



**ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DE
COIMBRA**

Instituto Politécnico de Coimbra

*EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL A AGENTES
BIOLÓGICOS EM CENTROS DE TRIAGEM DE
RESÍDUOS*

Vânia Liliane Oliveira Fernandes dos Santos

COIMBRA, 2017

**ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DE
COIMBRA**

Instituto Politécnico de Coimbra

*EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL A AGENTES
BIOLÓGICOS EM CENTROS DE TRIAGEM DE
RESÍDUOS*

Vânia Liliane Oliveira Fernandes dos Santos

Orientadora: Professora Doutora Marta Vasconcelos

Co-orientadora: Professora Doutora Joana Cardoso

Coordenador do Mestrado: Mestre Hélder Simões

Mestrado em Segurança e Saúde do Trabalho

COIMBRA, 2017

EPÍGRAFE

A persistência é o menor caminho do êxito. (Charles Chaplin)

*"Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para
que o melhor fosse feito". (Marthin Luther King)*

AGRADECIMENTOS

Quando me propus para realizar o presente estudo encarei-o como “o” desafio a superar, obrigatoriamente. Conseguir conciliá-lo com a minha vida pessoal e profissional, alienado à distância, não foi nada fácil. Não teria conseguido concretizá-lo sem o apoio incondicional da Professora Doutora Marta Jorge de Vasconcelos Pinto e do Professor Doutor João Paulo de Figueiredo, cujo empenho e ajuda foram visíveis desde o princípio. À Professora Doutora Marta Jorge de Vasconcelos Pinto que me orientou para a realização do presente trabalho, desde a pesquisa bibliográfica até ao trabalho científico resultante do mesmo, concedendo acompanhamento e disponibilidade ao longo deste percurso. Ao Professor Doutor João Paulo de Figueiredo pelo imprescindível apoio e orientação no tratamento estatístico. E à Professora Doutora Joana Santos Guerreiro coordenadora do projeto de investigação “Avaliação do risco biológico em unidades de recolha seletiva e aterro sanitário”. Agradeço igualmente aos restantes Professores do Mestrado, pelos conhecimentos transmitidos.

Durante todo este caminho, o apoio familiar foi imprescindível. Não consigo exprimir por palavras o carinho e a dedicação prestado pelo meu namorado, pelos meus pais e pela minha irmã. Ao meu Dinis, pelo apoio incondicional em todas as etapas, quer através da revisão de todo o trabalho, quer pelo afeto e amor ao longo deste percurso.

Por fim, gostaria de dedicar o presente trabalho aos meus pais, que sempre me incentivaram a ultrapassar todos os obstáculos, ao longo da minha vida.

ÍNDICE

Epígrafe	iv
Agradecimentos	v
Índice	vii
Índice de Gráficos.....	ix
Índice de Tabelas	xi
Resumo.....	xvii
Abstract	xix
Lista de Abreviaturas	xxi
1. Introdução	23
1.1. Exposição ocupacional a agentes biológicos	25
1.2. Formas de exposição a agentes biológicos	31
1.2.1. Exposição por inalação.....	31
1.2.2. Exposição por contacto	32
1.3. Avaliação e gestão do risco biológico	32
1.3.1. Avaliação referente à exposição ambiental	34
1.3.2. A avaliação referente à exposição por contacto	39
1.4. Avaliação do risco biológico na indústria de triagem dos resíduos	41
2. Objetivos	49
2.1. Objetivo geral.....	49
2.2. Objetivos específicos	49
3. Material e métodos.....	51
3.1. Caracterização da amostra	51
3.2. Metodologias e recolha de dados.....	54
3.3. Tratamento Estatístico dos dados	55
4. Resultados	57
4.1. Avaliação Ambiental	57
4.1.1. Contagem de bactérias e fungos viáveis tendo em conta os três pontos analisados.....	57
4.1.2. Avaliação do risco biológico (bactérias e fungos), na Zona Crítica.....	62
4.1.3. Contagem de bactérias e fungos viáveis nas diferentes empresas.....	65
4.1.3.1. Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa A..	67

4.1.3.2.	Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa B..	69
4.1.3.3.	Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa C..	71
4.1.3.4.	Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa D..	72
4.1.3.5.	Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa E..	75
4.1.3.6.	Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa A	77
4.1.3.7.	Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa B	79
4.1.3.8.	Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa C	81
4.1.3.9.	Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa D	83
4.1.3.10.	Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa E	85
4.1.4.	Sinopse da Avaliação Ambiental	87
4.2.	Avaliação de Superfícies e Manipuladores	88
4.2.1.	Contaminação microbiológica e fúngica obtida em amostras de indicadores de higiene e em amostras de ar ambiente na ZC tendo em conta os pontos de colheita.....	88
4.2.2.	Contagem de bactérias e fungos viáveis nas diferentes empresas.....	95
4.2.2.1.	Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa A..	97
4.2.2.2.	Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa B..	98
4.2.2.3.	Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa C.	100
4.2.2.4.	Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa D.	102
4.2.2.5.	Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa E.	104
4.2.2.6.	Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa A	106
4.2.2.7.	Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa B	108
4.2.2.8.	Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa C	110
4.2.2.9.	Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa D	113
4.2.2.10.	Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa E	115
4.2.3.	Sinopse da Avaliação de Superfícies e Manipuladores.....	117
5.	Discussão	119
6.	Conclusão	131
7.	Referências Bibliográficas	133
8.	Anexos	137

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Diagrama de extremos e quartis das contagens totais de bactérias (ufc/m ³), em amostras de ar ambiente, na ZC, ZNC e PC	59
Gráfico 2 – Diagrama de extremos e quartis das contagens totais de fungos (ufc/m ³), em amostras de ar ambiente, na ZC ZNC e PC	61
Gráfico 3 – Diagrama de extremos e quartis das contagens totais de bactérias (ar ambiente- ufc/m ³) na ZC	62
Gráfico 4 – Diagrama de extremos e quartis das contagens totais de fungos (ufc/m ³), em amostras de ar ambiente, na ZC	63
Gráfico 5 - Diagramas de extremos e quartis das contagens da espécie <i>Aspergillus niger</i> (ufc/m ³), em amostras de ar ambiente, na ZC.....	64
Gráfico 6 – Diagramas de extremos e quartis das contagens do género <i>Cladosporium</i> spp. (ufc/m ³), em amostras de ar ambiente, na ZC.....	64
Gráfico 7 – Diagramas de extremos e quartis das contagens do género <i>Penicillium</i> spp. (ufc/m ³), em amostras de ar ambiente, na ZC.....	64
Gráfico 8 – Diagramas de extremos e quartis das contagens do género <i>Rhodotorula</i> spp. (ufc/m ³), em amostras de ar ambiente, na ZC.....	64
Gráfico 9 – Diagrama de extremos e quartis das contagens totais de bactérias (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfície – ufc/dm ²) em amostras de indicadores de higiene e ar ambiente	91
Gráfico 10 – Diagrama de extremos e quartis das contagens totais de fungos (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfície – ufc/dm ²) em amostras de indicadores de higiene e ar ambiente.	94

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Principais bioaerossóis que poderão estar presentes no ar [adaptado de (Goyer et al., 2001)].....	27
Tabela 2 – Principais microbiotas que poderão estar presentes no ar [adaptado de (Goyer et al., 2001)].....	29
Tabela 3 – Classificação dos Agentes Biológicos [adaptado de (Parlamento Europeu, 2000)].....	33
Tabela 4 – Microrganismos aéreos nas várias etapas de tratamento de resíduos [adaptado de (European Agency for Safety and Health at Work., 2007)]	44
Tabela 5 – Contagem de bactérias viáveis tendo em conta os três pontos analisados (ufc/m ³)	58
Tabela 6 – Contagem de fungos viáveis tendo em conta os três pontos analisados (ufc/m ³)	60
Tabela 7 – Contagens totais de bactérias e fungos viáveis, por ponto de colheita (ufc/m ³) ..	61
Tabela 8 – Contagem de bactérias viáveis nas diferentes empresas (ufc/m ³).....	65
Tabela 9 – Contagem de fungos viáveis nas diferentes empresas (ufc/m ³)	66
Tabela 10 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa A (ufc/m ³)	67
Tabela 11 – Avaliação do risco biológico (bactérias), na Zona Crítica, na Empresa A (ufc/m ³)	68
Tabela 12 – Média das contagens totais (ufc/m ³) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa A	68
Tabela 13 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa B (ufc/m ³)	69
Tabela 14 – Avaliação do risco biológico (bactérias), na Zona Crítica, na Empresa B (ufc/m ³)	70
Tabela 15 – Média das contagens totais (ufc/m ³) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa B	70

