vezes menores que as utilizadas pelos restauradores.

Como a aplicação do lysoform e do etanol é feita diretamente nas superfícies dos materiais contaminados, referidos agentes foram avaliados pelo teste de difusão em ágar na qual os agentes antimicrobianos são aplicados diretamente sobre discos de papel. As substâncias lysoform e etanol foram testadas individualmente e associadas nas CFMs previamente determinadas pela técnica de difusão em ágar. Por essa técnica, não foi observado halo de inibição para nenhum dos isolados avaliados. Como o etanol age sobre fungos, afetando a permeabilidade da membrana citoplasmática, promovendo à desintegração da célula (BACÍLKOVÁ, 2008), é possível conjecturar, que a evaporação do álcool etílico tenha sido o fator responsável pela ausência de zonas de inibição. Essa hipótese é corroborada por NITTÉRUS (2000), segundo esse autor a imersão das culturas no etanol apresenta maior eficiência do que pulverização possivelmente devido a um maior contato com os micro-organismos com a solução antes da evaporação.

Por outro lado, os álcoois, incluindo o etanol, quando aplicados por imersão, podem causar alterações no papel, por extração dos componentes solúveis. Outras modificações, especialmente em papéis transparentes, incluem a perda de brilho, opacidade e dissolução de materiais adesivos e vedantes (BACÍLKOVÁ, 2008).

Considerando que os restauradores aplicam o etanol na concentração de 50% (v/v), duas vezes maior que CIM testada no presente estudo, diretamente sobre as superfícies a serem tratadas, é importante reavaliar o método de aplicação e as modificações promovidas pela citada substância.

Para o teste de difusão em ágar do lysoform na CFM de 25% os isolados apresentaram zonas de inibição que variaram de 12 mm a 38 mm confirmando a eficiência dessa concentração para todos os gêneros/espécies fúngicas avaliadas (Tabela 1).



**TABELA 1** Medidas dos diâmetros dos halos de inibição dos agentes químicos lysoform e etanol individualmente na concentração de 25% e associadas na mesma concentração

<b>Isolados fúngicos</b>	<b>Halo de inibição (mm) Lysoform 25%</b>
<b>Ponto de coleta 1</b>	
<i>A. flavus</i>	21
<i>A. flavus</i>	34
<i>A. flavus</i>	21
<i>A. flavus</i>	28
<i>A. flavus</i>	38
<i>A. flavus</i>	16
<i>A. flavus</i>	25
<i>A. flavus</i>	54
<i>A. niger</i>	14
<i>Dreschlera</i> spp	17
<i>Helminthosporium</i> spp	18
<i>Epicoccum</i> spp	12
<b>Ponto de coleta 2</b>	
<i>A. niger</i>	18
<i>A. niger</i>	16
<i>A. fumigatus</i>	17
<i>Dreschlera</i> spp	36
<b>Ponto de coleta 3</b>	
<i>A. fumigatus</i>	20
<i>Cladosporium</i> spp	12
<b>Ponto de coleta 4</b>	
<i>A. niger</i>	17
<i>A. niger</i>	16
<i>A. niger</i>	15
<i>A. niger</i>	17
<i>A. niger</i>	14
<i>A. fumigatus</i>	23
<i>A. alternata</i>	15
<b>Ponto de coleta 5</b>	
<i>Cladosporium</i> spp	14
<i>Cladosporium</i> spp	12
<i>Cladosporium</i> spp	14
<i>Cladosporium</i> spp	13
<i>Aspergillus niger</i>	15
<i>Aspergillus niger</i>	17
<i>Aspergillus flavus</i>	16
<i>Aspergillus flavus</i>	18
<i>Epicoccum</i> spp	13

Os halos de inibição dos isolados de *A. flavus* procedentes do ponto de coleta 1 variaram de 16 mm a 54 mm, indicando linhagens diferentes quanto susceptibilidade ao lysoform a 25%, no mesmo ponto de coleta. Esse resultado reforça a importância de conhecer a microbiota contaminante para estabelecer um tratamento efetivo.

No ponto de coleta 4, onde foi maior a quantidade de isolados de *A. niger*, a variação dos diâmetros dos halos de inibição foi de 14mm a 17mm sugerindo tratar-se da mesma linhagem. Por outro lado, nos demais locais de coleta a espécie *A. niger* exibiu zonas de inibição semelhantes.

A investigação sobre a biodeterioração por fungos ainda é baseada principalmente nos métodos de cultivo clássicos usando meios de cultura padronizados. Em contraste com as bactérias, para as quais é geralmente aceito que os métodos de cultivo recuperaram menos de 1% do total presente em amostras ambientais, a taxa de recuperação de fungos é maior do que 70%. Por esse motivo, abordagens de cultivo como a desse estudo são extremamente úteis em micologia (STERFLINGER, 2010), permitindo o estabelecimento de ações para recuperação de acervos de arte e, em consequência, contribuindo para a manutenção de um ambiente saudável para os funcionários e os usuários desses espaços.

## CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo são extremamente relevantes, uma vez que ainda são raros estudos sobre a microbiota contaminante de objetos de arte, livros e documentos, oriundos de ambientes fechados. Por outro lado, considerando-se que a restauração tem por objetivo a recuperação de obras de arte, com o mínimo de prejuízo à sua integridade estética e histórica, é inquestionável a importância de pesquisas que apontem concentrações de substâncias químicas mínimas efetivas no combate a contaminação fúngica.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Everardo Albuquerque Menezes pelo auxílio na identificação dos fungos isolados e aos gestores dos acervos culturais pela disponibilidade no desenvolvimento desse trabalho.

