



**ENERGÉTICA**  
Qualidade do Ar

ENERGÉTICA IND.E COM. LTDA.  
Rua Gravataí, 99 – Rocha  
CEP 20975-030 Rio de Janeiro – RJ  
CNPJ 29.341.583/0001-04 – IE 82.846.190  
Fone: (0xx21) 2501-1998; Fax: (0xx21) 2241-1354

# ***AMOSTRADOR DE BIOAEROSOL DE 6 ESTÁGIOS***

## ***BIOAERO6***

# ***MANUAL DE OPERAÇÃO***

**Responsável:**

José Walderley Coêlho Dias

## ÍNDICE

Seção	Descrição	Pág.
<b>1.0</b>	<b>Introdução</b>	1.1
<b>2.0</b>	<b>Princípios, Métodos e Aplicações</b>	2.1
2.1	Resumo do Método	2.1
2.2	Aerossóis Biológicos	2.2
2.3	O Trato Respiratório	2.2
2.4	Impactador Inercial	2.4
2.5	Vazão Operacional	2.6
2.6	Padrões e Normas	2.6
2.7	Aplicações	2.8
<b>3.0</b>	<b>O Equipamento</b>	3.1
3.1	O Conjunto Completo para Amostragem	3.1
3.2	Impactador de 6 Estágios	3.1
3.3	Bomba de Vácuo	3.4
3.4	Mangueira de Conexão	3.4
3.5	Gabinete de Alumínio	3.5
3.6	Tubo Suporte do Impactador	3.5
3.7	Rotâmetro (Verificador de Campo)	3.5
3.8	Contagem do Tempo	3.5
3.9	Energização	3.8
3.10	Placas de Petri	3.8
<b>4.0</b>	<b>Preparação das Placas</b>	4.1
4.1	Procedimentos	4.1
4.2	Regras Gerais para Meios de Cultivo	4.1
<b>5.0</b>	<b>Amostragem</b>	5.1
5.1	Instalação da Placa de Petri no BIOAERO6	5.1
5.2	Montagem e Instalação do BIOAERO6	5.1
5.3	Checação da Vazão	5.2
5.4	Coleta Propriamente Dita	5.2
<b>6.0</b>	<b>Incubação</b>	6.1

Continua

## ÍNDICE (continuação)

Seção	Descrição	Pág.
<b>7.0</b>	<b>Análise e Interpretação dos Dados</b>	7.1
7.1	Volume de Ar	7.1
7.2	Contagem de Colônias Totais	7.1
7.3	Porcentagem de Partículas Viáveis em Cada Faixa de Tamanhos	7.2
<b>8.0</b>	<b>Calibração</b>	8.1
8.1	Considerações Preliminares	8.1
8.2	Material para a Calibração	8.1
8.3	Esquema de Calibração	8.1
8.4	Realizando a Calibração	8.3
8.5	Frequência das Calibrações	8.4
<b>9.0</b>	<b>Manutenção</b>	9.1
9.1	Limpeza do Impactador	9.1
9.2	Bomba de Vácuo	9.1
9.3	Reposição/Acessórios	9.1
<b>10.0</b>	<b>Referências</b>	10.1
	Apêndice A - Exemplo do Certificado de Calibração da Vazão da Bomba de Vácuo	A.1
	Apêndice B - Folhetos de Amostrador de BIOAEROSSOL	B.1

## 1.0 INTRODUÇÃO

O teor microbiológico do ar tem crescido de importância à medida que cresce a exigência de ambientes “livres de contaminação”. Amostradores de partículas vivas têm sido utilizados para coletar e analisar espécies aeróbicas de bactérias e fungos, permitindo a avaliação dos riscos dos contaminantes vivos no ar à saúde humana em decorrência de sua deposição no trato respiratório humano.

Os amostradores por impactação seletiva de tamanhos, modelo Andersen, têm sido considerados referência mundial. São três os modelos oferecidos: de um estágio, também conhecido por modelo “N6”, de dois estágios e de seis estágios (ver descrição resumida dos três modelos no folheto incluído no anexo deste manual). O de 6 estágios é objeto deste manual.

O N6 foi especialmente projetado por pesquisadores do NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health) para atender às especificações formais mais atuais estabelecidas pelo Comitê de Bioaerossóis da ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists). A U.S. EPA (Environment Protection Agency), o OSHA (Occupational Safety and Health Act) e a FDA (Food and Drug Administration) fazem, em seus protocolos referentes a tamanhos de partículas, referências ao Impactador em Cascata, Modelo N6, da ex-Andersen.

No Brasil, os amostradores Andersen satisfazem plenamente os requisitos da Norma Técnica 001, da Resolução nº 9, de 16/01/2003, da ANVISA (ver Subseção 2.6.2).

O objetivo deste manual é permitir que o usuário opere adequadamente, conforme as normas em vigor, particularmente a Resolução nº 9, o Amostrador de Bioaerossol de 6 Estágios. O manual aqui apresentado é basicamente o manual original, em inglês da ex-Andersen. Entretanto, achamos por bem reformatá-lo de modo a incorporar as condições pertinentes brasileiras, mormente as que dizem respeito à Resolução nº 9 da ANVISA.

O Amostrador de Bioaerossol é conhecido também por outros nomes, quais sejam: Amostrador de Microorganismos, Amostrador de Aerossóis Vivos, Amostrador de Partículas Viáveis e outros. Neste manual, utilizaremos a denominação “Amostrador de Bioaerossol”. Por outro lado, vale frisar que quando nos referirmos a Amostrador de Bioaerossol, estaremos geralmente nos referindo ao trem de amostragem como um todo, inclusive bomba e conexões. Quando nos referirmos apenas à unidade de impactação, utilizaremos a denominação “Impactador de 6 Estágios”, ou simplesmente “Impactador”.

## 2.0 PRICÍPIOS, MÉTODOS E APLICAÇÕES

### 2.1 Resumo do Método

A coleta e análise das amostras de bioaerossol é muito simples e podem ser resumidas conforme abaixo:

1. Placas de coleta são preparadas pipetando-se, assepticamente, 27 ml de ágar bacteriológicamente estéril (45-50°C) em cada uma das seis placas de Petri de vidro fornecidas com o instrumento. As placas de Petri devem ser esterilizadas antes de receber o ágar. Placas de Petri que não sejam as fornecidas não podem ser usadas, visto que alterariam a distância entre o orifício de jateamento e a superfície de coleta de cada estágio.<sup>2</sup> Não se deve usar placas de Petri de plástico porque a carga estática gerada reduz a eficiência de coleta.<sup>3</sup>
2. Qualquer meio bacteriológico sólido, de uso geral, tal como o ágar de soja tripticase ou ágar de sangue pode ser usado nas placas de coleta. Não se recomenda meios seletivos visto que inibem a recuperação e o crescimento de células machucadas ou estressadas.
3. Uma placa de coleta, com a tampa removida, é inserida em cada estágio do instrumento de amostragem.
4. O ar a ser amostrado entra no cone de entrada e flui em cascata através dos estágios de orifícios que se seguem, com velocidades sucessivamente mais altas do estágio 1 ao estágio 6. Partículas sucessivamente menores são inercialmente impactadas nas superfícies de coleta do ágar.
5. Partículas viáveis são retidas nas placas com ágar, enquanto que o ar de exaustão é conduzido através da mangueira de vácuo até a fonte de vácuo (bomba).
6. Para máxima eficiência de coleta, o fluxo de ar do amostrador deve ser mantido constante a 28,3 l/min. Esta vazão constante é obtida com uma bomba de vácuo de regime contínuo, provida de uma válvula de controle ajustável.
7. Após terminada a amostragem, o tempo de amostragem é anotado, as placas de coleta com ágar são retiradas do instrumento de amostragem e as tampas são repostas em todas as placas da Petri. Cada placa é identificada com relação à amostra, bem como o número do estágio (por exemplo, 1-1, 1-2, 1-3 etc.).
8. Todas as placas com ágar, invertidas a fim de evitar gotejamento de condensação, são colocadas numa incubadora a 35°C por 18 a 24 horas. As placas podem ser incubadas à temperatura ambiente caso o usuário esteja mais interessado em bactérias ambientais, cuja temperatura de crescimento ótimo é mais baixa que a temperatura do corpo, ou, para máxima recuperação de fungos, na faixa de 20°C a 25°C.
9. Após a incubação, são contados, usando-se um contador de colônias bacteriais padrão, os números de colônias em cada placa.
10. Sabendo-se a vazão do ar de amostragem, é calculado o número médio de partículas viáveis (bactérias e/ou fungos aeróbicos) por unidade de volume do ar e, em seguida, calculada a percentagem de partículas em cada faixa.

## 2.2 Aerossóis Biológicos

Os aerossóis biológicos têm sido definidos como contaminantes biológicos viáveis na forma de partículas sólidas ou líquidas no ar. Essas partículas podem variar em tamanho, de vírus menores que 0,1  $\mu\text{m}$  (micrômetro) de diâmetro a esporos fúngicos com 100  $\mu\text{m}$  ou mais de diâmetro. Eles podem ocorrer na forma de organismos individuais e desagregados ou na de organismos agregados.

Os amostradores de partículas viáveis têm sido utilizados geralmente para coletar e analisar espécies aeróbicas de bactérias e fungos. Embora muitos amostradores de viáveis, incluindo os modelos Andersen, colem algumas partículas de vírus, não existe um método prático e adequado para o cultivo e enumeração dessas partículas.

Há duas limitações em amostradores de viáveis, que não existem na análise de aerossóis não-biológicos. Primeiro, a partícula deve ser separada do ar por meio de análise de viabilidade, e segundo, a capacidade para reprodução (viabilidade) deve ser demonstrada.

## 2.3 O Trato respiratório

O trato respiratório humano funciona como um sistema de classificação aerodinâmica para partículas em suspensão no ar. Pode-se utilizar um dispositivo de amostragem como substituto do trato respiratório, que colete partículas viáveis em suspensão no ar e reproduza a penetração dessas partículas nos pulmões. A fração de partículas de partículas inaladas retidas no sistema respiratório e o local de deposição variam com as propriedades físicas (tamanho, forma e densidade) das partículas caracterizadas por dimensões aerodinâmicas (Figura 2.1).