Tabela 16 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa C (ufc/m ³)	71
Tabela 17 – Avaliação do risco biológico (bactérias), na Zona Crítica, na Empresa C (ufc/m ³)	71
Tabela 18 – Média das contagens totais (ufc/m ³) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa C	72
Tabela 19 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa D (ufc/m ³)	72
Tabela 20 – Avaliação do risco biológico (bactérias), na Zona Crítica, na Empresa D (ufc/m ³)	73
Tabela 21 – Média das contagens totais (ufc/m ³) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa D	74
Tabela 22 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa E (ufc/m ³)	75
Tabela 23 – Avaliação do risco biológico (bactérias), na Zona Crítica, na Empresa E (ufc/m ³)	75
Tabela 24 – Média das contagens totais (ufc/m ³) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa E	76
Tabela 25 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa A (ufc/m ³)	77
Tabela 26 – Avaliação do risco biológico (fungos), na Zona Crítica, na Empresa A (ufc/m ³)	77
Tabela 27 – Média das contagens totais (ufc/m ³) de cada fungo identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa A	78
Tabela 28 – Contagem total de bactérias e fungos viáveis (ufc/m ³), por ponto de colheita, na Empresa A.....	78
Tabela 29 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa B (ufc/m ³)	79
Tabela 30 – Avaliação do risco biológico (fungos), na Zona Crítica, na Empresa B (ufc/m ³)	79

Tabela 31 – Média das contagens totais (ufc/m ³) de cada fungo identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa B	80
Tabela 32 – Contagem total de bactérias e fungos viáveis (ufc/m ³), por ponto de colheita, na Empresa B.....	80
Tabela 33 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa C (ufc/m ³)	81
Tabela 34 – Avaliação do risco biológico (fungos), na Zona Crítica, na Empresa C (ufc/m ³) .	81
Tabela 35 – Média das contagens totais (ufc/m ³) de cada fungo identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa C	82
Tabela 36 – Contagem total de bactérias e fungos viáveis (ufc/m ³), por ponto de colheita, na Empresa C.....	82
Tabela 37 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa D (ufc/m ³)	83
Tabela 38 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa D (ufc/m ³)	83
Tabela 39 – Média das contagens totais (ufc/m ³) de cada fungo identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa D	84
Tabela 40 – Contagem total de bactérias e fungos viáveis (ufc/m ³), por ponto de colheita, na Empresa D.....	84
Tabela 41 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa E (ufc/m ³)	85
Tabela 42 – Avaliação do risco biológico (fungos), na Zona Crítica, na Empresa E (ufc/m ³) .	85
Tabela 43 – Média das contagens totais (ufc/m ³) de cada fungo identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa E	86
Tabela 44 – Contagem de bactérias e fungos viáveis (ufc/m ³), por ponto de colheita, na Empresa E	86
Tabela 45 – Contagem de bactérias e fungos viáveis (ufc/m ³), por ponto de colheita, em cada empresa.....	87

Tabela 46 – Contagem de bactérias viáveis tendo em conta os pontos analisados (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfícies - ufc/dm ²)	89
Tabela 47 – Contagem de fungos viáveis tendo em conta os pontos analisados (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfícies - ufc/dm ²)	92
Tabela 48 – Contagens totais de bactérias e fungos viáveis (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfície - ufc/dm ²), obtidas em amostras de indicadores de higiene e em amostras de ar ambiente, na ZC	94
Tabela 49 – Contagem de bactérias viáveis nas diferentes empresas (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfícies - ufc/dm ²)	95
Tabela 50 – Contagem de fungos viáveis nas diferentes empresas (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfícies - ufc/dm ²)	96
Tabela 51 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa A (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfícies - ufc/dm ²)	97
Tabela 52 – Média das contagens totais (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfície - ufc/dm ²) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa A	97
Tabela 53 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa B (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfícies - ufc/dm ²)	99
Tabela 54 – Média das contagens totais (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfície - ufc/dm ²) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa B	99
Tabela 55 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa C (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfícies - ufc/dm ²)	101
Tabela 56 – Média das contagens totais (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfície - ufc/dm ²) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa C	101
Tabela 57 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa D (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfícies - ufc/dm ²)	103
Tabela 58 – Média das contagens totais (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfície - ufc/dm ²) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa D	104

Tabela 59 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa E (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfícies - ufc/dm ²)	105
Tabela 60 – Média das contagens totais (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfícies - ufc/dm ²) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa E	105
Tabela 61 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa A (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfícies - ufc/dm ²)	107
Tabela 62 – Contagem total de bactérias e fungos viáveis, por ponto de colheita, na Empresa A (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfícies - ufc/dm ²)	107
Tabela 63 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa B (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfícies - ufc/dm ²)	109
Tabela 64 – Média das contagens totais (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfície - ufc/dm ²) de cada fungo identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa B109	
Tabela 65 – Contagem total de bactérias e fungos viáveis, por ponto de colheita, na Empresa B (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfícies - ufc/dm ²)	110
Tabela 66 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa C (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfícies - ufc/dm ²)	111
Tabela 67 – Média das contagens totais (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfície - ufc/dm ²) de cada fungo identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa C111	
Tabela 68 – Contagem total de bactérias e fungos viáveis, por ponto de colheita, na Empresa C (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfícies - ufc/dm ²)	112
Tabela 69 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa D (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfícies - ufc/dm ²)	114
Tabela 70 – Média das contagens totais (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfície - ufc/dm ²) de cada fungo identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa D	114
Tabela 71 – Contagem total de bactérias e fungos viáveis, por ponto de colheita, na Empresa D (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfícies - ufc/dm ²)	115
Tabela 72 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa E (ar - ufc/m ³ ; manipulador e superfícies - ufc/dm ²)	116

Tabela 73 – Média das contagens totais (ar - ufc/m³; manipulador e superfície - ufc/dm²) de cada fungo identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa E116

Tabela 74 – Contagem total de bactérias e fungos viáveis, por ponto de colheita, na Empresa E (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)117

Tabela 75 – Contagem de bactérias e fungos viáveis (ufc/m³), por ponto de colheita, em cada empresa.....118

RESUMO

Os agentes microbiológicos são ubiqüitários no ambiente de trabalho e podem constituir um risco para a saúde dos trabalhadores. A principal fonte de exposição a agentes biológicos são pequenas partículas transportadas pelo ar, os bioaerossóis, que são compostos por microrganismos, toxinas ou fragmentos de microrganismos. Os bioaerossóis são considerados veículos importantes de microrganismos nos locais de trabalho sendo reconhecida a interação com outros agentes ocupacionais. A relação dose/efeito resultante a exposição a agentes biológicos não se encontra claramente estabelecida para a vasta maioria de agentes, realidade que determina a prevalência de lacunas no domínio do estabelecimento de valores-limite de exposição. O desenvolvimento de estudos de caracterização da exposição ocupacional a agentes biológicos pode contribuir para o estabelecimento de medidas de prevenção, objetivando a garantia de condições de segurança e saúde no trabalho adequadas, num setor reconhecidamente crítico no que respeita à exposição a condições adversas.

O presente estudo foi desenvolvido na sequência da investigação de Vasconcelos Pinto et al. (Pinto, 2013; Vasconcelos Pinto et al., 2015). O objetivo geral deste estudo centra-se no reconhecimento da exposição ocupacional a agentes biológicos nos centros de triagem. Para tal foram analisadas recolhas ambientais de ar, superfícies e manipuladores (mãos dos operadores) realizadas em 5 empresas, mediante a identificação de bactérias e fungos viáveis. As colheitas ambientais foram realizadas em três zonas distintas: Zona Crítica (ZC - triagem de resíduos), Zona Não Crítica (ZNC - serviços administrativos) e Ponto de Controlo (PC - exterior). As colheitas de superfícies foram efetuadas em locais estratégicos tendo em consideração o percurso efetuado em cada unidade industrial (torneira e maçaneta das instalações sanitárias; maçaneta de cacifos; maçaneta dos serviços administrativos e interior de máscaras de proteção respiratória). A amostragem foi do tipo não probabilística e por conveniência. Os dados foram analisados com recurso ao *software* estatístico IBM SPSS versão 24. A interpretação dos testes estatísticos foi realizada com base no nível de significância de $p=0,05$, com intervalo de confiança de 95%. Devido à natureza dos dados, aplicou-se o teste não-paramétrico de *Kruskal-Wallis* e o teste *Wilcoxon-Mann-Whitney*. De seguida fizeram-se comparações múltiplas aplicando um Teste Bonferroni corrigido (DUNN).

Os resultados obtidos revelaram a existência de exposição variável a agentes biológicos nos centros de triagem em estudo. Nas cinco empresas analisadas, as espécies de bactérias e fungos viáveis identificadas com maior expressão, em termos de contagem em amostras de ar na Zona Crítica (ZC) foram igualmente identificadas na Zona Não Crítica (ZNC) e no Ponto de Controlo (PC). Em termos de contaminação ambiental, o setor da Triagem de vidro revelou ser o mais crítico.