## REFERÊNCIAS

ABDEL-KAREEM, O. Monitoring, controlling and prevention of the fungal deterioration of textile artifacts in the museum of Jordanian heritage. **Mediterranean Archaeology and Archaeometry**, v. 10, n.2, p. 85-96, 2010.

ALMEIDA, L. M. M.; BIANCHIN, D. B.; SOUZA, E. A. F.; SVIDZINSKI, T. I. E. *In vitro* response of cutaneous mycosis fungal agents to the most widely used systemic antifungals in dermatology. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v. 84, n.3, p.:249-255, 2009.

BACÍLKOVÁ, B. Study on the effect of butanol vapours and other alcohols on fungi. **Restaurator**, v. 27, n.3, p. 186-199, 2008.

CIFERRI, O. Microbial Degradation of Paintings. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, n.3, p. 879-885, 1999.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi;

Approved standard, 2nd ed, CLSI document M38-A2, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA 2008.

FAZIO, A. T.; PAPINUTTI, L.; GÓMEZ, B. A.; PARERA, S. D.; RODRÍGUEZ ROMERO, A.; SIRACUSANO, A. G.; MAIER, M. S. Fungal deterioration of a Jesuit South American polychrome wood sculpture. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 64, n.8, p. 694-701, 2010.

GRBIĆ, M. L.; STUPAR, M.; VUKOJEVIĆ, J.; MARIČIĆ, I.; BUNGUR, N. Molds in museum environments: Biodeterioration of art photographs and wooden sculptures. **Archives of Biological Science Belgrade**, v. 65, n.3, p. 955-962, 2013.

GUERRA, F. L.; CUNHA, E. G.; da SILVA, A. C. S. P.; KNOP, S. Analysis of the favorable conditions for mold formation in historical building of Pelotas, RS, Brazil. **Ambiente Construído**, v. 12, n.4, p. 7-23, 2012.

GUGLIELMINETTI, M.; DE GIULI MORGHEN, C.; RADAELLI, A.; BISTONI, F.; CARRUBA, G.; SPERA, G.; CARETTA, G. Mycological and ultrastructural studies to evaluate biodeterioration of mural paintings. Detection of fungi and mites in frescos of the monastery of St. Damian in Assisi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 34, n.3, p. 269-283, 1994.

JEFFRIES, P. Growth of *Beauvaria alba* on mural paintings in Canterbury Cathedral. **International Biodeterioration**, v. 22, n.1, p.11-13; 1986.

KONKOL, N.; MCNAMARA, C. J.; MITCHELL, R. Fluorometric detection and estimation of fungal biomass on cultural heritage materials. **Journal of Microbiological Methods**, v. 80, n.2, p. 178-82, 2010.

MESQUITA, N.; PORTUGAL, A.; VIDEIRA, S.; RODRÍGUEZ-ECHEVERRÍA, S.; BANDEIRA, A. M. L.; SANTOS, M. J. A.; FREITAS, H. Fungal diversity in ancient documents. A case study on the Archive of the University of Coimbra. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 63, p. 626-629, 2009.

MICHAELSEN, A.; PINZARI, F.; BARBABIETOLA, N.; PIÑAR, G. Monitoring the effects of different conservation treatments on paper-infecting fungi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 84, p. 333-341, 2013.

MONTANARI, M.; MELLONI, V.; PINZARI, F.; INNOCENTI, G. Fungal biodeterioration of historical library materials stored in Compactus movable shelves. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 75 (2012) p: 83-88, 2012.

NIELSEN, K. F. Mycotoxin production by indoor molds. **Fungal Genetics and Biology**, v. 39, p. 103-117, 2003.

NUGARI, M. P.; REALINI, M.; ROCCARDI, A. Contamination of mural paintings by indoor airborne fungal spores. **Aerobiologia**, v. 9, n.2-3, p. 131-139, 1993.

NWEZE, E. I; MUKHERJEE, P. K.; GHANNOUM, M. A. Agar-based disk diffusion

assay for susceptibility testing of dermatophytes. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n.10, p. 3750-3752, 2010.

NITTÉRUS, M. Ethanol as fungal sanitizer in paper conservation. **Restaurator**, v. 21, n.2, p. 101-115, 2000.

RIBEIRO, E. L. Fungos na biodeterioração de livros em ambientes bibliotecários nos últimos 35 anos (1977-2012). **Revista Brasileira de Biblioteconomia e Documentação**, v. 9, n.1, p. 17-27, 2013.

ROSA, H.; LEMOS, J. A.; COSTA, C. R.; SILVA, M. R. R.; FERNANDES, O. F. L. Ocorrência de fungos filamentosos em acervo da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás. **Revista de Patologia Tropical**, v. 37, n.1, p. 65-69, 2008.

SEQUEIRA, S.; CABRITA, E. J.; MACEDO, M. F. Antifungals on paper conservation: An overview. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 74, p. 67-86, 2012.

STERFLINGER, K. Fungi: Their role in deterioration of cultural heritage. **Fungal Biology Reviews**, v. 24, p. 47-55, 2010.

VASANTHAKUMAR, A.; de ARAUJO, A.; MAZUREK, J.; SCHILLING, M.; MITCHELL, R. Microbiological survey for analysis of the brown spots on the walls of the tomb of King Tutankhamun. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 79, p. 56-63, 2013.

VIVAR, I.; BORREGO, S.; ELLIS, G.; MORENO D. A.; GARCÍA, A. M. Fungal biodeterioration of color cinematographic films of the cultural heritage of Cuba. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 84, p.372-380, 2013.

VUKOJEVIĆ, J; GRBIĆ, M. L. Moulds on paintings in Serbian fine art museums. **African Journal of Microbiology Research**, v. 4, n.13, p. 1453-1456, 2010.

WATANABE, T. **Soil and seed fungi. Morphologies of cultured fungi and key to species**, second ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 2002.