Visto ser conhecida a penetrabilidade no pulmão das partículas de densidade um e visto serem conhecidos os tamanhos das partículas coletadas em cada estágio, obtém-se, utilizando-se qualquer modelo-padrão do amostrador e seguindo-se os procedimentos-padrão de operação, o quanto a amostra teria penetrado no sistema respiratório em função da distribuição do material coletado nos estágios.

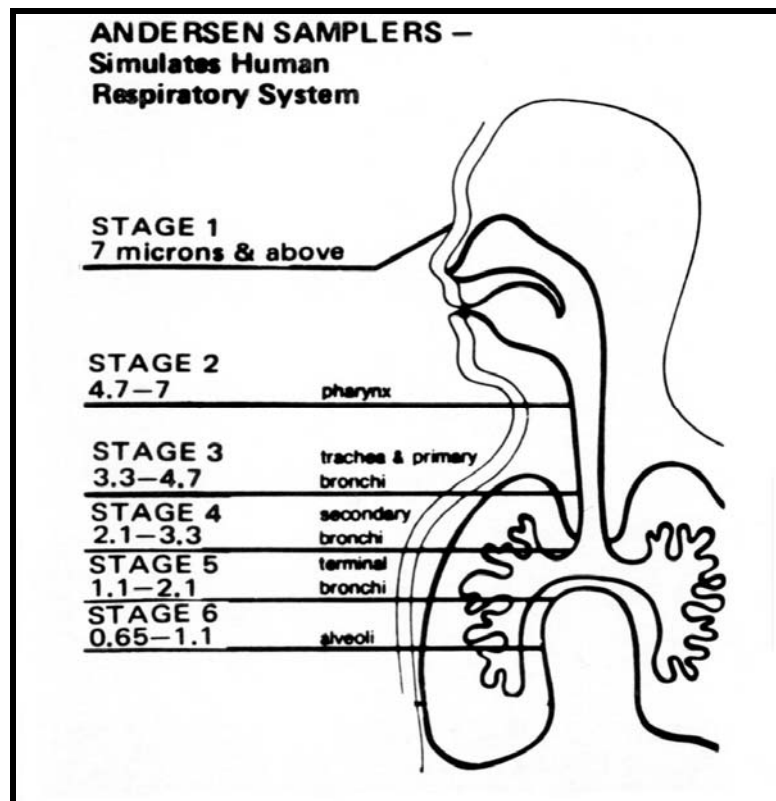
A eficiência de coleta (impactação) é aumentada pelos numerosos pequenos jatos circulares, que fornecem limites mais precisos para os tamanhos das partículas em cada estágio de impactação inercial.<sup>7</sup> Assim, o Amostrador de 6 Estágios, com 400 pequenos jatos circulares por estágio, satisfaz todos os critérios para a coleta eficiente de partículas viáveis em suspensão no ar. Em várias publicações, foi discutida a possível redução de eficiência em impactadores em cascata devido às partículas quicarem na superfície de impactação e possivelmente reentrarem e se perderem no ar de exaustão.<sup>8</sup> Este efeito é minimizado quando uma superfície de ágar grudenta é usada como meio de coleta.

O primeiro e mais fundamental trabalho sobre a teoria da impactação inercial foi conduzido no início da década dos 50 por Ranz e Wong.<sup>9</sup> Neste trabalho, Ranz e Wong mostraram que a coleta de uma partícula por um obstáculo é função do que é definido como parâmetro de impactação inercial:

$$k = \frac{C \rho U D_p^2}{18 \mu D_c}$$

onde  $U$  é a velocidade relativa,  $\rho$  é a densidade da partícula,  $D_p$  é o diâmetro da partícula,  $\mu$  é a viscosidade do gás,  $D_c$  é o diâmetro do jato circular e  $C$  é o fator de correção de escorregamento de Cunningham.

Dados de impactadores inerciais são normalmente apresentados como diâmetros de corte 50% efetivo. Para os impactadores modelo Andersen, contendo jatos circulares e superfícies de coleta planas, o diâmetro de corte 50% resultaria num valor de 0,14 para o parâmetro de impactação inercial  $k$ .



**Figura 2.1 Simulação do Sistema Respiratório Humano**

O fator de correção de escorregamento de Cunningham é igual a:

$$C = 1 + \frac{0,16 \times 10^{-4}}{D_p}$$

para temperaturas e pressões em condições normais. Este fator corrige para o fato de que à medida que os diâmetros das partículas se aproximam do caminho livre médio das moléculas de gás, as partículas tendem a "escorregar" mais facilmente entre as moléculas de gás, cruzando portanto mais facilmente as linhas de fluxo aerodinâmico. A eficiência de coleta é portanto levemente maior do que seria predita pela teoria da impactação inercial para diâmetros de partículas da ordem de 1 ou 2 micrômetros. A justaposição de tamanhos de partículas entre estágios, que é naturalmente inerente em todos os dispositivos de impactação em cascata, é minimizado por projeto nos amostradores modelo Andersen. Ranz e Wong (1952) afirmaram que, à medida que uma partícula passa através de um jato, sua proximidade ao eixo do jato é um dos fatores que determinam se - ou não - a partícula alcançará a superfície de impactação. Ao contrário de certos amostradores concorrentes, com grandes jatos retangulares, o amostrador modelo Andersen conta com 400 pequenos jatos circulares. O trajeto da partícula é assim confinado próximo ao eixo dos jatos. A distância média da partícula com relação ao eixo dos jatos é menor que a de outros impactadores. Ranz e Wong (1952) também afirmaram que jatos circulares apresentam cortes mais bem definidos do que os jatos retangulares. Teoricamente, portanto, o corte do amostrador modelo Andersen é mais bem definido.

Outra vantagem inerente dos amostradores modelo Andersen sobre os concorrentes é que tanto os impactadores de orifício circular único como os impactadores de múltiplos orifícios retangulares devem, por projeto, operar com velocidades mais altas nos orifícios. Isto resulta num fluxo mais turbulento, numa maior re-entrada e numa assimetria da distribuição de tamanhos para a extremidade de valores mais baixos (isto é, a distribuição de tamanhos indicada sendo menor do que realmente é).

## 2.4 Impactação Inercial

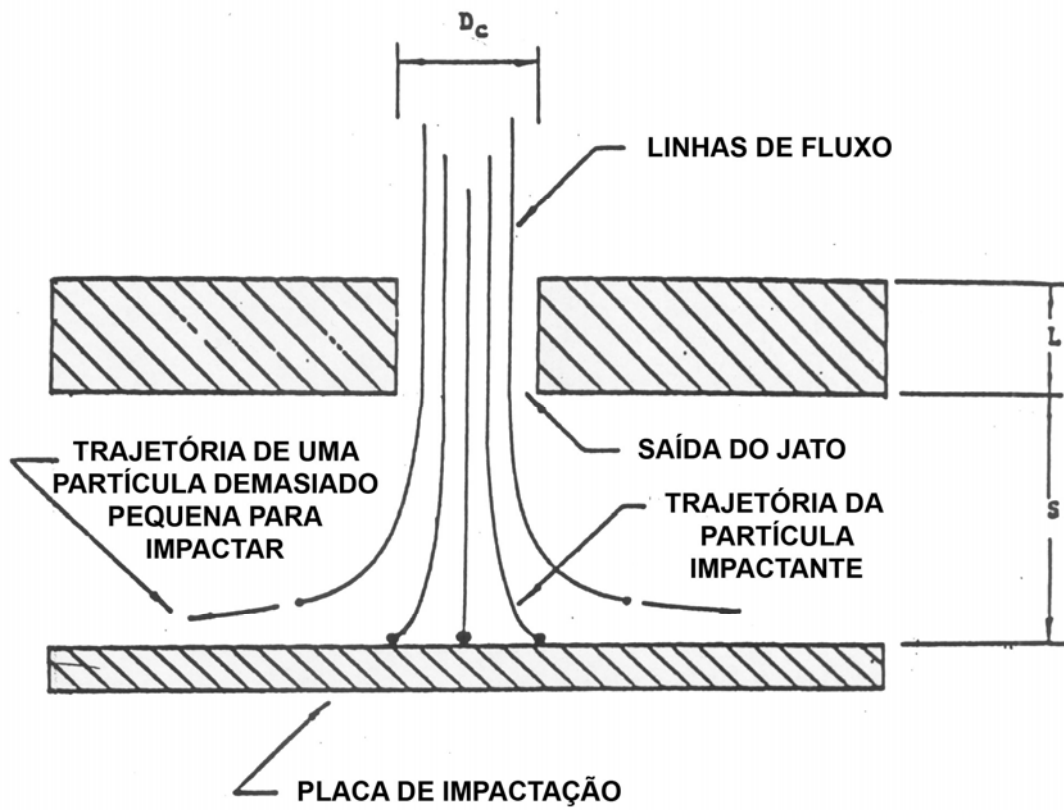
A seguir, uma descrição sumária de como funciona um impactador inercial com múltiplos estágios.

Suponhamos que um de aerossol seja arrastado por um fluxo de ar através de uma série consecutiva de orifícios, cada orifício com diâmetro progressivamente menor, e que uma superfície de impactação seja posicionada abaixo de cada orifício, a 90 graus com relação ao eixo do fluxo do aerossol. O fluxo de ar, ao passar pelo orifício, transfere, por efeito venturi, uma certa energia inercial à partícula. Quanto maior o diâmetro aerodinâmico, maior a energia absorvida pela partícula. As partículas maiores, com muita energia, se depositarão na superfície de impactação imediatamente abaixo, enquanto que as partículas menores se mantêm no fluxo de ar, dirigindo-se para os subseqüentes orifícios menores. Eventualmente, todas as partículas arrastadas pelo fluxo de ar serão depositadas sobre superfícies de impactação dentro da série, ou "cascata", de estágios de orifícios e superfícies de impactação.

A Figura 2.2 apresenta uma descrição pictórica de um estágio de impactação.