A biodiversidade bacteriana no ar interior é dominada pelos géneros *Staphylococcus* e *Bacillus*, sendo as espécies mais frequentes *Staphylococcus* coagulase negativa e *Bacillus cereus*. Em relação à contaminação fúngica ambiental, os géneros mais frequentemente isolados foram *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Penicillium*.

No que concerne à avaliação da contaminação microbiológica das superfícies ou fomites, constatou-se que a torneira das instalações sanitárias/balneários apresentou maior prevalência de espécies bacterianas destacando-se o género *Staphylococcus*, tendência igualmente verificada nas mãos dos operadores, predominantemente colonizadas por bactérias. A contaminação fúngica de superfícies revelou a predominância do género *Penicillium*. Os microrganismos identificados são na sua maioria não classificados (NC) de acordo com a Portaria n.º 405/98, de 11 de julho e a Portaria n.º 1036/98, de 15 de dezembro, tendo sido isoladas algumas estirpes pertencentes ao grupo 2.

Não se verificou correlação entre os resultados quantitativos da contaminação bacteriana e fúngica do ar e a das superfícies e manipuladores das 5 empresas monitorizadas.

A inexistência de valores limite legalmente estabelecidos, torna impraticável a avaliação da gravidade resultante da exposição ocupacional a agentes biológicos. O estudo da exposição ocupacional a bioaerossóis encontra-se ainda em desenvolvimento, pretendendo-se com este estudo contribuir para o conhecimento da exposição a bactérias e fungos viáveis na indústria de resíduos, bem como o reconhecimento de outras formas ou vias de exposição ocupacional para além da inalatória.

Concluiu-se, portanto, que é necessária intervenção em Saúde Ocupacional no âmbito da vigilância ambiental e da vigilância da saúde, com o intuito de diminuir a exposição ocupacional a estes agentes. Para a prossecução desse objetivo, sugere-se a implementação de medidas preventivas, nomeadamente a adoção de processos que minimizem a emissão de poeiras no ambiente de trabalho; o controlo da contaminação das superfícies mediante procedimentos de lavagem e desinfeção eficazes, de modo a minimizar a proliferação da contaminação das superfícies; a vigilância criteriosa de parâmetros de saúde relacionados com a exposição a agentes biológicos, inserida num protocolo de vigilância da saúde; e, ainda, a sensibilização para a aplicação de medidas de higiene pessoal.

Palavras-chave

Agentes biológicos; triagem de resíduos; bioaerossóis; fomites

ABSTRACT

Microbiological agents are ubiquitous in the workplace and may compose a risk to workers' health. The main source of exposure to biological agents are small particles carried by air, the bioaerosols, which are composed of microorganisms, toxins or fragments of microorganisms. Bioaerosols are considered important vehicles of microorganisms in the workplace, and interaction with other occupational agents is also recognized. The dose/effect ratio resulting from exposure to biological agents is not clearly established for the vast majority of agents, a reality which determines the prevalence of gaps in the field of exposure limit values. The development of studies on the characterization of occupational exposure to biological agents can contribute to the establishment of preventive measures aiming at ensuring adequate occupational safety and health conditions in a sector recognized as being critical for exposure to adverse conditions.

The present study was developed following the investigation of Vasconcelos Pinto et al. (Pinto, 2013; Vasconcelos Pinto et al., 2015). The main objective of this study consists of determining the occupational exposure to biological agents in waste sorting plants. For such purpose, environmental collections of air, surfaces and manipulators (hands of operators) performed in 5 companies were analysed, through the identification of viable fungi and bacteria. Environmental samples were collected in three distinct areas: Critical Area (CA - waste sorting), Noncritical Area (NCA - administrative services) and Control Point (PC - outdoor). Surface samples were collected in strategic locations, taking into account the route taken in each industrial unit (water tap's and doorknob in the bathroom, lockers' knobs, administrative services knobs and the inside of protective breathing masks). Sampling was non-probabilistic and for convenience. The data were analyzed using the IBM SPSS statistical *software* version 24. The interpretation of statistical tests was performed based on the significance level of $p=0.05$, with a 95% confidence interval. Due to the nature of the data, the non-parametric Kruskal-Wallis test and *Wilcoxon-Mann-Whitney* test was applied followed by a Non-Parametric Multiple Comparison Test - Bonferroni correlation (DUNN).

The results showed the existence of variable exposure to biological agents in the waste sorting plants under study. In the five companies analyzed, the species of viable bacteria and fungi identified with greater expression, in terms of counting in air samples in the Critical Area (CA), were also identified in the Noncritical Area (NCA) and in the Control Point (PC). In terms of environmental contamination, the glass sorting area proved to be the most critical.

Bacterial biodiversity in indoor air is dominated by the genus *Staphylococcus* and *Bacillus*, with the most frequent species being coagulase negative *Staphylococcus* and *Bacillus cereus*. As concerns fungal environmental contamination, the most frequently isolated genus were *Aspergillus*, *Cladosporium* and *Penicillium*.

Regarding the microbiological contamination evaluation of the surfaces or fomites, it was verified that the water tap in the bathroom/bathing facilities presented a higher prevalence of bacterial species, standing out the genus *Staphylococcus*, a tendency also verified in the hands of the operators, predominantly colonized by bacteria. Fungal contamination of surfaces revealed the predominance of the genus *Penicillium*. The identified microorganisms are mostly unclassified (NC) according to Portaria no. 405/98, of July 11 and Portaria no. 1036/98, of December 15 (established by Portuguese Republic), which isolate some strains belonging to the group 2. There was no correlation between the quantitative results of bacterial and fungal contamination of the air and the surfaces and manipulators of the 5 monitored companies.

The absence of legally established limit values makes it impractical to assess the severity resulting from occupational exposure to biological agents. The study of occupational exposure to bioaerosols is still under development, but this study is intended to contribute for the knowledge of exposure to viable fungi and bacteria in the waste industry, as well as the recognition of other forms or routes of occupational exposure beyond of inhalation.

It was concluded, therefore, that an intervention in Occupational Health in the ambit of environmental surveillance and health surveillance is necessary, in order to reduce the occupational exposure to these agents. Aiming the achievement of this objective, it is suggested to implement preventive measures, namely the adoption of processes that minimize the emission of dust in the work environment; control of contamination of surfaces by efficient washing and disinfection procedures in order to minimize the proliferation of surface contamination; the careful monitoring of health parameters related to exposure to biological agents, as part of a health surveillance protocol; and awareness about the application of personal hygiene measures.

Key words

Biological Agents; Waste sorting; Bioaerosols; Fomites

LISTA DE ABREVIATURAS

β	Beta
CE	Comunidade Europeia
cm	Centímetrop
cm ²	Centímetro quadrado
COV's	Compostos Orgânicos Voláteis
dm ²	Decímetro quadrado
DRE	Diário da República Eletrónico
ECAL	Embalagens de cartão para alimentos líquidos
EPS	Poliestireno Expandido (esferovite)
EU	União Europeia
Gram (+)	Gram-positivo(a)
Gram (-)	Gram-negativo(a)
HEPA	High Efficiency Particulate Air (Alta eficiência na separação de partículas de ar)
HSE	Health and Safety Executive (Executivo de Saúde e Segurança)
IBM SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
IS	Instalações Sanitárias
ISQ	Instituto da Soldadura e Qualidade
m ³	Metro cúbico
n	N.º Amostras
NC	Não Classificados
ODTS	Organic Dust Toxic Syndrome (<i>Síndrome tóxico orgânico</i>)
OMS	Organização Mundial da Saúde (WHO = World Health Organization)
OSHA	Agência Europeia para a Segurança e Saúde no Trabalho
PC	Ponto de Controlo
PE	Polietileno
PEAD	Polietileno de alta densidade
PET	Polietileno tereftalato

PET Óleo	Polietileno tereftalato – óleos alimentares
PVC	Policloreto de vinilo
SA	Serviços Administrativos
UFC	Unidades Formadoras de Colónias
µm	Micrómetro
VHB	Vírus da Hepatite B
VHS	Vírus Herpes Simplex
VIH	Vírus da Imunodeficiência Humana
ZC	Zona Crítica
ZNC	Zona Não Crítica

1

INTRODUÇÃO

Existem diversos fatores ambientais que atuam sobre o indivíduo no seu ambiente de trabalho, entre os quais se podem identificar os agentes biológicos (Conceição Freitas, 2011). Da sua presença nos locais de trabalho podem advir situações de risco para os trabalhadores (Guedes, 2006).

