

ESTUDOS ARQUEOLÓGICOS DE OEIRAS

Volume 19 • 2012

ACTAS DO IX CONGRESSO IBÉRICO DE ARQUEOMETRIA
(Lisboa, 2011)



Editores Científicos: M. Isabel Dias e João Luís Cardoso

INSTITUTO SUPERIOR TÉCNICO / INSTITUTO TECNOLÓGICO E NUCLEAR
SOCIEDAD DE ARQUEOMETRÍA APLICADA AL PATRIMONIO CULTURAL
CÂMARA MUNICIPAL DE OEIRAS

2012

ESTUDOS ARQUEOLÓGICOS DE OEIRAS

Volume 19 • 2012 ISSN: 0872-6086

EDITORES CIENTÍFICOS – M. Isabel Dias e João Luís Cardoso
DESENHO E FOTOGRAFIA – Autores ou fontes assinaladas
CORRESPONDÊNCIA – Centro de Estudos Arqueológicos do Concelho de Oeiras
Fábrica da Pólvora de Barcarena
Estrada das Fontainhas
2745-615 BARCARENA

Os artigos publicados são da exclusiva responsabilidade dos Autores.

*Aceita-se permuta
On prie l'échange
Exchange wanted
Tauschverkehr erwünscht*

ORIENTAÇÃO GRÁFICA E

REVISÃO DE PROVAS – M. Isabel Dias e João Luís Cardoso

PAGINAÇÃO – M. Fernandes

IMPRESSÃO E ACABAMENTO – Gráficas Amares, Lda. - Amares - Tel. 253 992 735

DEPÓSITO LEGAL: 97312/96

APRESENTAÇÃO

A Nona Edição do Congresso Ibérico de Arqueometria (CIA IX) decorreu em Lisboa de 26 a 28 de Outubro de 2011 nas instalações da Fundação Calouste Gulbenkian. A proposta e compromisso da organização deste evento foi feita pelo Grupo de Geoquímica Aplicada & Luminescência no Património Cultural (GeoLuC) (IST/ITN), dois anos antes na Assembleia Geral da Sociedad de Arqueometría Aplicada al Patrimonio Cultural (SAPaC), e foi aceite por unanimidade.

Com esta decisão, a SAPaC consolida uma linha de actuação, cujo objectivo é difundir e fomentar a colaboração entre os grupos de investigação arqueométrica que trabalham na Península Ibérica. Este objectivo viu-se reforçado e reflectido na composição dos novos órgãos sociais dirigentes da SAPaC, eleita durante a celebração do IX Congresso em Lisboa, que incorpora deste então investigadores portugueses e espanhóis, sendo presidida pela Doutora M. Isabel Dias (IST/ITN, Portugal).

As Actas que aqui se apresentam são uma prova tangível da via integradora desta IX edição do Congresso, verificando-se existir equilíbrio numérico entre os trabalhos apresentados por grupos de investigação portugueses e espanhóis, evidenciando-se mesmo um incremento de projectos em que participam conjuntamente investigadores dos dois países, mostrando o grande interesse que desperta a Arqueometria, em si mesma de natureza interdisciplinar, e os objectivos comuns partilhados pela comunidade científica ibérica.

Definitivamente, este Congresso constituiu um ponto de encontro dos investigadores da disciplina, tendo contribuído para a troca de experiências e o aprofundar de conhecimentos nas diversas metodologias e técnicas aplicadas à caracterização do nosso património histórico e cultural.

A publicação dos trabalhos do CIA IX nos *Estudos Arqueológicos de Oeiras* (EAO), órgão científico do Centro de Estudos Arqueológicos do Concelho de Oeiras/Câmara Municipal de Oeiras, constituiu uma oportunidade única e vantajosa para ambas as partes, já que esta inédita parceria entre uma entidade vocacionada para a investigação e uma Câmara Municipal permitiu uma sinergia de interesses quanto aos custos da publicação deste número e a sua adequada distribuição nacional e internacional. A escolha de uma revista periódica constituiu sem dúvida, a melhor opção, para a garantia de uma divulgação adequada. E a revista sobre a qual recaiu a escolha, prontamente homologada pelo Senhor Presidente da Câmara Municipal de Oeiras, Dr. Isaltino Morais, responde sem dúvida àquele requisito: além de constituir uma referência no panorama editorial nacional em matéria de publicações arqueológicas, com 18 números publicados desde 1991, mantém permuta com cerca de 200 revistas periódicas especializadas, todas de

Arqueologia e Património Arqueológico, especialmente de Espanha, França, Itália, Alemanha, Polónia, Reino Unido, Mónaco e Marrocos, para além de Portugal, incluindo as publicações mais importantes produzidas naqueles países.