### **Diâmetro Aerodinâmico**

O tamanho da partícula é muito importante, visto que descreve o comportamento da partícula quando suspensa no ar ou outro gás. O diâmetro aerodinâmico, também expresso como diâmetro equivalente, é uma propriedade da partícula, que depende de sua inércia e do "arraste" aerodinâmico. O diâmetro aerodinâmico é um índice mensurável do comportamento inercial de uma partícula com forma irregular, comparado com uma partícula de referência de densidade unitária com o mesmo comportamento de "deposição". O diâmetro aerodinâmico é definido pelo tamanho, forma e massa da partícula.



**Figura 2.2 Esquema do Estágio de Impactação**

## 2.5 Vazão Operacional

Todos os modelos de impactador Andersen foram projetados para trabalhar com uma vazão de 28,3  $\ell$ /min. É permitido um valor para a vazão dentro da faixa de  $\pm 1 \%$ , ou seja, de  $(28,3 \pm 0,3)$   $\ell$ /min. Fora desta faixa, corre-se o risco de se trabalhar com faixas de tamanhos de partículas fora das faixas seletivas de projeto.

## 2.6 Padrões e Normas

### 2.6.1 Níveis para a Qualidade do Ar

Recomendações de níveis para as determinações da qualidade de ambientes internos, do controle da circulação de pessoas e da adequação dos sistemas de ar são apresentados na Tabela 2.1 (tirada do manual de operação da ex-Andersen).

**Tabela 2.1** Recomendações de Níveis para as determinações da Qualidade de Ambientes Interiores, do Controle da Circulação de Pessoas e da Adequação dos Sistemas de Ar (dados tirados do manual Andersen)

LOCAL	UNIDADES DE COLÔNIAS POR PÉ CÚBICO (por 28,3 litros) DE AR		TEMPO DE AMOSTRAGEM RECOMENDADO
	Nível Normal	Nível Aceitável	(Minutos)
Salas de operação	5-10	10	30
Neurocirurgia	0-1	4	45
Quartos de pacientes	10-20	20	15
Corredores	10-20	20	15
Áreas de distribuição de roupa de cama e mesa	18-50	75	5
Salas de parto	1-5	5	30
Salas estéreis	0-1	**	30-60
Salas limpas	0-5	**	30-60
Salas de controle de produtos	*	**	30-60
Áreas de preparação de alimentos	0-20	**	30-60
* Ausência de bactérias específicas, responsáveis por contaminação.			
** Varia - deve ser estabelecido pelo seu departamento de controle da qualidade			

### 2.6.2 Resolução nº 9 da ANVISA

A aplicação mais importante do Amostrador de Bioaerossol modelo Andersen no Brasil está formalizada na Norma Técnica 001, "Qualidade do Ar Ambiental Interior. Método de Amostragem e Análise de Bioaerossóis em Ambientes Interiores", contida na Resolução nº 9, estabelecida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em 16/01/2003, em substituição a de nº 176, 24/10/00. Abaixo, um resumo da norma técnica.

**Objetivo:** Pesquisa, monitoramento e controle ambiental da possível colonização, multiplicação e disseminação de fungos em ar ambiental interior.

**Definições:**

- Bioaerossol: Suspensão de microorganismos (organismos viáveis) dispersos no ar
- Marcador epidemiológico: Elemento aplicável à pesquisa, que determina a qualidade do ar ambiental
- Aplicabilidade: Ambientes de interior climatizados, de uso coletivo, destinados à ocupações comuns (não especial)
- Marcador epidemiológico: Fungos viáveis

**Método de amostragem:** Amostrador de ar por impactação com acelerador linear.

**Periodicidade:** Semestral.

**Requisitos técnicos do amostrador:** Ver Tabela 2.2

**Tabela 2.2 Requisitos da ANVISA para o Amostrador**

Amostrador	Impactador de 1, 2 ou 6 estágios
Meio de Cultivo	Ágar Extrato de Malte, Ágar Sabouraud Dextros a 4 %, Ágar Batata Dextose ou outro, desde que cientificamente validado.
Taxa de Vazão	23 a 25 $\ell$ /min, recomendado 28,3 $\ell$ /min
Tempo de Amostragem	10 min. Em áreas altamente contaminadas pode ser recomendável um tempo menor de amostragem.
Volume Mínimo	140 $\ell$
Volume Máximo	500 $\ell$
Embalagem e Transporte	Rotina de embalagem para proteção da amostra com nível de biossegurança 2 (recipiente lacrado, devidamente identificado com símbolo de risco biológico)
Calibração	Semestral
Exatidão	$\pm 0,02$ $\ell$ /min
Precisão	$\pm 99,92$ %

**Estratégia de amostragem:**

- Selecionar uma amostra de ar exterior (fora da estrutura predial), próximo à entrada da tomada de ar, à altura de 1,50 m do nível da rua.
- Selecionar ao menos uma amostra de ar interior por andar ou de cada área servida por um equipamento condicionador de ar. Para grandes áreas, recomenda-se os números mínimos de amostras apresentados na Tabela 2.3.

**Tabela 2.3 Número Mínimo de Amostras por Área Construída Exigido pela ANVISA**

Área Construída ( $m^2$ )	Número Mínimo de Amostras
3.000 a 5.000	8
5.000 a 10.000	12
10.000 a 15.000	15
15.000 a 20.000	18
20.000 a 30.000	21
Acima de 30.000	25

O amostrador deve estar localizado na altura de 1,50 m do solo, no centro do ambiente ou em zona ocupada.

## 2.7 Aplicações

Em geral, o Amostrador de Bioaerossol tem aplicação nas seguintes áreas (relação tirada do manual da ex-Andersen):

- Estudos da qualidade do ar em ambientes fechados
- Estudos da eficiência de filtros e salas limpas
- Produção farmacêutica
- Fermentação em cervejarias
- Clínicas veterinárias
- Processamento de alimentos
- Tratamento de esgotos
- Ambientes hospitalares
- Fabricação de cosméticos
- Processamento e transporte de grãos

Particularmente, em hospitais e maternidades:

- No controle da qualidade do ar.
- Na verificação de limpezas.
- Para estabelecer um conjunto de dados de referência para as amostragens em áreas críticas como CTIs, áreas de pacientes com queimadura, salas de operação e unidades de isolamento.
- Na investigação de princípios de infecções hospitalares.
- Para inspeções rotineiras de laboratórios bacteriológicos.

Em operações industriais:

- Para avaliar a integridade de sistemas de barreiras microbiológicas.
- No monitoramento de salas farmacêuticas esterilizadas, de salas de fermentação em cervejarias e de salas limpas aeroespaciais.
- Para reduzir infecções em clínicas veterinárias.
- Controle da qualidade em fábricas de processamento de alimentos.

Em inspeções de saúde pública:

- Para monitorar o ar em cozinhas de cantinas e restaurantes de escolas, bem como em outras instalações onde seja de interesse manter o ar livre de contaminação.

## **3.0 O EQUIPAMENTO**

### **3.1 O Conjunto Completo para Amostragem**

O conjunto padrão oferecido pela ENERGÉTICA para o Amostrador de Bioaerossol de 6 Estágios - BIOAERO6 - é constituído dos seguintes componentes:

- Impactador de seis estágios (Ver Subseção 3.2)
- Bomba de vácuo (Ver Subseção 3.3)
- Mangueira de conexão (Ver Subseção 3.4)
- Gabinete de alumínio (Ver Subseção 3.5)
- Tubo suporte do Impactador (Ver Subseção 3.6)
- Medidor de fluxo (rotâmetro) (Ver Subseção 3.8)

O BIOAERO6 é ilustrado na foto da Figura 3.1 e no folheto encontrado no Anexo deste manual. O conjunto todo pesa aproximadamente 11,5 kg. O gabinete mede 50 cm (altura) x 42 cm (largura) x 20 cm (fundo). O tubo suporte tem 1,5 m de comprimento.

Para a realização de uma amostragem, tem-se que, ao conjunto acima, acrescentar os seguintes acessórios:

- Cronômetro, para a medida do tempo de amostragem (ver Subseção 3.9)
- Placas de Petri (Ver Subseção 3.10)

Caso interesse aos clientes, os acessórios adicionais podem ser fornecidos pela ENERGÉTICA.

### **3.2 Impactador de 6 Estágios**

O Impactador de 6 Estágios é constituído de um cone de entrada, de seis estágios com orifícios e de uma placa base, todos de alumínio, fixados por três ganchos de pressão e vedados por juntas de o-ring. Cada estágio de amostragem possui 400 orifícios feitos com broca de precisão.

Quando o ar é sugado através dos orifícios do impactador, os jatos múltiplos de ar no estágio impulsionam todas as partículas em direção à superfície de coleta com ágar, abaixo do estágio. O tamanho dos orifícios de jateamento é constante dentro de cada estágio, mas vai diminuindo progressivamente de tamanho em cada estágio sucessivo. A faixa de tamanhos de partículas coletada em cada estágio depende da velocidade do jato do estágio e do corte do estágio anterior. Qualquer partícula não coletada no primeiro estágio segue a corrente de ar, contornando a borda da placa de Petri, para o próximo estágio.

Cada estágio contém 400 orifícios, com diâmetros na faixa de 1,81 mm no primeiro estágio a 0,25 mm no sexto estágio. Cada estágio tem uma placa de Petri removível, cada uma com tampa metálica, para transporte. A seção de exaustão do estágio tem um diâmetro aproximadamente 19 mm maior que o diâmetro da placa, o que permite que as partículas não impactadas contornem a placa e passem para fora através do orifício de exaustão no meio do fundo da placa base.(Fig. 3.2).

Cada Impactador possui sete o-rings: um entre o cone de entrada e o primeiro estágio, cinco entre os seis estágios e outro entre o último estágio e a placa base. Os o-rings ofertados são normalmente de neoprene.

O Impactador, completo, pesa 1,25 Kg (sem as placa de Petri) e mede 114,3 mm (diâmetro) x 196,8 mm (altura).