Os agentes biológicos são definidos pela Diretiva 2000/54/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 18 de setembro de 2000 relativa à proteção dos trabalhadores contra riscos ligados à exposição a agentes biológicos durante o trabalho, como microrganismos - bactérias, vírus e fungos, incluindo os geneticamente modificados, as culturas de células e os endoparasitas humanos suscetíveis de provocar infeções, alergias ou toxicidade no corpo humano (Parlamento Europeu, 2000).

Os agentes biológicos estão omnipresentes em todo o meio que nos rodeia e coabitam em todos os seres vivos e por isso representam um perigo potencial, tanto para a saúde dos trabalhadores como em termos de saúde pública (Guedes, 2006). A exposição a estes microrganismos pode ocorrer numa multiplicidade de situações e atividades, implicando agentes e situações de risco muito distintos. A grande diferença existente entre os agentes biológicos e as demais substâncias perigosas é a respetiva capacidade de reprodução. Como são raramente visíveis, os riscos que comportam nem sempre são considerados (Agência Europeia para a Segurança e a Saúde no Trabalho, 2003). Em condições favoráveis, uma colónia pode desenvolver-se consideravelmente num curto período de tempo. O mecanismo básico de infeção é a cadeia de transmissão do reservatório - fonte de exposição - até ao hospedeiro (o trabalhador). Assim, a prevenção passará pelo bloqueio de um ou de vários meios na cadeia de transmissão (EU-OSHA, 2010). Os agentes biológicos podem ser classificados quanto à sua transmissibilidade. Esta pode ser direta, de pessoa para pessoa, ou indireta, através de objetos, animais ou outros vetores (Franco et al., 2004).

As principais vias de entrada no organismo envolvidas no processo de contaminação biológica são a via cutânea ou percutânea (com ou sem lesões) através das membranas mucosas, a via respiratória (aerossóis), a via conjuntival e ainda a via digestiva, dependendo

da natureza da atividade a que o trabalhador seja exposto (Agência Europeia para a Segurança e a Saúde no Trabalho, 2003).

De acordo com a Agência Europeia para a Segurança e Saúde no Trabalho as bactérias e suas endotoxinas são responsáveis por um leque de patologias que podem ir desde doenças infecciosas, alergias, infecções do trato respiratório, efeitos tóxicos agudos, até efeitos letais como por exemplo septicemia, falência de órgãos, e, em alguns casos, morte. Os fungos e os seus esporos podem causar alergias, infecções respiratórias e asma. Diversas doenças podem ser transmitidas através do ar, sendo o aparelho respiratório, a pele e as mucosas as principais vias de acesso ao corpo humano. Assim a análise da qualidade microbiológica do ar é importante para compreender, prevenir e eliminar problemas provocados por microrganismos sobre a saúde humana (Lavoie, Dunkerley, Kosatsky, & Dufresne, 2006).

No âmbito da exposição ocupacional a agentes biológicos, o Decreto-Lei n.º 84/97, de 16 de abril, transpõe a Diretiva 90/679/CE do Conselho (alterada pela Diretiva 2000/54/CE do Parlamento Europeu e do Conselho) estabelece as prescrições mínimas de proteção, segurança e saúde no ambiente de trabalho, relativamente à exposição a agentes biológicos (Ministério para a Qualificação e o Emprego, 1997).

As consequências para a saúde decorrentes da exposição a agentes biológicos dependem da substância envolvida, do nível de exposição e da suscetibilidade individual do trabalhador exposto (European Agency for Safety and Health at Work., 2007). Os sintomas de saúde observados em trabalhadores envolvidos na gestão de resíduos vão desde infecções causadas por parasitas, vírus ou bactérias, alergias provocadas pela exposição a poeiras orgânicas, encaradas como um problema relacionado com a exposição a bioaerossóis, que são os principais responsáveis pela mobilidade dos microrganismos por via aérea. Por último, o envenenamento ou efeitos tóxicos, bem como, cancro ou danos no feto também podem ser consequência de alguns riscos biológicos (Agência Europeia para a Segurança e a Saúde no Trabalho, 2003).

Diversos estudos que abordam a temática da contaminação ambiental por bactérias e fungos incidem na qualidade do ar em ambientes interiores, procurando relacionar a sua exposição com o aparecimento de diferentes patologias nos trabalhadores. A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece 150 unidades formadoras de colónias (ufc) por metro cúbico (m³) como o limiar a partir do qual se desenvolvem efeitos adversos na saúde, especialmente se forem encontradas espécies patogénicas, considerando inaceitável a proliferação de determinadas espécies em ambiente interior (Goyer et al., 2001).

A dificuldade em estabelecer um método que permita conhecer a exposição profissional a bactérias e fungos é uma das maiores barreiras para conhecer o impacto da exposição ocupacional. A interpretação dos resultados sobre a avaliação da exposição profissional é

complexa, pois não existem limites estipulados e os conhecimentos científicos sobre a toxicologia precisam de ser aprofundados (Agência Europeia para a Segurança e a Saúde no Trabalho, 2003).

Os agentes biológicos estão presentes em diversas atividades com um elevado número de trabalhadores expondo-os a vários riscos que podem resultar da sua utilização intencional e deliberada ou involuntária. Esta exposição pode ser deliberada, como o exemplo das atividades desenvolvidas num laboratório de microbiologia, ou pode ocorrer em atividades em que a ocorrência do agente biológico é inerente ao processo produtivo, considerada como consequência não intencional da atividade, como é o exemplo das atividades agrícolas e da triagem de resíduos onde ocorre manipulação involuntária do agente biológico (Agência Europeia para a Segurança e a Saúde no Trabalho, 2003; Guedes, 2008), verificando-se o contacto direto dos trabalhadores com detritos e consequentemente com os agentes biológicos que podem estar presentes.

A indústria de triagem de resíduos é uma atividade de valor acrescentado com forte capacidade de crescimento, verificando-se um aumento acentuado do número de trabalhadores neste setor. Assim, a evolução das tecnologias de gestão de resíduos traduziu-se no aumento dos riscos a que estão expostos os trabalhadores que desenvolvem atividades de recolha, triagem, tratamento e eliminação dos mesmos. Os trabalhadores envolvidos nas atividades de triagem encontram-se identificados como sendo dos de maior risco de exposição a agentes biológicos, uma vez que os detritos são um meio ideal para a proliferação de microrganismos. Contudo, o conhecimento da exposição ao risco biológico ainda é relativamente escasso.

Assim, torna-se pertinente o desenvolvimento de mais pesquisa e o desenvolvimento de estudos para estabelecer melhores ferramentas de avaliação da exposição e validar métodos recentemente desenvolvidos.

1.1. Exposição ocupacional a agentes biológicos

O ambiente de trabalho está continuamente a alterar-se devido à introdução de novas tecnologias, substâncias e processos, mudanças na estrutura e mercado de trabalho, novas formas de emprego e organização do próprio trabalho. A introdução de novas características no local de trabalho induzem novos riscos e novos desafios tanto para os empregadores como para os trabalhadores, que por sua vez exigem abordagens políticas, administrativas, técnicas e legislativas para garantir elevados níveis de segurança e saúde no trabalho (European Agency for Safety and Health at Work., 2007).

A contaminação biológica, em ambientes interiores, é originada por um conjunto diverso de agentes biológicos que estão presentes no ar ambiente. Inclui a presença de agentes

infeciosos, como os vírus, as bactérias e os fungos; toxinas que são produzidas por alguns fungos e bactérias, com efeitos relevantes na saúde; alergénios que são os esporos de fungos e bactérias; pólenes; ácaros e excrementos (Guedes, 2008). Neste contexto, a maior parte das infeções bacterianas e fúngicas que ocorrem no ser humano são adquiridas essencialmente através do ambiente a que este está exposto.

A exposição profissional a bioaerossóis está, ainda, em desenvolvimento. Os bioaerossóis são definidos como partículas transportadas pelo ar, incluindo os esporos e as hifas de fungos, bactérias, endotoxinas, $\beta(1\rightarrow3)$ -glucanos, micotoxinas, alergénios de alto peso molecular e partículas (ou matéria particulada) que, em geral, são constituídas por agentes biológicos (Oppliger, 2014).

De seguida, apresentar-se-á um breve resumo das características essenciais dos agentes biológicos – bactérias e fungos, que foram os identificados neste estudo.