Esperamos, deste modo, com a publicação deste volume, ir ao encontro dos interesses de todos os participantes do CIA IX, de todos os que contribuíram com os seus trabalhos para a excelente qualidade deste volume, dos interesses dos associados da SAPaC, dos munícipes de Oeiras, e da comunidade científica nacional e internacional no domínio da arqueometria e da arqueologia.

Pela Comissão organizadora do CIA IX, Presidência da SAPaC
e comissão editorial deste volume dos Estudos Arqueológicos de Oeiras,

M. ISABEL DIAS

(Instituto Superior Técnico/Instituto Tecnológico e Nuclear, Universidade Técnica de Lisboa, Portugal)

CLODOALDO ROLDÁN

(Instituto de Ciencia de Materiales, Universidade de Valência, Espanha)

JOÃO LUÍS CARDOSO

(Universidade Aberta e Centro de Estudos Arqueológicos do Concelho de Oeiras/Câmara Municipal de Oeiras, Portugal)

Oeiras, 31 de Outubro de 2012

PERFIS DE CONTAMINAÇÃO E INACTIVAÇÃO MICROBIANA EM AZULEJOS

T. Silva¹, S. Cabo Verde¹, G. Cardoso¹, A. C. Fernandes¹, M. J. Trindade¹, C. I. Burbidge¹, M. I. Dias¹,
M. L. Botelho¹ & M. I. Prudêncio¹

Resumo

Um dos maiores desafios na conservação de objectos de arte é a prevenção e o controlo da contaminação por organismos. O objectivo do presente estudo foi a avaliação de metodologias de quantificação e caracterização da microbiota presente em azulejos, com o intuito de estimar a dose mínima de radiação gama (Cobalto-60) necessária para inactivar a população microbiana das amostras. Foram seleccionados dois painéis de azulejos como objectos de estudo devido aos sinais evidentes de biodeterioração: o “Grande Panorama de Lisboa” (23 m comprimento), do início do século XVIII, a peça mais notável do Museu Nacional do Azulejo e classificada como Tesouro Nacional; e o painel “Quinta de Santo António” (século XVIII).

A recolha, isolamento e quantificação da carga microbiana presente nas amostras de azulejos foram efectuadas pelos métodos de zaragatoa e contagem de unidades formadoras de colónias (UFC). Os isolados foram caracterizados fenotipicamente por técnicas convencionais de microbiologia de modo a estabelecer padrões de contaminação. As amostras de azulejos do painel “Quinta de Santo António” foram expostas a doses sub-letais (1 a 4 kGy) de radiação gama tendo-se caracterizado quantitativamente e qualitativamente a população microbiana sobrevivente. Nos painéis analisados, a carga microbiana estimada variou entre 10^2 - 10^3 UFC/100 cm² de azulejo, sendo maioritariamente constituída por bacilos Gram positivos (> 56%). A irradiação de amostras do painel “Quinta de Santo António” indicou um decréscimo do número de microrganismos de aproximadamente 25% para 4 kGy, contudo a microbiota não apresentou uma cinética de inactivação exponencial. Os resultados obtidos sugerem a potencialidade de aplicação da radiação gama na descontaminação de azulejos como tratamento de conservação.

Palavras-chave: Inactivação microbiana, radiação gama, azulejos

Abstract

One of the major challenges in the conservation of cultural heritage is the prevention and control of contamination caused by microorganisms.