**Note-se na foto:**

- O gabinete apóia-se diretamente no piso
- A bomba encontra-se instalada dentro do gabinete
- O Impactador é enroscado no topo do tubo suporte
- A mangueira conecta o Impactador à bomba



**Figura 3.1 Foto do BIOAERO6 Pronto Para Amostragem**

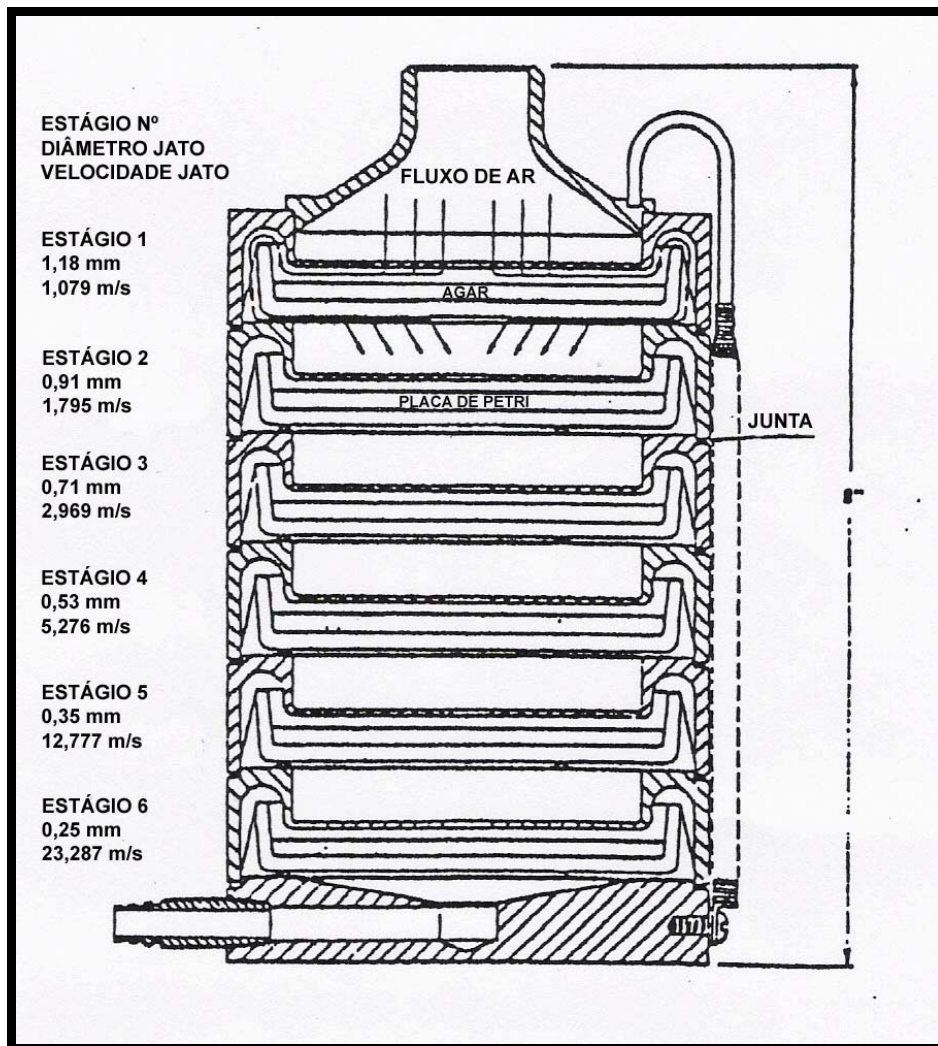


Figura 3.2 Impactador – Montado

As dimensões dos orifícios de jateamento e as respectivas faixas de tamanhos para cada estágio são:

ESTÁGIO	DIÂMETRO ORIFÍCIO (mm)	FAIXA DE TAMANHOS DE PARTÍCULAS (micrômetro)
1	1,18	7,0 e acima
2	0,91	4,7 - 7,0
3	0,71	3,3 - 4,7
4	0,53	2,1 - 3,3
5	0,35	1,1 - 2,1
6	0,25	0,65 - 1,1

### 3.3 Bomba de Vácuo

A bomba de vácuo normalmente ofertada pela ENERGÉTICA é da marca Gast, de palhetas, rotativa, dotada de válvula de ajuste da vazão, espigão para a mangueira de conexão, chave liga-desliga, alça e pés de borracha. A bomba tem capacidade de 40 ℓ/min em regime livre, podendo ser usada com sobra para a vazão de 28,3 ℓ/min exigida para o amostrador.

A válvula de ajuste instalada na bomba funciona mediante um parafuso: para aumentar a vazão, o parafuso é girado para dentro; para diminuir, é girado para fora. Após o ajuste, a válvula é travada. O travamento é feito com um lacre (normalmente araldite). Atenção: Não se esqueça de que a válvula tem de estar travada – e bem!

A bomba é do tipo seca (não requer lubrificação). Tem potência de 1/10 de HP, pesa 3,18 Kg e mede 24,1 cm (comprimento) x 14 cm (altura) x 11,4 cm (largura). Pode ser fornecida com 115 Vca ou 230 Vca. A bomba é garantida pelo fabricante original e não deve ser desmontada em qualquer hipótese.

A bomba de vácuo é ligada diretamente numa tomada existente no ambiente de amostragem. O cabo de força original tem 2,8 m de comprimento. A bomba é ligada e desligada manualmente, por meio de sua chave liga-desliga.

### 3.4 Manqueira de Conexão

O BIOAERO6 é normalmente fornecido com uma mangueira de ¼" de diâmetro e 160 cm de comprimento. Cabe aqui uma observação importante: A mangueira entre o Impactador e a Bomba tem que ser a mesma utilizada na calibração, seja de ¼" de diâmetro e 160 cm de comprimento, como recomendado, ou de dimensões diferentes, por exemplo, com maior diâmetro e menor comprimento.

A escolha do comprimento de 160 cm para a mangueira resulta do fato de que bomba fica ao nível do solo, enquanto que o impactador, por exigência de norma, fica a 1,5 m do solo. A Figura 3.1 ilustra o Amostrador com o tubo suporte. Detalhes do tubo suporte do Impactador são apresentados na Subseção 3.6.

Vale salientar que pode ser usada mangueira de até 15 m de comprimento, visto que a bomba fornecida tem capacidade de sobra para ainda manter a vazão de projeto (28,3 ℓ/min). De qualquer maneira, lembre que a mangueira utilizada nas amostragens deve ter as mesmas dimensões da que foi utilizada na calibração. Caso contrário, a vazão da bomba terá que ser verificada e reajustada.

### **3.5 Gabinete de Alumínio**

O Gabinete do BIOAERO6 é bastante prático, compreendendo dois compartimentos: um para a bomba de vácuo, e outro, forrado, para transporte do impactador, das placas de Petri, da mangueira de conexão e do rotâmetro. Ver Figura 3.3.

De alumínio anodizado, o gabinete é ainda dotado de alça (feita de tubo recartilhado), de uma tampa frontal com fechos, de 4 pés de borracha e de um tubo fixado atrás para encaixe do tubo suporte do impactador.

O gabinete mede 50 cm de altura, 43 cm de largura e 20 cm de fundo. Pesa cerca de 11,5 kg (incluindo a bomba).

### **3.6 Tubo Suporte do Impactador**

O tubo suporte do impactador serve para manter o Impactador a 1,5 m com relação ao solo, atendendo assim à exigência da Resolução nº 9 da ANVISA.

O tubo suporte é feito de alumínio, mede 1,5 m de comprimento e 19 mm de diâmetro (externo) e é provido, no topo, de uma ponta de latão cromado, rosqueada (macho), para a fixação do impactador (este vem com um furo rosqueado, fêmea, abaixo da placa base).

O tubo suporte é facilmente posicionado no local de amostragem, bastando, para isso, encaixá-lo num tubo de encaixe fixado atrás do gabinete de alumínio.

### **3.7 Rotâmetro (Verificador de Campo)**

É recomendado o uso de um rotâmetro – ou outro tipo de medidor de fluxo - para checar a vazão da bomba antes de cada amostragem. Deve ser enfatizado que o rotâmetro não é suficientemente exato para ser certificado contra padrões rastreáveis, porém é um instrumento útil para a verificação da vazão do trem de amostragem.

No trem de amostragem ofertado pela ENERGÉTICA, o rotâmetro não é peça fixa do amostrador, só sendo instalado por ocasião da verificação da vazão, caracterizando-se assim como um real “verificador de campo”.

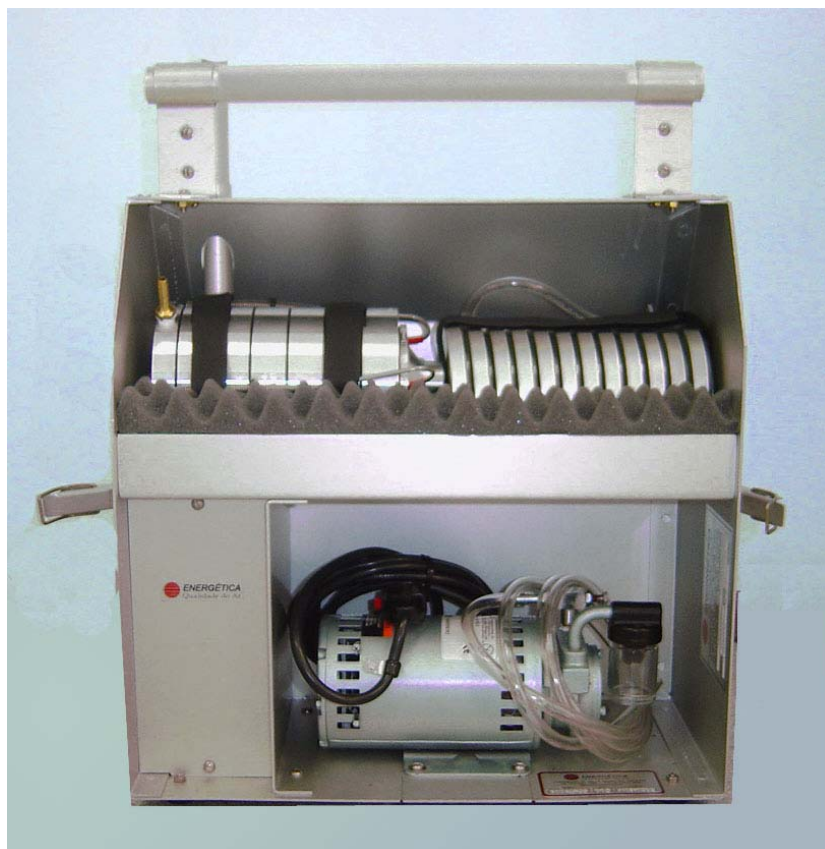
Para a verificação da vazão, o rotâmetro é encaixado no bocal do impactador, e, para isso, ele é dotado de uma rolha de borracha, fixada à sua base, como pode ser visto na Figura 3.3. Visto que o rotâmetro só é usado para a verificação da vazão, nem mesmo na calibração da vazão ele integra os sistema. Isto vai ser mostrado na Seção 8.0 (Calibração), com detalhes na Figura 8.1a.