As bactérias são abundantes no ambiente e nos seres humanos. Existem mais de 150 mil espécies conhecidas de bactérias. O grupo das bactérias representa um vasto leque de microrganismos (organismos microscópicos) composto por organismos unicelulares procariotas, que se reproduzem por divisão celular simples (sem núcleo individualizado e sem organelos intra-celulares). Podem assumir a forma de esferas (cocos) ou de bastonetes (bacilos). A maioria das bactérias contém informação genética necessária e capacidade energética para garantir o seu crescimento e reprodução, sendo capazes de utilizar várias fontes de nutrientes inorgânicos e orgânicos. A maioria das espécies encontradas na qualidade do ar são saprófitas, o que significa que obtêm a sua energia a partir de fontes orgânicas (Abelho, 2010; Goyer et al., 2001).

As bactérias são classificadas com base em características celulares, morfológicas ou bioquímicas. Vários estudos têm sido desenvolvidos abordando a sobrevivência de aerossóis bacterianos. Neste âmbito, as bactérias apresentam diferentes tipos de revestimentos, com base na reação à mancha de Gram: Gram-positivas (+) revestidas por uma camada externa de peptidoglicano e as Gram-negativas (-) revestidas por uma camada externa de macromoléculas (lipopolissacarídeos), que assumem um papel relevante do ponto de vista da higiene industrial. As bactérias requerem muita humidade para se multiplicar. Aquando de uma infeção, a célula bacteriana desintegra-se e produz endotoxinas, responsáveis por um grande número de infeções. Algumas gram-positivas também produzem toxinas. As bactérias gram-positivas possuem uma parede mais resistente e algumas produzem esporos, os quais lhes conferem uma maior resistência às variações ambientais. Este grupo contém bactérias termofílicas, bactérias cujo crescimento é promovido a altas temperaturas e que são de particular interesse na qualidade do ar. Estas são diferentes das gram-negativas por serem excretadas e por interferirem especificamente com a função da célula hospedeira, sendo designadas por exotoxinas. As bactérias gram-negativas têm uma parede celular frágil que não tolera bem a desidratação e sofrem quando expostas ao ar por prolongados

períodos ou durante a amostragem. No interior, as espécies são mais numerosas e as concentrações estão acima das do exterior. Estudos do ar interior demonstraram que as bactérias Gram-positivas (+), nomeadamente as espécies de *Micrococcus* e *Staphylococcus*, são as que predominam em ambientes interiores, apesar das Gram-negativas (-) estarem igualmente presentes (Abelho, 2010; Gorny & Dutkiewicz, 2002; Goyer et al., 2001).

A maioria das bactérias naturalmente presentes não causam efeitos adversos à saúde. Algumas bactérias são mesmo essenciais para o corpo humano e para o meio ambiente. Os riscos para a saúde aparecem quando as concentrações de algumas espécies aumentam (Goyer et al., 2001). Sob condições favoráveis, as bactérias presentes na atmosfera são capazes de crescer e propagar numa variedade de superfícies, causando poluição interior. Muitas bactérias têm desenvolvido mecanismos de defesa que lhes permite sobreviver no estado aerolizado. Alguns géneros bacterianos, como *Bacillus* e *Clostridium*, formam endosporos, constituindo formas dormentes da célula. Os esporos bacterianos podem permanecer viáveis durante anos e são resistentes a *stresses* ambientais como o calor, o frio e a radiação ultra violeta. As formas vegetativas também desenvolvem mecanismos de defesa em que algumas espécies reduzem a sua taxa metabólica e o seu tamanho sob condições de limitação de nutrientes (Tang, 2009). Os principais géneros de bactérias potencialmente presentes no ar do local de trabalho, de acordo com a literatura estudada, estão listados na Tabela 1.

Tabela 1 – Principais bioaerossóis que poderão estar presentes no ar [adaptado de (Goyer et al., 2001)]

Bactérias Gram-negativo	
<i>Acinetobacter</i>	<i>Klebsiella</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>Legionella (eau)</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>Moraxella</i>
<i>Escherichia</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Flavobacterium</i>	<i>Xanthomonas</i>
Bactérias Gram-positivo	
<i>Arthrobacter</i>	<i>Micrococcus</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Staphylococcus</i>
<i>Kocuria</i>	<i>Streptococcus</i>
Bastonetes Gram-negativo e Actinomicetos irregulares	
<i>Corynebacterium</i>	<i>Norcardiopsis</i>
<i>Mycobacterium</i>	<i>Streptomyces</i>
<i>Saccharopolyspora</i>	<i>Thermoactinomyces</i>

Os fungos, por sua vez, são microrganismos eucarióticos que são ubíquos no meio ambiente e são saprófitas primários, o que significa que usam material orgânico morto como fonte de nutrientes para o seu crescimento e reprodução. Vários vivem no solo e participam ativamente na decomposição de material orgânico e são geralmente aeróbicos. Os seres humanos podem ser comumente expostos a mais de 200 espécies, várias das quais proliferam num ambiente húmido (Goyer et al., 2001; Oppliger & Duquenne, 2016).

Atualmente existem várias dezenas de milhares de espécies conhecidas de fungos e leveduras. Nem sempre temos presente que o pão, a cerveja, bem como, o vinho são

obtidos através da fermentação dos açúcares por meio de leveduras; que a penicilina é um produto do metabolismo de fungos do género *Penicillium* e que muitas proteínas e vitaminas, presentes no nosso quotidiano, são produtos do metabolismo de bactérias e/ou fungos. Sendo células eucariotas, possuem núcleo individualizado e organelos intra-celulares e são um grupo de organismos que inclui as leveduras, os bolores, os cogumelos, etc. Os fungos são organismos pluricelulares que se reproduzem através da formação de esporos que se disseminam com facilidade pelo ar, capazes de germinar em condições ambientais favoráveis (Abelho, 2010). A maioria deles produz grandes quantidades de esporos e materiais fúngicos que podem ser facilmente liberados para o ar, tanto através de mecanismos intrínsecos/naturais como através de eventos externos como atividades humanas (Oppliger & Duquenne, 2016).

A revisão literária centrada em estudos científicos publicados entre 2000 e 2014, efetuada por (Oppliger & Duquenne, 2016) analisou as espécies de fungos mais frequentemente encontradas em ambiente ocupacional e as tarefas com maior exposição, através da revisão das concentrações de fungos encontradas em ambientes de trabalho altamente contaminados e os principais determinantes. Esta revisão demonstrou que os trabalhadores em muitos setores ocupacionais estão expostos a níveis moderados, elevados ou mesmo muito elevados de partículas de fungos no ar.

Os principais géneros de fungos e leveduras potencialmente presentes no ar do local de trabalho, de acordo com a literatura estudada, estão listados na Tabela 2.

Tabela 2 – Fungos e Micotoxinas que poderão estar presentes no ar [adaptado de (Goyer et al., 2001)]

Fungos e Micotoxinas	
Gênero (Número de espécies)	Micotoxinas
<i>Acremonium</i> sp. (70)	---
<i>Alternaria</i> sp. (40-50)	<i>A. alternata</i> : alternariol, ácido tenuazoico
<i>Aspergillus</i> sp. (200)	<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> : aflatoxinas, citrinina <i>A. clavatus</i> : citocalasinas <i>A. fumigatus</i> : fumitremorgina, gliotoxina <i>A. niger</i> : ácido oxálico <i>A. ochraceus</i> : ocratoxina <i>A. versicolor</i> : esterigmatocistina
<i>Aureobasidium</i> sp. (15)	---
<i>Botrytis</i> sp.	---
<i>Chaetomium</i> sp. (80)	Caetomina <i>C. globosum</i> : caetoglobosinas
<i>Cladosporium</i> sp. (50)	Ácido epicladospórico, cladosporina
<i>Epicoccum</i> sp. (2)	Flavipina, epicorazinas, indole-3-acetonitrilo
<i>Fusarium</i> sp. (50-70)	Fumonisinias, tricotecenos: T-2, vomitoxina, zearalenona
<i>Geotrichum</i> sp.	---
<i>Memnodiella</i> sp.	Griseofulvina
<i>Mucor</i> sp. (50)	---
<i>Paecilomyces</i> sp. (31)	Paecilotoxinas <i>P. variatii</i> : patulina <i>P. expansum</i> : citrinina, patulina <i>P. griseo-fulvum</i> : griseofulvinas <i>P. viridiatum</i> : griseofulvinas, ocratoxinas <i>P. polonicum</i> : verrucosidina
<i>Penicillium</i> sp. (200)	<i>P. viridiatum</i> : griseofulvinas, ocratoxinas <i>P. polonicum</i> : verrucosidina
<i>Phoma</i> , sp.	<i>P. soghina</i> : ácido tenuazoico
<i>Stachybotrys</i> sp. (15)	<i>S. chartarum</i> : tricotecenos: satratoxina
<i>Trichoderma</i> sp. (20)	<i>T. viridi</i> : tricotecenos: satratoxina
<i>Ulocladium</i> sp. (9)	---
Leveduras	
<i>Candida</i>	<i>Trichosporon</i>
<i>Cryptococcus</i>	<i>Torulopsis</i>
<i>Rhodotorula</i>	

No setor de gestão de resíduos, os fungos ambientais colonizam e crescem na matéria orgânica sem qualquer controle humano. Estes desempenham um papel importante na decomposição da mesma e estão fortemente envolvidos no tratamento de resíduos (Oppliger & Duquenne, 2016).