The goals of the present study were the evaluation of methodologies for the characterization and quantification of the bioburden present in ancient ceramic tiles, and the estimation of the minimum dose of gamma radiation (Cobalt-60) necessary to inactivate the bioburden of these samples. Two ceramic tile panels were selected as case studies due to the evident signals of biodeterioration: the “Grande Panorama de Lisboa” (23 m length), of the beginning of the XVIII century, the most notable piece of the National Tile Museum and classified as National Treasure; and the panel “Quinta de Santo António” (XVIII century). The sampling, isolation and quantification of the bioburden present in the tiles were performed by the swab method followed by counting of colony forming units (CFU). The microorganisms isolated were phenotypically characterized by conventional techniques of microbiology in order to establish contamination patterns. Tile samples from the panel “Quinta de Santo António” were exposed to sub-lethal doses (1 to 4 kGy) of gamma radiation, and the bioburden of survival population evaluated both quantitatively and qualitatively.

In the analyzed panels, the estimate bioburden varied between 10^2 - 10^3 CFU/100 cm² of tile, consisting mostly of Gram positive rods (> 56%). The gamma rays irradiation indicated a decrease of the number of the microorganisms of approximately 25% for 4 kGy. However, the microbial load did not present an exponential inactivation kinetics. The obtained results suggest the potentiality of application of gamma radiation in the tile decontamination as a conservation treatment.

Keywords: Microbial inactivation, gamma radiation, ceramic tiles

¹Instituto Tecnológico e Nuclear, EN 10, 2686-953 Sacavém, Portugal. telmasilva@itn.pt

1 - INTRODUÇÃO

Nos dias de hoje, existe uma preocupação crescente na conservação do património cultural, nomeadamente na prevenção e controlo da contaminação biológica (*e.g.* insectos, fungos, líquenes) (PEPE *et al.*, 2008; WARSCHEID & BRAAMS, 2000).

Os microrganismos estão entre os principais agentes biológicos causadores de deterioração nos objectos de arte. A biodeterioração pode estar relacionada com as condições ambientais (humidade, temperatura, luz e pH) e as propriedades físico-químicas do objecto (GIANNANTONIO *et al.*, 2009), constituindo assim diferentes nichos ecológicos que podem ser explorados por uma vasta diversidade de espécies microbianas. Os mecanismos pelos quais os microrganismos danificam os objectos podem incluir reacções químicas com o material (*e.g.* excreção microbiana de um ácido orgânico ou inorgânico), ruptura física (*e.g.* excreção microbiana de substância polimérica que causam stress mecânico) e alterações inestéticas (*e.g.* produção de pigmentos) (GIACOMUCCI *et al.*, 2011). Consequentemente, um conhecimento profundo da complexidade do ecossistema microbiano é um pré-requisito para um controlo eficaz da biodeterioração (WATANABE *et al.*, 2006). Diversas técnicas de conservação do património cultural têm sido desenvolvidas, no entanto alguns desses métodos envolvem produtos químicos tóxicos ou abrasivos (POLO *et al.*, 2010). A radiação gama tem sido documentada como um tratamento alternativo na conservação de objectos de arte (RIZZO *et al.*, 2002; DA SILVA *et al.*, 2006).

O objectivo deste estudo foi detectar, quantificar e caracterizar a população microbiana presente em amostras de azulejos pertencentes ao património cultural Português, antes e após irradiação, de modo a avaliar a aplicabilidade de um tratamento de conservação por radiação gama.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Amostragem

As recolhas foram efectuadas no Museu Nacional do Azulejo, no painel “Grande Panorama de Lisboa” (início do século XVIII, faiança a azul sobre branco, 115 × 2247 cm), painel exposto e no de reserva; e no painel “Quinta de Santo António” (século XVIII; painel em restauro), proveniente de um poço de água.

Na recolha da população microbiana presente nas amostras utilizou-se uma zaragatoa estéril por azulejo. A selecção dos azulejos a amostrar tentou recolher zonas com e sem sinais visíveis de deterioração de modo a ser representativa de toda a microbiota presente nos objectos. No painel “Grande Panorama de Lisboa” foram efectuadas recolhas em 11 azulejos (N = 11) expostos e 8 (N = 8) da reserva. No Painel da “Quinta de Santo António” foram amostrados 5 azulejos (N = 5). As recolhas foram efectuadas nas condições de 23,4 °C de temperatura e 58,6% de humidade.