Há, no mercado, outros modelos de amostrador de bioaerossol, em que o rotâmetro vem instalado de maneira permanente à entrada da bomba, ou seja, entre o impactador e a bomba. Neste caso, a vazão da bomba é calibrada com o rotâmetro instalado (ver Figura 8.1b).

O rotâmetro fornecido pela ENERGÉTICA vem com uma faixa de 5 a 50  $\ell/\text{min}$  na escala e é, conforme já citado acima, dotado de uma borracha cônica em sua extremidade inferior para encaixe na entrada do impactador (ver Figura 3.4).

### **3.8 Contagem do Tempo**

De acordo com a Norma Técnica 001 da Resolução nº 9 da ANVISA, o tempo recomendado para a coleta de fungos é de 10 min, podendo ser menor do que este valor, caso o ambiente esteja altamente contaminado. O tempo de amostragem é medido com um cronômetro de precisão.



**Figura 3.3 Gabinete com componentes do BIOAERO6**



**Figura 3.4 Rotâmetro Instalado no Bocal do Impactador**

Cuidado na conversão do tempo lido no cronômetro para minutos. Como exemplo, suponhamos a leitura "9:06,28" (que significa minuto, segundo e centésimo de segundo no cronômetro), a qual, após a conversão, torna-se "9,1046" minutos. É desta forma que o tempo entra na equação do cálculo do volume V, na Subseção 7.1.

### **3.9 Energização**

A bomba pode ser fornecida em 110 V ou 220 V. A bomba fornecida é dotada de uma chave liga-desliga no próprio cabo de força.

### **3.10 Placas de Petri**

As placas recomendadas devem ser vidro, lisas, reutilizáveis, com 90 mm de diâmetro interno e 15 mm de altura.

As placas devem ser previamente esterilizadas.

As placas de vidro são fornecidas pela ENERGÉTICA.

## 4.0 PREPARAÇÃO DAS PLACAS

### 4.1 Procedimentos

1. As placas de coleta são preparadas pipetando-se assepticamente 41 ml de um meio de cultura estéril (45 – 50 graus) em placa de Petri de vidro. Atenção: não devem ser usadas placas de plástico no BIOAERO6, pelas razões apresentadas na Seção 2.1.
2. Métodos comuns de detecção e enumeração têm sido normalmente utilizados para a coleta de fungos, bactérias e Actinomicetas termofílicas. Não se recomenda meios seletivos para a coleta de análise inicial, pois isto inibe a recuperação e crescimento de células danificadas e estressadas. Após coletados os organismos, pode-se replicar as placas em diferentes meios seletivos ou diferenciais.

### 4.2 Regras Gerais para Meios de Cultivo

**Fungos:** Tem-se, tradicionalmente, recomendado usar-se ágar de extrato de malte (AEM) com meio espectral para a coleta e enumeração de fungos. O AEM é um termo genérico e sua formulação varia de fornecedor para fornecedor. O ágar glicerol diclorano 18 (AGD-18) é também recomendado para fungos. Este meio é adequado para a maioria dos fungos, inclusive fungos xerófilos. O AGD-18 não tem a desvantagem do ágar “bengal” rosa (ABR). Antibióticos, como a estreptomina, podem ser adicionados ao meio a fim de inibir o crescimento da bactéria.

**Bactéria:** O ágar de soja triptica (tryptic soy agar - TSA), o ágar de petona soja caseína (casein soy petone agar - CSPA) e o ágar nutriente (nutrient agar - NA) são meios espectrais amplos para bactérias. Da mesma maneira que para fungos, pode-se adicionar substâncias químicas para restrição ao crescimento.

**Actinomicetas Termofílicas:** O CPSA, o ágar de fermento de glucose triptônica (tryptone glucose yeast agar), ou ágar de métodos padrão aka (aka standard method agar – SMA) e o ágar de contagem de placa padrão (standard plate count agar – SPC) são meios espectrais amplos.

## 5.0 AMOSTRAGEM

### 5.1 Instalação da Placa de Petri no BIOAERO6

Proceder da seguinte maneira:

1. Certificar-se de que os estágios do BIOAERO6 foram previamente limpos conforme as instruções da Subseção 9.1;
2. Numa bancada, abrir o impactador e soltar os três ganchos de pressão. Remover o bocal e os estágios de classificação (as placas com os 400 orifícios) do impactador e alojar uma placa de coleta, com sua tampa removida, sobre a placa base do impactador, onde há três pinos de alumínio. Centralizar a placa de coleta. Inserir o estágio 6 sobre a placa de coleta instalada na placa base. Coloque uma segunda placa de coleta no topo do estágio 6 e continue desta maneira até que todas as seis placas de coleta estejam posicionadas no amostrador. Certifique-se de que estejam bem instaladas, com os estágios comprimindo por igual os o-rings de vedação. Com as placas de orifícios devidamente instaladas, os conjuntos de orifícios ficam exatamente sobre as placas de coleta. Em seguida, pôr o bocal de volta e apertá-lo com os três ganchos.

Nota 1: Além das placas com o ágar, o usuário deve contar também com um conjunto de placas de Petri idênticas, vazias - podem ser de plástico - para checagem da vazão com o rotâmetro.

Nota 2: As placas com ágar (para a coleta) devem estar à temperatura ambiente antes de serem alojadas no trem de amostragem.

### 5.2 Montagem e Instalação do BIOAERO6

O trem de amostragem, compreendendo impactador, bomba de vácuo, mangueira de conexão, gabinete e tubo suporte, é montado e instalado conforme a Figura 3.1. Proceder como segue:

3. Instalar o gabinete no local pré-estabelecido do ambiente a ser monitorado, diretamente sobre o piso;
4. Retirar o tubo suporte de seu estojo de embalagem e encaixá-lo no tubo de encaixe atrás do gabinete, assegurando-se de que esteja firme e na posição vertical;
5. Retirar o impactador, já montado, com a placa contendo o ágar, de dentro do gabinete e rosqueá-lo no topo do tubo suporte. Apertar bem, assegurando-se de que esteja firme;
6. Retirar a mangueira de conexão (de 160 cm) do gabinete e encaixar suas extremidades no espigão do impactador e no espigão da bomba, respectivamente;
7. Procurar a tomada mais próxima, checar a voltagem (assegurando-se de que seja mesma do instrumento) e encaixar o pino da bomba;
8. Certificar-se de que tenha em mãos o rotâmetro (verificador de vazão), um cronômetro e uma folha de papel para anotar os dados de campo;
9. Feito isto, preparar-se para a checagem da vazão e em seguida iniciar a coleta.

### 5.3 Checagem da Vazão

Antes da amostragem propriamente dita, proceder a uma checagem da vazão da bomba, com o rotâmetro, como segue:

1. Instalar as placas de Petri sem ágar - pode ser placas de plástico - em todos os estágios do impactador, conforme procedimento da Subseção 5.1;
2. Instalar o rotâmetro no bocal do impactador conforme a Figura 3.4;
3. A chave liga-desliga da bomba está localizada próxima à e sobre a bomba;
4. Ler o nível de flutuação da esfera do rotâmetro. A 28,3 ℓ/min, a flutuação da esfera do rotâmetro deve ficar próximo da marca indicada no corpo do rotâmetro. Caso contrário, verificar a razão;
5. Após a checagem, remover a placa de Petri sem ágar, bem como o rotâmetro, do bocal do impactador;

Nota 1: Maiores detalhes sobre a verificação da vazão, ver as Subseções 8.4.1 e 8.4.2.

Nota 2: A vazão deve ser verificada antes de toda amostragem.

### 5.4 Coleta Propriamente Dita

Abaixo, uma seqüência resumida da operação de amostragem:

1. Instalar as placas de Petri com ágar nos estágios do impactador, conforme procedimento da Subseção 5.1;
2. Ter em mãos o cronômetro para a contagem do tempo. Certificar-se de qual o tempo de amostragem previsto (ver o tempo recomendado pela ANVISA na Subseção 3.8) e de que o cronômetro esteja zerado;
3. Ligar a bomba, disparando o cronômetro ao mesmo tempo. Lembrar que a chave liga-desliga está localizada próxima à e sobre a bomba;
4. Após decorrido o tempo de amostragem, desligar a bomba e, simultaneamente, parar o cronômetro;
5. Anotar na folha de campo a leitura do cronômetro .
6. Remover a placa de coleta com ágar e colocar de novo a tampa na placa de coleta. Identificar cada placa de coleta.
7. Anotar, na folha de campo, no mínimo os seguintes dados:
  - Local de amostragem
  - Número do amostrador
  - Número da coleta
  - Leitura do cronômetro (ver cuidados na Subseção 3.8)
  - Horas de início e de término da coleta
8. Conhecendo-se o fluxo do ar e o tempo decorrido da amostragem, pode-se calcular o número médio de partículas viáveis (bactérias aeróbicas e/ou fungos) por m<sup>3</sup> de ar. Ver cálculos na Seção 7.0.

## 6.0 INCUBAÇÃO

Placas com ágar inoculado são incubadas a temperaturas apropriadas por períodos na faixa de horas, para que uma bactéria de crescimento rápido se desenvolva numa microcolônia; de dias, para que um fungo se desenvolva numa colônia visível e talvez se esporule; de semanas, para que um organismo, como por exemplo a tuberculose M. resistente a multidrogas, produza colônias visíveis. Como regra geral, as placas são incubadas a:

Fungos:	25 °C ou temperaturas ambientes em uma sala com luz natural
Bactéria, ambiente	25 a 30 °C
Bactéria, origem humana	35 a 37 °C
Bactéria, Actinomicetas termofílicas	50 a 56 °C

## 7.0 ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS

Após a incubação, a concentração total de microrganismos cultiváveis é calculada dividindo-se o número total de colônias observados em todas as seis placas pelo volume do ar amostrado.