As partículas de fungos no ar (fungos aéreos), encontradas em ambientes ocupacionais, consistem em esporos, fragmentos de micélio e detritos que estão presentes como partículas únicas ou agregados complexos. Uma vez em suspensão no ar, as partículas podem ser inaladas por trabalhadores expostos e causar sintomas diversos, incluindo alergias, irritações e infecções. A irritação dos olhos, do nariz e da garganta, bem como a tosse, são

frequentemente relatadas como efeitos a curto prazo da exposição a fungos aéreos, enquanto uma maior exposição está associada ao aumento do risco de doenças crônicas (Oppliger & Duquenne, 2016). A exposição a bioaerossóis em centros de reciclagem de resíduos está associada a uma série de efeitos adversos para a saúde respiratória, incluindo inflamação das vias aéreas superiores, asma alérgica e rinite alérgica. No entanto, os dados sobre exposição e saúde são escassos, dificultando a determinação do papel dos fungos nestes sintomas identificados. Os efeitos sentidos dependem das espécies presentes, dos produtos metabólicos produzidos, da concentração e da duração da exposição, bem como, da suscetibilidade individual (Goyer et al., 2001).

A correlação entre a exposição a fungos e as doenças profissionais é muitas vezes difícil de provar devido à (co)exposição a outros componentes dos bioaerossóis. Para evitar esses efeitos adversos para a saúde, a caracterização da exposição fúngica no ar ocupacional é essencial. Na maioria dos estudos, a presença e quantificação de fungos aéreos é avaliada pela cultura de partículas fúngicas viáveis e cultiváveis (designadas por Unidades Formadoras de Colônias - UFC) em agar nutriente ou através da contagem do número total de esporos. Também é possível avaliar a contaminação fúngica pela medição de β -D-glucanos, que são componentes das paredes celulares dos fungos. Os níveis de exposição dependem de vários fatores, que são importantes identificar (Oppliger & Duquenne, 2016).

A emissão de aerossóis de natureza fúngica durante operações de reciclagem de resíduos foi relatada em vários estudos. A concentração média ambiental de fungos aéreos nos centros de reciclagem Coreanos, por exemplo, foi medida em $1,8 \times 10^4$ ufc/m³ (Oppliger & Duquenne, 2016). Outro estudo realizado em duas centrais municipais de tratamento de resíduos sólidos na Finlândia revelou concentrações ambientais de 470 a $2,9 \times 10^5$ ufc/m³ para fungos aéreos cultiváveis (Oppliger & Duquenne, 2016). Outros níveis ambientais foram relatados num outro estudo realizado na Finlândia e níveis mais baixos foram medidos durante a reciclagem de garrafas de vidro no Canadá. A exposição dos trabalhadores que manipulam resíduos também foi relatada. Assim, a exposição individual aos fungos cultiváveis no ar entre a recolha de resíduos em Quebec foi encontrada entre $4,8 \times 10^3$ e $1,0 \times 10^5$ ufc/m³ (Oppliger & Duquenne, 2016). Foram encontrados níveis mais baixos de exposição a fungos ($< 1,8 \times 10^4$ ufc/m³) entre os manipuladores de resíduos na Alemanha (Oppliger & Duquenne, 2016). Ainda na Alemanha, as exposições individuais a fungos transmitidos no ar foram medidas até $6,2 \times 10^6$ ufc/m³ durante a reciclagem de têxteis, até $1,8 \times 10^6$ ufc/m³ durante a triagem e reciclagem de papel e cartão, e até $3,2 \times 10^6$ ufc/m³ durante a triagem e reciclagem de resíduos plásticos.

Os manipuladores de resíduos que trabalhavam numa central de triagem de papel na Dinamarca encontravam-se expostos a fungos no ar em níveis entre $1,5 \times 10^4$ e $4,5 \times 10^5$ ufc/m³. Os níveis de exposição entre $2,4 \times 10^4$ e $1,1 \times 10^5$ ufc/m³ foram registados durante a reciclagem e separação de resíduos na Coreia. As atividades de maior risco de exposição

incluíram operações de descarga, trituração, triagem e manutenção. Os principais fungos aéreos isolados em estudos recentes identificaram *Penicillium* sp., *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium* sp. e *Chrysonilia sitophilia*, sendo que poucos estudos sugeriram uma variação sazonal na exposição.

Os resultados dos diferentes estudos são difíceis de comparar. Na verdade, existe uma grande variedade de métodos distintos que são usados para colher e analisar fungos em aerossolizados, levando a que os resultados sejam também eles diferentes, em função da metodologia. A recolha de fungos aéreos é baseada na impactação ou filtração. Assim, o desenvolvimento de padrões internacionais seria um passo muito importante por forma a permitir a comparação confiável entre diferentes exposições ocupacionais (Goyer et al., 2001). A primeira etapa deverá passar pelo conhecimento das diferentes formas de exposição aos agentes biológicos.

1.2. Formas de exposição a agentes biológicos

A exposição e subsequente infeção de um indivíduo por um agente biológico pode ocorrer por diversas vias, nomeadamente por via oral (ingestão), por via ocular, por via parentérica por via respiratória (através da inalação) e por via dérmica (contacto).

1.2.1. Exposição por inalação

Várias atividades profissionais, onde se verifica forte presença de agentes biológicos, emergiram nos últimos anos, nomeadamente a indústria da gestão de resíduos e a produção de enzimas microbiológicas, bastante utilizadas na indústria alimentar. Outras têm também sido mencionadas enfatizando o elevado risco de infeções ocupacionais, designadamente agricultores, veterinários, técnicos de saúde e investigadores que estudam agentes infecciosos (Agência Europeia para a Segurança e a Saúde no Trabalho, 2003).

A via respiratória, através da inalação, constitui a principal via de entrada dos microbios, por onde entram os microrganismos e os seus produtos na forma de bioaerossóis.

A maioria dos bioaerossóis é de tamanho respirável, ou seja, na ordem de 0,003µm no caso dos vírus, de 0,5 a 20µm para as bactérias, de 10 a 100µm para o pólen de plantas e de 2 a 200µm para os fungos (Goyer et al., 2001).

O interesse internacional nos bioaerossóis, como agentes influenciadores da qualidade do ar nos locais de trabalho e a saúde dos trabalhadores, rapidamente incitou o conhecimento sobre a sua identificação, quantificação, presença nos diferentes locais de trabalho e os efeitos que podem produzir nas pessoas expostas, tendo sido beneficiado o conhecimento científico sobre a avaliação da exposição a partículas inaláveis.

Segundo (Goyer et al., 2001) existem várias explicações para o facto de ainda não existirem valores limite de exposição para os bioaerossóis, nomeadamente:

- A relação dose/efeito ainda não está devidamente estudada, tornando-se difícil o estabelecimento dessa relação, pois a suscetibilidade individual condiciona muito os resultados em relação aos efeitos na saúde. Além disso, a informação que existe é baseada em relações entre os efeitos na saúde e avaliações ambientais de casos específicos;
- Na maior parte dos casos, os efeitos relatados envolvem espécies específicas, enquanto em qualquer ambiente a diversidade das espécies é elevada. Os efeitos sinérgicos da múltipla exposição a bioaerossóis, por exemplo, a presença de espécies fúngicas e as micotoxinas produzidas por essas espécies, ainda não foram estudados;
- É difícil realizar estudos epidemiológicos rigorosos com o objetivo de estimar critérios de avaliação e de efeitos na saúde em grupos com número suficiente de trabalhadores;
- A composição e concentração das espécies são afetadas por vários fatores, incluindo alterações nas condições ambientais e no ciclo de vida das diferentes espécies provocando variações acentuadas;
- A informação existente sobre a exposição é baseada em amostragens com pouca duração, pois não é possível avaliar a exposição acumulada ao longo do tempo;
- Nenhum método consegue monitorizar todos os bioaerossóis presentes e muitas vezes verificam-se diferenças significativas nos métodos utilizados.

Desta forma, falta muita informação no estabelecimento de valores limite de exposição. Caso esses valores limite forem estabelecidos para um grupo de agentes biológicos ou para um agente específico, não só terão que definir um valor de concentração, mas também especificar a estratégia de avaliação e os métodos de amostragem e análise.