2.2 - Caracterização da carga microbiana

Após recolha, as zaragatoas foram colocadas em tubos com uma solução de soro fisiológico (0,9% NaCl) com o tensioactivo Tween 80 (0,1%), e homogeneizadas durante um minuto no vórtex, de forma a potenciar a remoção dos microrganismos. A quantificação dos microrganismos foi efectuada por espalhamento de inóculos de 1 mL (em triplicado) da solução de lavagem das zaragatoas em placas com meio sólido Tryptic Soy Agar (TSA). As placas foram incubadas a 30 °C durante 7 dias em atmosfera aeróbia, e as unidades formadoras de

colónias (UFC) foram contabilizadas. A caracterização morfológica dos microrganismos isolados foi realizada após o término do tempo de incubação, e a selecção de isolados foi efectuada de modo a ser representativa de todas as morfologias macroscópicas (cor, forma, elevação, margem e dimensão) das colónias obtidas para cada um dos painéis de azulejos analisados. O isolamento das colónias foi realizado por repicagens sucessivas a partir de uma colónia isolada em meio de cultura sólido TSA. A caracterização morfológica consistiu na visualização microscópica da morfologia e agrupamento celular, coloração de gram, verificação da actividade catalásica e presença da enzima oxidase (teste da oxidase). Na determinação destas características recorreu-se a métodos convencionais de microbiologia utilizando-se como referência o manual *Methods for General and Molecular Bacteriology* (GERHARDT *et al.*, 1994). O esquema de classificação utilizado baseou-se na 1.^a edição do *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (KRIEG & HOLT, 1984), que apresenta onze tipos morfológicos (I a XI) classificados segundo a morfologia e agrupamento celular, presença ou ausência de endósporos, coloração gram e testes bioquímicos (teste da catalase e oxidase). A frequência relativa para cada tipo morfológico m foi calculada para o número de estirpes tipificadas t por painel:

$$f_m (\%) = \frac{n_m}{n_t} \times 100$$

2.3 – Estudos de inactivação microbiana

As amostras do painel “Quinta de Santo António” foram irradiadas na fonte experimental de Cobalto-60 (Precisa 22, 8.233 kCi em Novembro 2009), localizada na Instalação de Radiações Ionizantes - IRIS no *campus* do ITN. Os azulejos foram colocados individualmente em sacos de plásticos estéreis e irradiados às doses de 1, 2 e 4 kGy a um débito de dose de 1,7 kGy/h (1 azulejo/dose). As doses absorvidas foram monitorizadas por dosimetria de rotina (Dosímetros Amber Perspex, Harwell). A uniformidade de dose (D_{max}/D_{min}) foi de 1,2. O número de microrganismos sobreviventes foi estimado segundo o método de determinação da carga microbiana apresentado anteriormente. A microbiota sobrevivente foi igualmente morfológicamente caracterizada. Os ensaios de inactivação microbiana foram sempre acompanhados por amostras ($n = 2$; início e fim dos tempos de irradiação) de azulejos não irradiadas (0 kGy), que foram utilizadas para caracterização da carga microbiana inicial.

2.4 – Análise dos resultados

A carga microbiana média foi estimada em UFC por 100 cm² de azulejo para cada um dos painéis analisados. Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente por ANOVA, de modo a verificar diferenças significativas entre os valores médios de carga microbiana entre os painéis, bem como entre a contaminação inicial e o número de sobreviventes após as doses de radiação. Diferenças significativas entre as médias foram determinadas pelo teste de Tukey para um nível de significância de 0,05.

3 – RESULTADOS

3.1 – Caracterização da carga microbiana

A carga microbiana média estimada para as amostras de azulejos analisadas variou entre 10²-10³ unidades formadoras de colónias por 100 cm² de azulejo (Tabela 1).

Tabela 1 – Carga microbiana média estimada para os painéis de azulejo em estudo ($8 < n < 12$).

Painel	Carga microbiana média \pm erro padrão (UFC/100 cm ²)
“Grande panorama de Lisboa” - exposto	$2,4 \times 10^2 \pm 1,3 \times 10^2$
“Grande panorama de Lisboa” - reserva	$13,0 \times 10^2 \pm 7,5 \times 10^2$
“Quinta de Santo António”	$4,4 \times 10^2 \pm 0,8 \times 10^2$

O painel “Grande Panorama de Lisboa” em reserva apresentou um valor ligeiramente superior de contaminação microbiana comparativamente com os outros dois painéis, contudo, os valores médios de carga microbiana não são significativamente diferentes ($P > 0,05$) para um nível de significância de 0,05. Se quantitativamente a carga microbiana média dos azulejos sugere ser homogénea, qualitativamente os resultados da caracterização morfológica apontam para uma heterogeneidade/diversidade da população microbiana dos painéis de azulejos amostrados. Um total de 199 isolados foi caracterizado morfológicamente e tipificado. A frequência relativa dos tipos morfológicos dos isolados de cada um dos painéis de azulejos encontra-se representada graficamente na Tabela 2.