Em seguida, para cada estágio, é determinada a percentagem de partículas viáveis dividindo-se o número de colônias naquele estágio pelo número total de colônias em todos os estágios.

Concentrações de bioaerossóis cultiváveis são relatadas normalmente como unidades de formação de colônias (UFC) por unidade de volume do ar (m<sup>3</sup>). UFC é o número de colônias que se replica de células de bactérias individuais ou em grupos, endoesporos ou esporos fúngicos.

### 7.1 Volume de Ar

O volume de ar é dado pela vazão de amostragem multiplicada pelo tempo decorrido da amostragem:

$$V = \frac{Qxt}{1.000}$$

onde  $V$  é volume (m<sup>3</sup>),  $Q$  é vazão (ℓ/min) e  $t$  é tempo (min).

### 7.2 Contagem de Colônias Totais

É geralmente necessário usar-se um microscópio de dissecação (10X-100X) para observar mais de uma colônia no mesmo ponto de impactação.

É importante, para que a amostra seja estatisticamente significativa e representativa, que se colete números significativos de partículas viáveis. Entretanto, torna-se difícil a contagem de placas com ágar com mais de 250 a 300 colônias.

O número de partículas viáveis por unidade de volume de ar amostrado é computado da seguinte maneira:

1. Conte o número de colônias de bactérias (a teoria microbiológica em vigor supõe que cada colônia representa uma única partícula) em cada placa com amostra. Some o número de colônias em cada placa, assim obtendo um grande total para aquela amostra de partículas.
2. Divida o número total de colônias (UFC) pelo volume total de ar amostrado em metros cúbicos. Lembre-se de que a uma vazão constante de 28,3 ℓ/min, o volume de ar amostrado, em metros cúbicos é igual a 0,0283 multiplicado pelo número de minutos. Por exemplo, num período de 30 minutos, o volume total da amostragem é de 0,849 m<sup>3</sup>.
3. Tem-se assim o número médio de partículas viáveis por metro cúbico de ar na amostra, dado em UFC/m<sup>3</sup>.

Observe que o número de partículas viáveis na amostra não é igual ao número de células bacterianas na amostra, visto que uma única partícula viável pode conter mais que uma célula. Caso as placas com amostras tenham sido incubadas aerobicamente, todas as colônias têm que ser consideradas como bactérias aeróbicas ou como bactérias anaeróbicas facultativas.

### 7.3 Percentagem de Partículas Viáveis em Cada Faixa de Tamanhos

A percentagem de partículas viáveis em cada faixa de tamanhos pode ser determinada dividindo-se o número de colônias num dado estágio pelo número total de colônias em todos os estágios. Por exemplo, no Estágio I:

$$\frac{\text{Colônias no Estágio I do Bioaero6}}{\text{Número Total de Colônias em Todas as Placas}} = \% \text{ Partículas Viáveis Acima Diâm. } 7,0 \mu\text{m}$$

O local de deposição destas partículas no trato respiratório humano pode ser estimado a partir destes dados. A taxa aproximada de sedimentação no ar das partículas coletadas no ar pode também ser calculada a partir dos dados dos tamanhos das partículas.

Taxas de Sedimentação das Partículas no Ar	
Diâmetro das partículas (micrômetros)	Velocidade de Sedimentação (metro por minuto)
0,8	0,0015
1,0	0,0021
4,0	0,029
10,0	0,1797
40,0	2,89
100,0	18,03
Condensado de "Size and Characteristics of Airborne Solids", de W. G. Frank, nas Tabelas Meteorological do Smithsonian. Taxas são para partículas na forma de esferas com densidade específica de 1,0, sedimentando no ar a 21,1°C.	

Não é possível determinar a densidade exata ou forma das partículas viáveis coletadas num impactador em cascata, qualquer que seja ele, mesmo o modelo Andersen.

A variação com o tempo da concentração de partículas viáveis em suspensão no ar pode ser determinada coletando-se amostras intermitentes no mesmo local.

## 8.0 CALIBRAÇÃO

### 8.1 Considerações Preliminares

Visto que a faixa de tamanhos das partículas viáveis num estágio é determinada pelas velocidades nos orifícios, é importante que o amostrador seja operado a  $(28,3 \pm 0,3)$   $\ell/\text{min}$ . Por esta razão, a unidade deve ser periodicamente recalibrada.

Cada conjunto impactador-bomba é calibrado antes do embarque para a vazão de projeto (28,3  $\ell/\text{min}$ ). Caso seja fornecido diretamente pela ENERÉTICA, a calibração é normalmente feita nas condições-ambiente de temperatura e pressão do Rio de Janeiro.

Caso a bomba tenha que ser operada em elevações e/ou temperaturas significativamente diferentes daquelas onde foi efetuada a calibração, a vazão deve ser recalibrada para as condições do local de amostragem. O procedimento que o usuário terá que seguir para realizar sua própria calibração é apresentado nas subseções a seguir.

A bomba de vácuo fornecida é equipada com uma válvula para ajuste da vazão de amostragem. Para aumentar a vazão, gire o parafuso para dentro; para diminuí-la, gire para fora.

É importante que a unidade sempre opere a  $(28,3 \pm 0,3)$   $\ell/\text{min}$ . A unidade deve ser periodicamente recalibrada. Utilize um gasômetro (medidor de gás seco) para a recalibração. De posse de uma mangueira com aproximadamente 1" de diâmetro (DI) e 1/4" de parede, conecte uma extremidade no bocal do amostrador e a outra na saída do gasômetro. Tentativamente, ajuste a válvula até conseguir uma vazão de 28,3  $\ell/\text{min}$  de ar num período de três minutos (obtidos com um cronômetro de precisão). Após isso, aperte a contraporca da válvula de ajuste, ou, caso não haja contraporca, lacre a válvula com araldite.

### 8.2 Material para a Calibração

Junte o seguinte material:

- Amostrador a ser calibrado, com placas de Petri
- Bomba com válvula de ajuste
- Gasômetro, com termômetro na saída, certificado
- Cronômetro de precisão, certificado
- Mangueira de ligação entre o gasômetro e o impactador
- Mangueira de ligação entre o impactador e a bomba
- Formulário de calibração
- Ferramentas em geral
- Rotâmetro

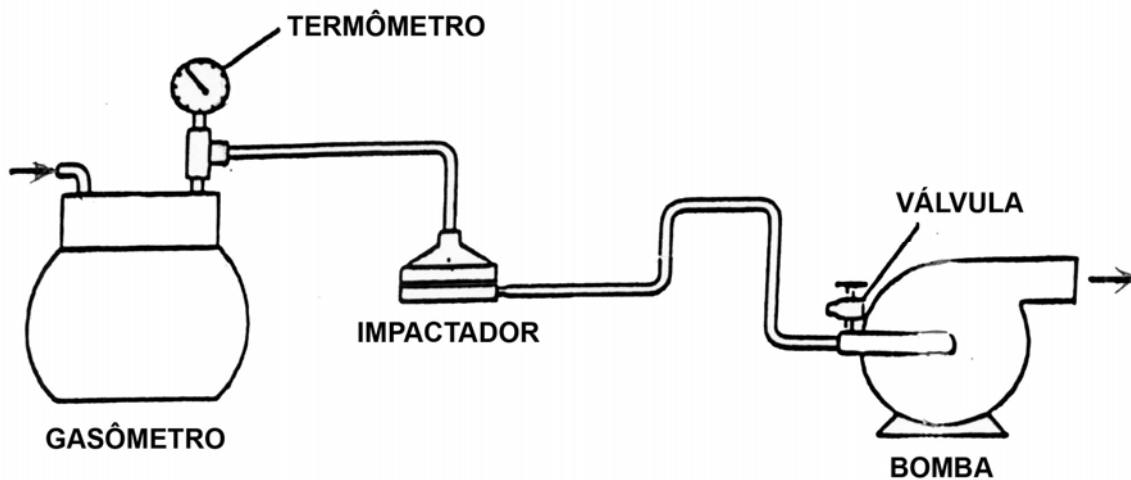
### 8.3 Esquemas de Calibração

Os esquemas de calibração, tanto para trem com bomba sem rotâmetro permanente como para trem com bomba com rotâmetro permanente, são mostrados na Figura 8.1.

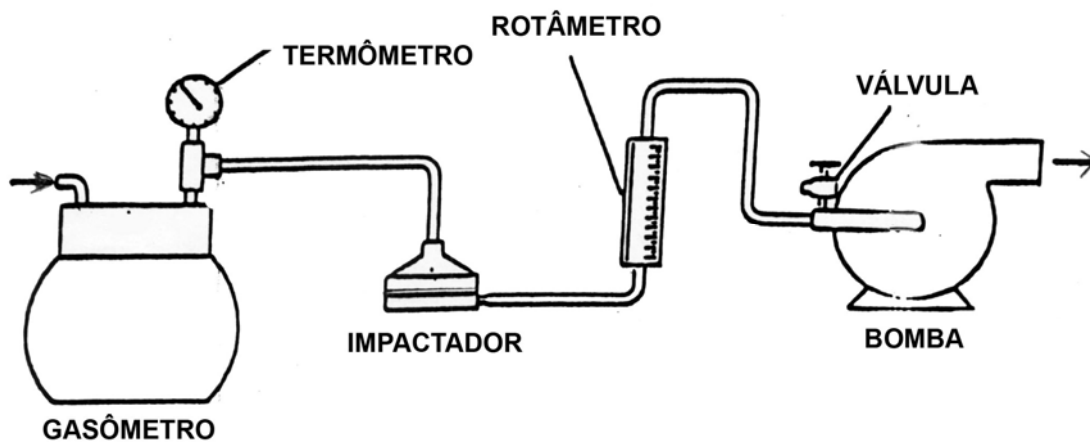
#### 8.3.1 **Bomba Sem Rotâmetro Permanente (Configuração ENERÉTICA)**

Ver esquema na Figura 8.1a. e observe-se o seguinte:

1. O impactador deve estar completo (com cone de entrada, estágios, placa base, o-rings e ganchos de pressão) e com placas de Petri alojadas nos estágios.