1.2.2. Exposição por contacto

O *Institut de Recherche Robert-Sauvé en Santé et en Sécurité du Travail* (2001) reforça a relevância da existência de outras fontes de exposição ocupacional a agentes biológicos além da exposição respiratória, referindo a ingestão e o contacto como formas possíveis de exposição (Goyer et al., 2001). O microbiota constituído por bactérias, fungos ou mesmo vírus podem ser, em contexto ocupacional, veiculados através de superfícies de contacto ou mesmo através de contacto direto (pele).

1.3. Avaliação e gestão do risco biológico

A Comissão Europeia solicitou um relatório à Agência Europeia para a Segurança e Saúde no Local de Trabalho que visava a identificação das necessidades em Saúde Ocupacional. O referido relatório considerou, como uma das prioridades de investigação, a avaliação e controlo da exposição a agentes biológicos nos locais de trabalho (European Agency for Safety and Health at Work., 2007).

O risco em contexto laboral pode ser interpretado como a combinação da probabilidade de ocorrência de um acontecimento perigoso ou exposição a um determinado perigo/fator de risco, com a severidade da lesão ou doença que pode ser causada pelo acontecimento ou exposição (Uva, 2006).

No caso dos agentes biológicos, e de modo a facilitar a gestão do risco decorrente da sua exposição, estes são classificados, de acordo com a Portaria n.º 405/98, de 11 de julho, posteriormente alterada pela Portaria n.º 1036/98, de 15 de dezembro, conforme a sua perigosidade ou risco de infeção, como se pode observar na Tabela 3, que posteriormente condiciona o aconselhamento e implementação das medidas de proteção a aplicar (Grupo 1 a 4). A sua classificação é baseada nos efeitos que produzem e as medidas disponíveis para o combater: tratamento e profilaxia.

Tabela 3 – Classificação dos Agentes Biológicos [adaptado de (Parlamento Europeu, 2000)]

Grupo	Definição
1	Agente biológico com baixa probabilidade de causar doenças no Homem.
2	Agente que pode causar doenças no Homem e constituir um perigo para os trabalhadores. É escassa a probabilidade da sua propagação na coletividade; regra geral, existem meios de profilaxia ou tratamento eficazes.
3	Agente que pode causar doenças graves no Homem e constituir um grave risco para os trabalhadores. É suscetível de se propagar na coletividade, muito embora se disponha geralmente de meios de profilaxia ou de tratamento eficazes.
4	Agente que causa doenças graves no Homem e que constitui um grave risco para os trabalhadores. Pode apresentar um risco elevado de propagação na coletividade; regra geral, não existem meios de profilaxia ou de tratamento.

Os principais objetivos da avaliação da exposição são a determinação da fonte do fator de risco, do tipo de exposição, da intensidade dessa exposição e do respetivo tempo de exposição, permitindo posteriormente, definir a aceitabilidade ou inaceitabilidade do risco (Uva, 2006).

O Decreto-Lei n.º 84/97, de 16 de abril preconiza indicações relativamente à avaliação de riscos que são da responsabilidade da entidade empregadora mediante a determinação da natureza e do grupo do agente biológico, bem como, do tempo de exposição dos trabalhadores. No contexto das obrigações gerais, os empregadores devem adotar as medidas necessárias para a segurança e saúde dos trabalhadores e que incluem a prevenção dos riscos ocupacionais (Ministério para a Qualificação e o Emprego, 1997). Com o objetivo de promover a segurança e saúde dos mesmos, atualmente a Lei n.º 102/2009, de 2 de setembro, alterada pela Lei n.º 28/2016, de 23 de agosto – Regime Jurídico da Promoção da Segurança e da Saúde no Trabalho, apresenta um conjunto de medidas destinadas aos empregadores, entre elas a responsabilidade de assegurar condições de segurança e saúde no local de trabalho através da identificação de todos os riscos previsíveis em todas as atividades desenvolvidas (Português Parlamento, 2009).

O controlo dos riscos biológicos integra-se na gestão de riscos laborais e requer a necessidade de um conhecimento específico nesta temática.

O anexo I do Decreto-Lei n.º 84/97, de 16 de abril apresenta a lista indicativa de atividades, entre as quais se encontram atividades intencionais e não intencionais de manipulação dos agentes biológicos. Entre as atividades suscetíveis de apresentar risco de exposição aos agentes biológicos encontram-se as atividades em unidades de recolha, transporte e eliminação de resíduos, onde se enquadram as várias atividades desempenhadas em centros de triagem de resíduos (Ministério para a Qualificação e o Emprego, 1997).

É assim necessária a realização da apreciação do risco, mediante a determinação da natureza e do grupo do agente biológico, bem como, o tempo de exposição do trabalhador a esse agente. Nas atividades que impliquem a exposição a várias categorias de agentes biológicos, a avaliação dos riscos, deve ser realizada com base no perigo resultante da presença de todos esses agentes.

De acordo com a Diretiva 93/67/CEE, de 20 de julho a avaliação dos riscos implica:

- identificação de perigo, que consiste em identificar os agentes biológicos presentes e os efeitos adversos que eles têm uma capacidade inerente de causar;
- avaliação da dose (concentração) - resposta (efeito), que é a estimativa da relação entre o nível de exposição a uma substância e a incidência e gravidade de um efeito;
- avaliação da exposição, que é a determinação das concentrações, das rotas de exposição, do potencial de absorção e da frequência e duração da exposição, a fim de estimar as doses a que os trabalhadores estão ou podem estar expostos;
- e uma caracterização do risco, que é a estimativa da incidência e gravidade dos efeitos adversos suscetíveis de ocorrer nos trabalhadores devido à exposição real ou prevista a uma substância (European Agency for Safety and Health at Work., 2007).

A prevenção dos riscos profissionais, qualquer que seja a respetiva estratégia de intervenção, implica o diagnóstico das situações de risco (*risk assessment*) suscetíveis de indicar as respetivas estratégias de gestão desses mesmos riscos (*risk management*) (Uva, 2006).

1.3.1. Avaliação referente à exposição ambiental

A avaliação do risco dos trabalhadores expostos a bioaerossóis permitirá identificar os locais de trabalho onde a exposição é mais crítica, com risco mais elevado, definindo-os como prioritários a nível da implementação de medidas preventivas. A identificação das variáveis ambientais que potenciam a exposição permitirá priorizar a intervenção em matéria de prevenção e o controlo dos fatores de risco. Assim, se os trabalhadores estiverem expostos a vários grupos de agentes biológicos, o risco deve ser avaliado em termos dos perigos que representam todos os agentes biológicos presentes. Esta avaliação de risco deve ser

efetuada regularmente, bem como aquando da alteração das condições de trabalho que pode afetar a exposição dos trabalhadores a tais agentes (European Agency for Safety and Health at Work., 2007). Além das concentrações no exterior (ponto de referência), as concentrações obtidas em locais de referência ou durante a paragem de um processo ou atividade profissional podem também ser utilizados (Goyer et al., 2001).

É importante referir que na avaliação ambiental de atmosferas contaminadas é necessária uma intervenção multidisciplinar, de modo a identificar, avaliar, monitorizar e controlar situações que carecem intervenção. A comparação de espécies e concentrações de bioaerossóis encontrados em ambientes interiores ou exteriores, ou num local de referência é fundamental.

Existe um conjunto de parâmetros que podem afetar a amostragem exterior, nomeadamente as condições meteorológicas (vento, temperatura, humidade,...), tal como o período do dia e o local de amostragem. Em condições de muito vento, maiores concentrações de partículas estarão suspensas no ar. A amostragem durante ou após um período de chuva também pode alterar os resultados. As concentrações tendem a ser mais baixas e a distribuição das espécies é diferente. A temperatura e a iluminação também são fatores que afetam a distribuição das espécies. A proximidade de locais com elevada concentração de microrganismos (campos agrícolas, aterros sanitários, etc.) deve ser considerada ao escolher o local de amostragem. As seguintes diretrizes garantirão que as amostras ao ar livre sejam válidas:

- A amostragem exterior deve ser realizada, tanto quanto possível, ao mesmo tempo que a amostragem no interior;
- Se houver sistemas de ventilação mecânica, as amostras devem ser recolhidas o mais próximo possível das entradas de ar e, na medida do possível, das saídas de ar saturado;
- Selecionar o cenário mais crítico, em termos de exposição dos trabalhadores;
- Nos locais onde existam operações que libertem bioaerossóis (centros de compostagem, tratamento de resíduos, etc.), é recomendável que as amostras de controlo sejam colhidas 300 metros a montante e não perto de um local onde a concentração de microrganismos seja elevada.