Tabela 2 – Frequência relativa dos tipos morfológicos dos isolados de cada um dos três painéis de azulejos.

	Frequência relativa (%)				
	Grupo I	Grupo V	Grupo VI	Grupo XI	
	0	18	12	61	3
Doses (kGy)	1	0	0	1	12
	2	0	9	0	0
	4	11	0	0	86

“Grande panorama de Lisboa” – exposto: $n = 60$ /reserva: $n = 106$; Quinta de Santo António: $n = 33$.

Nota: Os grupos morfológicos II, III, IV, VII, VIII, IX e X foram retirados por não apresentarem valores de frequência relativa significativos.

Considerando os 11 tipos morfológicos definidos, os isolados do “Grande Panorama de Lisboa” agruparam-se em 4 tipos morfológicos para o painel em reserva, e em 5 tipos para o painel exposto. Os microrganismos mais frequentes foram os bacilos gram positivos produtores de endósporos (tipo morfológico V; 46%) para os azulejos expostos, e os cocos gram positivos catalase positivos (tipo morfológico I; 80%) para os azulejos em reserva. Esta diversidade poderá dever-se aos diferentes ambientes a que cada uma das partes do painel está sujeita, a fracção do painel em armazém mais resguardado do que o exposto, que apresenta mais sinais de biodeterioração.

O painel da “Quinta de Santo António”, em restauro numa zona aberta do Museu do Azulejo, apresentou uma população microbiana distinta constituída por 5 grupos morfológicos, sendo o mais frequente os bacilos gram positivos não produtores de endósporos (61%).

Relativamente aos fungos filamentosos, considerados um dos principais agentes de biodeterioração, foram detectados com uma frequência que variou entre 3 a 8%.

A identificação de comunidades microbianas constituídas por bactérias e fungos em azulejos foi anteriormente referenciada (GIACOMUCCI *et al.*, 2011; KRIEG & HOLT, 1984), porém não existe até à data nenhuma citação quantitativa da microbiota dos azulejos.

3.2 – Estudos de inactivação microbiana

Com o objectivo de estudar a inactivação da população microbiana em azulejos, amostras do painel da “Quinta de Santo António” foram irradiadas numa fonte de Co-60 às doses sub-letais de 1, 2 e 4 kGy (1 azulejo/dose). De uma forma generalizada, assume-se que a inactivação microbiana por um agente letal segue uma cinética exponencial. Especificando para a radiação ionizante, esta cinética caracteriza-se por um decréscimo exponencial do número de sobreviventes em função da dose absorvida. O logaritmo do número estimado de sobreviventes em função da dose absorvida encontra-se representado graficamente na Fig. 1.

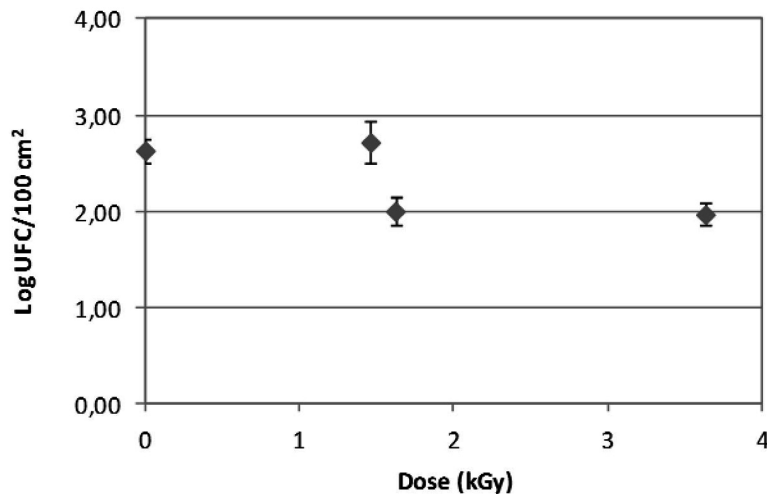


Fig. 1 – Curva de sobrevivência para a população microbiana de azulejos da “Quinta de Santo António” irradiados na fonte de Co-60 ($3 < n < 12$; $\alpha = 0,05$).