**Figura 8.1a Bomba Sem Rotâmetro Permanente (configuração ENERGÉTICA)**



**Figura 8.1b Bomba Com Rotâmetro Permanente**

**Figura 8.1 Esquemas de Calibração**

2. A mangueira entre o gasômetro e o impactador deve ser curta e, de preferência, ter 1" de diâmetro e ¼" de parede. Com esse diâmetro, a mangueira conecta-se facilmente no bocal do impactador.
3. A mangueira entre o impactador e a bomba tem que ser mesma utilizada nas amostragens, seja de ¼" de diâmetro e 160 cm de comprimento, como recomendado, ou de dimensões diferentes, por exemplo com menor diâmetro e maior comprimento.

### **8.3.2 Bomba Com Rotâmetro Permanente**

Ver esquema na Figura 8.1b. e observe-se o seguinte:

1. O impactador deve estar completo (com cone de entrada, estágios, placa base, o-rings e ganchos de pressão) e com placas de Petri alojadas em todos os estágios.
2. A mangueira entre o gasômetro e o impactador deve ser curta e, de preferência, ter 1" de diâmetro e ¼" de parede. Com esse diâmetro, a mangueira conecta-se facilmente no bocal do impactador.
3. A mangueira entre o impactador e o rotâmetro tem que ser mesma utilizada nas amostragens, seja de ¼" de diâmetro e 160 cm de comprimento, como recomendado, ou de dimensões diferentes, por exemplo com menor diâmetro e maior comprimento.

## **8.4 Realizando a Calibração**

### **8.4.1 Bomba Sem Rotâmetro Permanente (Configuração ENERGÉTICA)**

1. Ligue a bomba e deixe-a funcionar por 15 minutos até estabilizar a vazão.
2. Faça, ajustando a válvula da bomba, corridas de três minutos, tantas quanto forem necessárias, até que obtenha, em duas corridas consecutivas, um mesmo valor para a vazão, dentro da faixa de  $28,3 \text{ l/min} \pm 1 \%$ , ou seja, de 28,0 a 28,6 l/min. Utilize o cronômetro de precisão para as corridas.
3. Após obtida a vazão, aperte a contraporca da válvula de ajuste, ou trave esta com araldite.
4. Monte seu certificado. Um exemplo de certificado de calibração é visto no Apêndice C.
5. Imediatamente após a calibração da vazão da bomba, instale o rotâmetro ("calibrador de campo") no bocal do impactador e ponha a bomba para funcionar. Verifique a flutuação da esfera no rotâmetro. A menos que o rotâmetro tenha válvula de ajuste, o nível de flutuação da esfera não deverá coincidir com o valor obtido na calibração (nominal 28,3 l/min). Desse modo, pega-se uma caneta de ponta grossa e faz-se uma marca no nível acusado pela esfera. Esta marca será indicativa do valor obtido, assim permitindo ao rotâmetro ser utilizado para checagem da vazão por ocasião de toda amostragem. Se, numa checagem da vazão, o nível da esfera não coincidir com a marca, pare, não prossiga e verifique, antes, se há realmente algum problema com o sistema. Possíveis problemas: válvula saiu de sua posição de ajuste; palhetas da bomba atingiram sua vida útil; rasgo na mangueira de conexão; entrada falsa de ar nas interfaces do sistema.

### **8.4.2 Bomba Com Rotâmetro Permanente**

1. Ligue a bomba e deixe-a funcionar por 15 minutos até estabilizar a vazão.

2. Faça, ajustando a válvula da bomba, corridas de três minutos, tantas quanto forem necessárias, até que obtenha, em duas corridas consecutivas, um mesmo valor para a vazão, dentro da faixa de  $28,3 \text{ l/min} \pm 1 \%$ , ou seja, de 28,0 a 28,6 l/min. Utilize o cronômetro de precisão para as corridas.
3. Após obtida a vazão, aperte a contraporca da válvula de ajuste, ou trave esta com araldite.
4. Monte seu certificado. Um exemplo de certificado de calibração é visto no Apêndice C.
5. No caso de uma bomba com seu rotâmetro permanente, aproveite, quando estiver atingindo a vazão desejada de 28,3 l/min, para ajustar o rotâmetro. Aí há dois casos: um de que o rotâmetro tenha válvula de ajuste, e, neste caso, ajuste a válvula até o nível da esfera aproximar-se de 28,3 l/min. No outro caso, quando rotâmetro não tiver válvula de ajuste, ponha uma marca com caneta do mesmo modo que foi feito para bomba sem rotâmetro permanente (ver Subseção 8.4.1). Este marca será indicativa do valor obtido, assim permitindo ao rotâmetro ser utilizado para checagem da vazão por ocasião de toda amostragem. Se, numa checagem da vazão, o nível da esfera não coincidir com a marca, pare, não prossiga e verifique, antes, se há realmente algum problema com o sistema. Possíveis problemas: válvula saiu de sua posição de ajuste; palhetas da bomba atingiram sua vida útil; rasgo na mangueira de conexão; entrada falsa de ar nas interfaces do sistema.

## **8.5 Freqüência das Calibrações**

1. Por exigência da ANVISA, a vazão da bomba é recalibrada pelo menos uma vez por semestre, ou toda vez que a checagem com o rotâmetro indicar desvios da vazão. A recalibração é feita com um gasômetro de referência, devidamente certificado, rastreável a um padrão reconhecido nacionalmente.
2. Verifique a vazão da bomba antes de cada amostragem. Utilize seu rotâmetro, conforme explicado nas Subseções 5.3, 8.4.1 e 8.4.2, ou um outro tipo de medidor de campo. Lembre-se de que o rotâmetro não é suficientemente exato para ser certificado contra padrões rastreáveis, porém é um instrumento útil para a verificação da vazão do trem de amostragem.

## 9.0 MANUTENÇÃO

### 9.1 Limpeza do Impactador

Os estágios de classificação (as placas de orifícios) do BIOAERO6 devem ser limpados e desinfetados toda vez que forem usados. Detergente leve e água morna são suficientes para a limpeza. Pode-se remover sabão colocando-se cada estágio embaixo de uma torneira de água quente ou imergindo o estágio em água limpa num limpador ultrassônico. Deve-se verificar cuidadosamente se há material retido nos orifícios. Caso haja orifício entupido, ou parcialmente entupido, pode-se desentupi-lo com jato de ar seco ou de Freon. Antes de usar o estágio, limpe todas as suas superfícies com uma gaze untada com álcool isopropílico 70 %.

### 9.2 Bomba de Vácuo

#### Verificação da Vazão

Recomendamos ao usuário mandar seu Amostrador de Bioaerossol para a ENERGÉTICA pelo menos uma vez por semestre, para que seja recalibrada a bomba (vazão) e verificado visualmente o trem de amostragem, particularmente o impactador.

Os o-rings do impactador devem ser verificados regularmente e trocados quando não estejam mais proporcionando vedação completa.

#### Palhetas da Bomba

A bomba de vácuo, do tipo seco (isenta de óleo), utiliza um conjunto de 4 palhetas de grafite. As palhetas se desgastam com o uso, e, para sua reposição, referir-se às referências # 10-160 (Ref. ENERGÉTICA) ou # AD979 (Ref. Gast).

### 9.3 Reposição/Acessórios

Descrição	Nº Ref.
O-rings para estágio	10-152
O-rings para conde entrada	10-153
Bomba de vácuo, 115V/60Hz	10-709
Bomba de vácuo, 220V/60Hz	10-710
Gancho de pressão (conj. com 3)	10-8803
Mangueira de PVC, flexível, 160 cm	10-151
Cone de entrada	10-770A
Estágio base	10-770B
Verificador de campo (rotâmetro)	10-727
Gabinete	10-150
Conjunto de palhetas (da bomba) de reposição (com 4)	10-160
Tubo suporte do impactador, 1,5 m de comprimento	10-726

## 10.0 REFERÊNCIAS

1. Turner, A.G. and F.N Hill. Calibration of the Andersen 2000 Disposable Air Sampler. Amer. Ind. Hyg. Assoc. J. 36:447 (Junho 1975)
2. Andersen, A. A. New Sampler for the collection, sizing and enumeration of viable airborne particles. J. Bacterial 76:471 (1958)
3. Ibid.
4. Kingston, D. Selective media in air sampling: a review. J. Appl. Bacterial. 34:221 (1971)
5. Hatch, T.F. Respiratory dust retention and elimination. In the proceeding of the Pneumococcosis Conference, Johannesburg. Pages 113-132, J. & A. Churchill Ltd., London (1959)
6. Morrow, P.E. Evaluation of inhalation hazards based upon the respirable dust concept and the philosophy and applications of selective sampling. Amer. Ind. Hyg. Assoc. J. 25:213 (maio 1964)
7. Ranz, W.E. e J.B. Wong. Jet impactors for determining the particle size distribution of aerosols. Arch. Ind. Hyg. Occup. Med. 5:464 (1952)
8. Dzuby, T.G. et al. Particle bounce errors in cascade impactors. Atmospheric Environment. 10:229 (1976)
9. Ranz, W.E e J.B. Wong. Industrial Hygiene and Industrial Medicine, Vol. 5, pp. 464-477 (1952)
10. May, K.R. Prolongation of microbiological air sampling by a monolayer on agar gel. J. Appl. Microbial. 8:513 (1969)
11. Kulcsar Neto, Francisco e Luiz Fernando de Góes Siqueira. Padrões Referenciais para Análise de Resultados de Qualidade Microbiológica em Interiores Visando a Saúde Pública no Brasil. Brasindoor, Vol. II, N° 10 Jul/Ago/Set 1998)
12. Dantas, Eduardo H.M. Procedimentos de Manutenção, Operação e Controle em Sistemas de Ar Condicionado. Brasindoor, Vol. II, N° 10 Jul/Ago/Set 1998)

## **APÊNDICE A**

### **EXEMPLO DO CERTIFICADO DE CALIBRAÇÃO DA VAZÃO DA BOMBA DE VÁCUO**

## RELATÓRIO DE ENSAIO (CALBIOAERO)

Número:	<b>26/04</b>	Data de Emissão:	<b>28/11/2005</b>			
<b>DADOS DO CLIENTE</b>						
Solicitante:	<b>Nalco Brasil Ltda.</b>	TAG:	<b>n/a</b> AS/OS: <b>n/a</b>			
Endereço:	<b>Av. das Nações Unidas, 17891 - 6º andar- São Paulo - SP</b>					
Serviço:	<b>Calibração da vazão da bomba do BIOAERO em torno de 28,3 L/min</b>					
<b>CARACTERÍSTICAS DO SISTEMA A ENSAIAR</b>						
Equipamento:	<b>Bomba de vácuo, com válvula de ajuste da vazão, acoplada ao Impactador por uma mangueira flexível de 1/4"</b>					
Modelo bomba:	<b>6025SE</b>	Identif. bomba:	<b>Conjunto: 14; N° Patri.: 012554</b>			
Identif. Impactador:	<b>2003-680 conj. 14/012554</b>	Id. Válvula:	<b>n/a</b> Comp. mang.: <b>151</b> cm			
<b>DADOS DA ENSAIO</b>						
Data de Recebimento:	<b>22/11/2005</b>	Temperatura (°C):	<b>22</b>			
Data de Calibração:	<b>22/11/2005</b>	Pressão Barométrica (mmHg):	<b>759</b>			
Local da Calibração:	<b>LME/ENERGÉTICA</b>	Próxima Calibração:	<b>22/05/2006</b> (exig. ANVISA)			
<b>PROCEDIMENTOS E/OU NORMAS APLICADOS</b>						
1) ANVISA: Norma Técnica 001, contida na Resolução nº 9, de 16/01/03						
2) Thermo Andersen: Microbial Sampler Operating Manual, Smyrna, GA, USA						
3) A vazão é determinada em rodadas de 3 minutos cada. Ao se aproximar do valor de 28,3 L/min, a válvula é travada. Em seguida, três rodadas consecutivas são realizadas. O resultado da calibração é a média destas três rodadas.						
<b>EQUIPAMENTOS/PADRÕES UTILIZADOS</b>						
Código	Equipamento	Dt. Calibr.	Dt. Venc.	Por	Nº Certif.	Rastreabilidade
GASS-001	Gasômetro Seco	00/01/00	00/01/00	LME	GAS - 006/06	Calibr. Int. com GASU-002
GASU-002	Gasômetro Úmido	05/04/06	05/04/07	IPT	70 804-101	RBC/INMETRO Nº 162
BAR-001	Barômetro	13/04/05	13/04/06	IFM	PR-1239/05	RBC/INMETRO Nº 059
TER-008	TLV	18/07/05	18/07/06	IPT	65412-101	CGCRE/INMETRO Nº 70
CRO-003	Cronômetro digital	11/04/06	11/04/07	O.N.	013/06	LNM
<b>RESULTADO RELATADO</b>						
<b>O valor da vazão ajustada da bomba (Qa) é = <b>27,9</b> L/min</b>						
<b>INCERTEZA DA MEDIÇÃO</b>						
<b>A incerteza da medição (U) é = <b>0,1</b> L/min k= <b>2,00</b></b>						
<b>NOTAS</b>						
Faixa de vazão para a média (ditada pela Thermo Andersen) : (28,3 ± 0,3) L/min.						
Caso a bomba tenha que ser operada em elevações e/ou temperaturas significativamente diferentes daquelas onde foi efetuada a calibração, a vazão deve ser corrigida para as condições locais de amostragem.						
Não há, normalmente, qualquer alteração na vazão durante a amostragem, visto que não ocorre perda de carga durante a amostragem. O amostrador não requer filtro de back-up.						
Nas amostragens, o impactador deve ser conectado à bomba com a mesma mangueira como que foi feito o ajuste da vazão, sob pena de alteração na vazão da bomba.						
Uma maneira de se assegurar de que a vazão através do amostrador é mantida constante consiste em conectar, entre a saída do impactador e a entrada da válvula de ajuste do fluxo, um rotâmetro com uma marca na escala para a vazão de 28,3 L/min.						
Exigência da ANVISA: Recalibração pelo menos uma vez por semestre, ou toda vez que houver evidência de alteração na posição da válvula de ajuste da bomba.						
As incertezas expandidas relatadas neste certificado são baseadas em incertezas padronizadas combinadas multiplicadas por um fator de abrangência k = 2, fornecendo um nível de confiança de aproximadamente 95 %.						
Este certificado é válido somente para o equipamento calibrado e seus resultados se condicionam a situações aceitáveis de transporte, uso e condicionamento. Sua reprodução parcial dependerá de prévia autorização deste Laboratório.						

ENSAIADO POR

APROVADO POR

PÁGINA

 \_\_\_\_\_  
 Suellen Assis da Silva  
 Técnica de Laboratório

 \_\_\_\_\_  
 José Walderley Coêlho Dias  
 Gerente Técnico

1/1

# APÊNDICE B

## FOLHETOS DE AMOSTRADOR DE BIOAEROSSOL

## AMOSTRADOR DE BIOAEROSSOL DE 6 ESTÁGIOS - BIOAERO6

### BIOAERO6 – TREM DE AMOSTRAGEM

O BIOAERO6 é constituído basicamente de:

- Impactador de Bioaerossol de Seis Estágios, Ref. 10-830
- Bomba de vácuo, Ref. 10-709
- Mangueira de conexão, de PVC, (160 cm), Ref. 10-151
- Gabinete de alumínio, Ref. 10-150
- Tubo de suporte do Impactador, Ref. 10-726
- Verificador de campo (rotâmetro), Ref. 10-727



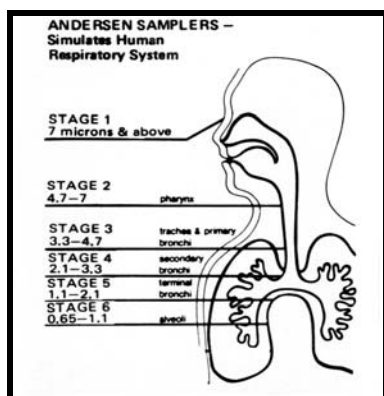
**IMPACTADOR DE SEIS ESTÁGIOS**

### BIOAERO6 – COM IMPACTADOR DE 6 ESTÁGIOS

O Impactador de Bioaerossol de 6 Estágios é um impactador em cascata de multi-estágios e multi-orifícios, projetado para medir a concentração e distribuição de tamanhos de espécies aeróbicas de bactérias e fungos. A faixa de coleta, nos seis estágios, vai de 9 a 0,65 micrômetros. Todas partículas coletadas, independentemente de tamanho, forma e densidade, são aerodinamicamente dimensionadas e diretamente relacionadas com a posição no pulmão humano.

O Impactador é feito de alumínio e é constituído de uma entrada cônica, dos estágios de amostragem e de uma placa base, todos fixados por três ganchos de pressão e vedados por juntas de o-ring. Cada estágio de amostragem possui 400 orifícios de perfuração extremamente precisa.

A coleta e análise das amostras de aerossóis são muito simples. Com uma placa de Petri, contendo um ágar apropriado aos microorganismos, instalada no instrumento, aspira-se ar do ambiente. A placa de Petri é então removida, invertida sobre sua tampa, incubada e contada mediante um metido aceitável.



### PRATICIDADE DO BIOAERO6

O BIOAERO6 é extremamente prático. Ao chegar no ambiente de coleta, basta:

- Por o amostrador no piso, no local indicado para a coleta
- Instalar o tubo de suporte do Impactador no tubo de encaixe do gabinete
- Instalar o Impactador, rosqueando-o no topo do tubo de suporte
- Conectar o Impactador à bomba com a mangueira de conexão
- Ligar o pino da bomba à tomada de força
- Iniciar a coleta, acionando a bomba e disparando o cronômetro

### ANVISA – AMBIENTES INTERIORES

O BIOAERO6 atende à Norma Técnica 01 da Resolução nº 9 da ANVISA.

## AMOSTRADOR DE BIOAEROSOL DE 6 ESTÁGIOS - BIOAERO6

### BOMBA DE VÁCUO

- Marca Gast, de palhetas, rotativa
- Com válvula ajustável e travável
- Sai da ENERGETICA com vazão ajustada para 28,3 L/min
- Com espigão para acoplamento da mangueira de conexão
- Com cabo elétrico, de 2,80 m de comprimento.

### VERIFICADOR DE CAMPO

- Tipo rotâmetro, com faixa de 0 a 50 L/min
- Rotâmetro fixado numa estrutura de alumínio
- Com rolha de borracha dura, para encaixe no bocal do Impactador



### NOVO GABINETE

- De alumínio anodizado, com 50 cm de altura, 43 cm de largura e 20 cm de fundo
- Com dois compartimentos: para a bomba e para alojamento (forrado) do impactador, do tubo flexível e do rotâmetro
- Com tubo de alumínio, fixado por trás, para instalação do tubo de suporte do Impactador
- Com alça em tubo recartilhado
- Com tampa frontal, com fechos
- Com quatro pés de borracha, para pouso
- Peso: 11,5 kg (do BIOAERO6 completo)



### SUPORE DO IMPACTADOR

- Tubo de alumínio anodizado, com 1,5 m de comprimento e 19 mm de diâmetro
- Com ponteira, de latão cromado, com rosca macho, para fixação do Impactador N6
- Encaixa-se por dentro do tubo de encaixe atrás do gabinete

ESPECIFICAÇÕES	
Impactador	Diâmetro 114,3 mm x Altura 196,8 mm. Peso 1,25 kg
Bomba de vácuo	Largura 241,3 mm x Altura 139,7 mm x Fundo 114,3 mm. Peso 3,88 kg
Tubo suporte	1,5 m de altura x 19 mm de diâmetro externo
Mangueira de conexão	De PVC, com 160 cm de comprimento x ¼" de diâmetro
Gabinete	Largura 43 cm x Altura 50 cm x Fundo 20 cm. De alumínio
Vazão	Opera a 28,3 l/min (1 cfm)
Peso de todo o BIOAERO6	11,5 kg