Com base nos resultados obtidos, a microbiota das amostras de azulejos analisadas não segue uma cinética de inactivação exponencial. Porém, um decréscimo significativo de aproximadamente 25% ($P < 0,05$) da população microbiana dos azulejos foi verificado a partir dos 2 kGy. De salientar, que foram utilizadas baixas doses de radiação gama com intuito de se obterem microrganismos sobreviventes, não se pretendendo igualmente provocar alterações visuais e estruturais nos azulejos.

O perfil morfológico da população microbiana antes e após irradiação ($n=206$) foi analisado de forma a conhecer a sua dinâmica com as doses de radiação gama aplicadas. A frequência relativa dos tipos morfológicos dos microrganismos sobreviventes para cada dose encontra-se representada graficamente na Tabela 3. Os resultados obtidos indicaram que, com o aumento da dose, o tipo morfológico inicialmente maioritário (Grupo V – bacilos não esporulados) vai desaparecendo, prevalecendo os fungos filamentosos (Grupo XI, 86%). A baixa eficiência de inactivação obtida poderá dever-se à heterogeneidade da população microbiana e à sua constituição, dado que os fungos filamentosos são usualmente considerados mais resistentes à radiação gama do que as bactérias.

É de referir que o intuito da aplicação radiação gama como processo de conservação não é a esterilização, mas sim a descontaminação, ou seja a redução significativa (> 90%) do número de microrganismos detectados nos azulejos. Contudo, doses mais elevadas devem ser testadas para aumentar a eficiência da inactivação microbiana, sem que ocorram alterações indesejáveis nas propriedades visuais (*e.g.* escurecimento) e estruturais dos azulejos.

Tabela 3 – Frequência relativa dos tipos morfológicos dos microrganismos iniciais.

		Frequência relativa (%)				
		Grupo I	Grupo V	Grupo VI	Grupo VIII	Grupo XI
Doses (kGy)	0	18	12	61	6	3
	1	0	0	1	87	12
	2	0	9	0	91	0
	4	11	0	0	0	86

Amostras não irradiadas (0 kGy; n = 33) e sobreviventes (n = 173) às doses de radiação gama a que amostras de azulejos do painel da “Quinta de Santo António” foram expostas.

Nota: Os grupos morfológicos II, III, IV, VII, IX e X foram retirados por não apresentarem valores de frequência relativa significativos.

4 – CONCLUSÕES

Os materiais ao interagir com o meio ambiente sofrem transformações constantes. No entanto, quando as alterações são irreversíveis, gerando perda de valor, o processo é denominado degradação e se resultante actividade metabólica de organismos biodegradação ou biodeterioração. Entre os microrganismos que podem contribuir significativamente para a deterioração de materiais de natureza mineral como o cimento, pedras, aço cerâmica e vidro encontram-se as bactérias heterotróficas, fungos e algas (PEDI *et al.*, 2009).

Com base na metodologia utilizada foi estimada para as amostras de azulejos analisadas, uma carga microbiana de 100 – 1000 UFC por 100 cm² de azulejos, constituída maioritariamente por bactérias. Entre os três painéis de azulejos amostrados, a constituição morfológica da comunidade microbiana não demonstrou um padrão de contaminação. Adicionalmente, o painel “Grande Panorama de Lisboa” localizado em dois locais diferentes apresentou um perfil da população microbiana distinto, o que poderá indicar que a composição físico-química do azulejo não é um factor preponderante na sua biocontaminação. No entanto, a heterogeneidade da população microbiana entre painéis aponta o factor ambiente como um potencial parâmetro crítico na biodeterioração dos azulejos.

A resposta dos microrganismos à radiação pode ser considerada multifactorial, dependendo de factores intrínsecos (mecanismos enzimáticos de reparação), mas também de factores extracelulares, como a temperatura, a atmosfera gasosa, a actividade da água (a_w), pH, componentes químicos do substrato (neste caso específico a composição do azulejo), o débito de dose e as condições de armazenamento após irradiação. A irradiação de azulejos com radiação gama (doses entre 1 e 4 kGy) indicou uma eficiência máxima de inactivação microbiana de 25%, e uma comunidade microbiana após irradiação composta maioritariamente por fungos filamentosos. Os resultados obtidos sugerem a potencialidade de aplicação da radiação gama na descontaminação de azulejos como tratamento de conservação. Futuramente irão ser testadas doses mais elevadas de radiação gama em diferentes tipos de azulejos, de modo a estudar o padrão de inactivação microbiano sem que ocorram alterações irreversíveis nas propriedades visuais (*e.g.* escurecimento) e estruturais dos azulejos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Museu Nacional do Azulejo pela disponibilidade e fornecimento das amostras de azulejos. Este trabalho foi suportado financeiramente pelo projecto RADIART (PTDC/HIS-HEC/101756/2008).

REFERÊNCIAS

- DA SILVA, M.; MORAES, A. M. L.; NISHIKAWA, M. M.; GATTI, M. J. A.; VALLIM DE ALENCAR, M. A.; BRANDÃO, L. E. & NÓBREGA, A. (2006) – Inactivation of fungi from deteriorated paper materials by radiation. *International Biodeterioration & Biodegradation* 57, p. 163 – 167
- GERHARDT, P.; MURRAY, R. G. E.; WOOD, W. A. & KRIEG, N. R. (1994) – *Methods for general and molecular bacteriology*. Washington: American Society for Microbiology.
- GIACOMUCCI, L.; BERTONCELLO, R.; SALVADORI, O.; MARTINI, I.; FAVARO, M.; VILLA, F.; SORLINI, C. & CAPPITELLI, F. (2011) – Microbial Deterioration of Artistic Tiles from the Façade of the Grande Albergo Ausonia & Hungaria (Venice, Italy). *Microbial Ecology*, DOI 10.1007/s00248-011-9812-0.
- GIANNANTONIO, D. J.; KURTH, J. C.; KURTIS, K. E. & SOBECKY, P. A. (2009) – Molecular characterizations of microbial communities fouling painted and unpainted concrete structures. *International Biodeterioration and Biodegradation* 63, p. 30-40.
- KRIEG, N. R. & HOLT, J. G. (1984) – *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 1st edition. Baltimore: Williams & Wilkins.
- PEDI, N.; CONCEIÇÃO, E.; FERNANDES, M. J.; MASSA, D.; NOGUEIRA, E.; PÉRSIDE, R.; ARCOVERDE, J. H.; LEMOS, S.; MARSDEN, A. & NEVES, R. (2009) – Fungos isolados em azulejos do convento de Santo António, Recife, Pernambuco. *JEPEX 2009 – IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFRPE*, p. 550-551.
- PEPE, O.; SANNINO, L.; PALOMBA, S.; ANASTASIO, M.; BLAIOTTA, G.; VILLANIA, F. & MOSCHETTI, G. (2008) – Heterotrophic microorganisms in deteriorated medieval wall paintings in southern Italian churches. *Microbiological Research* 165 (1), p. 21-32.
- POLO, A.; CAPPITELLI, F.; BRUSETTI, L.; PRINCIPI, P.; VILLA, F.; GIACOMUCCI, L.; RANALLI, G. & SORLINI, C. (2010) – Feasibility of Removing Surface Deposits on Stone Using Biological and Chemical Remediation Methods. *Microbial Ecology* 60, p. 1-14.
- RIZZO, M. M.; MACHADO, L. D. B.; BORRELY, S. I.; SAMPA, M. H. O.; RELA, P. R.; FARAH, J. P. S. & SCHUMACHER, R. I. (2002) – Effects of gamma rays on restored painting from the XVIIth century. *Radiation Physics and Chemistry* 63, p. 259-262.
- WARSCHEID, T. H. & BRAAMS, J. (2000) – Biodeterioration of stone: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation* 46, p. 343-368.
- WATANABE, K.; OHFUJI, H.; ANDO, J. & KITAGAWA, R. (2006) – Elemental behavior during the process of corrosion of sekishu glazed roof-tiles affected by *Lecidea* s. lat. sp. (crustose lichen). *Clay Minerals* 41 (4), p. 819-826.