Pode ser apropriado, em algumas circunstâncias, usar um local de referência diferente do ambiente exterior. A amostragem num local onde não há queixas ou numa área ventilada por outro sistema, pode ajudar a diagnosticar o problema no local onde há queixas. As medições numa sala de controlo com ventilação independente ou quando uma atividade é interrompida podem ser usadas para localizar fontes de contaminação. É recomendável a amostragem de ar exterior no inverno, na medida em que uma amostra também seja recolhida num local de referência (Goyer et al., 2001).

O principal caminho para a exposição no local de trabalho a microrganismos é a inalação. Diferentes técnicas para avaliar a sua presença no ar podem ser usadas para medir organismos viáveis (cultiváveis ou não), células mortas e alguns componentes como endotoxinas, micotoxinas, glucanos, ou compostos orgânicos voláteis. Além de avaliar quantitativamente (por contagem ou determinação) e qualitativamente (através da identificação do género e da espécie), a amostragem de ar pode ser usada para avaliar a propagação da fonte de contaminação ou a eficácia das medidas de controlo implementadas (Goyer et al., 2001).

A monitorização ambiental da exposição a bioaerossóis pode ser efetuada usando sistemas de amostragem passiva ou ativa, com dispositivos de amostragem ativos envolvendo uma componente mecânica (Oppliger & Duquenne, 2016).

Atualmente, os métodos baseados na cultura de microrganismos são os mais comumente utilizados. Estes medem apenas a fração viável e cultivável dos bioaerossóis, ou seja, os microrganismos vivos capazes de desenvolver e competir com os outros organismos presentes. O meio de cultura e as condições de cultivo escolhidas são os primeiros determinantes na amostragem dos bioaerossóis. Existe uma grande variedade de meios nutrientes, alguns para uso geral, para o cultivo de uma grande diversidade de microrganismos. Outros são seletivos ou diferenciais. Um meio seletivo oferece uma vantagem nutricional aos microrganismos, enquanto um meio diferencial contém ingredientes que produzem diferenças na aparência dos microrganismos e que facilitam a sua identificação (Goyer et al., 2001).

Os métodos utilizados para a deteção de microrganismos no ar em ambientes interiores incluem: a sedimentação (ou método gravitacional), a filtração, a impactação centrífuga, a impactação em meio líquido, a impactação em meio sólido (lâmina de microscopia), a impactação em meio semi-sólido (agar) e a amostragem de materiais e superfícies. Durante décadas a amostragem de bioaerossóis tem sido realizada com métodos de colheita tradicionais que utilizam impactação forçada do ar e análise em meios de cultura ou observação microscópica direta (Stetzenbach, Buttner, & Cruz, 2004).

A amostragem de microrganismos através de impactação forçada de ar permite determinar a concentração de organismos por volume de ar, no entanto, os vários métodos de colheita e análise influenciam os resultados e dificultam a comparação de dados (Stetzenbach et al., 2004). Foi constatado que os dispositivos de colheita convencionais introduzem um *stress* significativo na amostra, podendo reduzir substancialmente a viabilidade de um largo espectro de microrganismos aerolizados. Outra desvantagem significativa é o facto que várias bactérias possam atravessar pelo mesmo furo do amostrador e cair no mesmo local no agar, sendo posteriormente contabilizadas erradamente como a mesma colónia. A análise molecular demonstrou que a diversidade taxonómica das comunidades de bactérias aerolizadas é superior à detetada pelos métodos baseados em cultura. É também conhecido

que a utilização de métodos baseados em cultura subestima a quantificação de bioaerossóis, pois apenas os microrganismos viáveis e cultiváveis são detetados (Stetzenbach et al., 2004). Assim, os principais métodos para amostragem de bioaerossóis para estudos baseados em técnicas moleculares consistem na impactação em meio líquido e filtração.

A sedimentação ou método gravitacional consiste na exposição de um meio de cultura ao ar durante um período de tempo, não havendo a utilização da amostra de ar. Este método é pouco representativo da carga microbiológica aerossolizada devido ao facto das partículas assentarem a diferentes taxas conforme as suas propriedades físicas (Stetzenbach et al., 2004), sendo difícil a calibração e análise de desempenho.

O método de filtração consiste na colheita de partículas num filtro por onde passa a amostra de ar. Uma vez que este método induz dissecação das células bacterianas, geralmente é utilizado na amostragem de pó para análise microscópica de esporos de fungos e pólen, ou para análise molecular de microrganismos (Stetzenbach et al., 2004).

O método de impactação em meio líquido consiste na colheita de partículas do ar para um líquido. Este método permite a diluição ou concentração da amostra para maximizar a precisão da quantificação, sendo as amostras passíveis de serem analisadas por vários métodos analíticos como a cultura, microscopia, imunoensaio, citometria de fluxo, bioquímica e métodos moleculares (Stetzenbach et al., 2004).

O método de impactação de partículas em meio semi-sólido, nomeadamente agar nutriente contido numa placa de petri, é utilizado nas análises baseadas em cultura de microrganismos (Stetzenbach et al., 2004). Além das partículas poluentes não biológicas, o ar contém bioaerossóis, que correspondem a material biológico transmitido pelo ar. Os contaminantes biológicos incluem microrganismos (bactérias, fungos, vírus), ácaros, pólen... As bactérias (e.g., *Staphylococcus* spp. e *Micrococcus* spp.) e fungos (e.g., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. e *Cladosporium* spp.) são os mais frequentemente associados com bio contaminantes e com queixas relacionadas com a qualidade de ar interior (Abelho, 2010).

Os bioaerossóis têm sido tradicionalmente monitorizados com recurso à microscopia ótica ou métodos baseados em cultura em meios nutrientes. Contudo estes métodos são demorados, subjetivos e com baixa especificidade e sensibilidade (Stetzenbach et al., 2004).

A medição de espécies com base no seu crescimento em meio nutriente tem limitações e desvios principalmente devido à competição entre espécies, diferenças nas taxas de crescimento e tamanho das colónias, ou a invasão do meio nutritivo por certas espécies. Deve também notar-se que, em cultura, poucos microrganismos crescerão. Apesar dessas limitações, este método é apropriado, na medida em que é usado de forma constante e rigorosa. Assim, os resultados de diferentes estudos só podem ser comparados se os mesmos parâmetros analíticos e de amostragem forem utilizados (Goyer et al., 2001). Tendo em conta estas vicissitudes, é importante a implementação de métodos moleculares nas

monitorizações, as quais permitirão um aumento de sensibilidade e especificidade a par com um decréscimo do tempo de análise (Stetzenbach et al., 2004).

De acordo com Goyer et al. (2001), quando é necessário elaborar uma avaliação ambiental, em primeiro lugar, é importante formular o objetivo da intervenção estabelecendo, por exemplo, uma relação entre um problema de saúde e um bioaerossol específico, ou avaliando o impacto de uma mudança tecnológica ou a eficiência de medidas corretivas. O segundo passo consiste em documentar os três elementos que interagem durante a exposição a bioaerossóis, nomeadamente as fontes de proliferação ou emissão, os mecanismos de dispersão no ambiente de trabalho e os trabalhadores expostos. O estudo do processo produtivo (produtos, subprodutos e atividades que são realizadas promovem não apenas a proliferação de microrganismos, mas também a sua dispersão e propagação) e a inspeção visual detalhada são as principais ferramentas para obter informações sobre os dois primeiros elementos. A inspeção visual de todo o processo deve também incluir a identificação e localização de todas as fontes ou reservatórios potenciais de bioaerossóis; as condições que promovem a proliferação de partículas inaláveis, como, a elevada humidade, assim como a presença e extensão do crescimento fúngico visível nas superfícies. O terceiro aspeto é documentado pela organização do trabalho, o estudo das tarefas e o registo de queixas e sintomas relatados ou diagnosticados.

Uma vez documentada uma situação de exposição potencial a bioaerossóis através do estudo do processo produtivo, por inspeção visual ou pelo estudo de casos diagnosticados, é pertinente passar para a amostragem. Tal como acontece com qualquer estudo de higiene industrial, os locais de amostragem, períodos e durações dependem das informações a serem recolhidas para atender ao objetivo e devem corresponder às condições observadas. O plano de amostragem deve basear-se nas hipóteses a serem verificadas. Deve especificar quais os bioaerossóis que se pretendem estudar, onde e quando as amostras devem ser recolhidas e quais as técnicas mais apropriadas. É necessário recolher um número suficiente de amostras para garantir que a situação observada seja representativa e que os resultados sejam interpretados corretamente (Goyer et al., 2001).

As amostras de ar interior devem sempre ser comparadas com níveis ou valores de base, como as amostras recolhidas no ar exterior, num local de referência ou quando o processo ou a atividade profissional são interrompidos. Os resultados devem fornecer uma conclusão clara sobre a hipótese formulada. Idealmente, os critérios que serão usados para avaliar a situação devem ser especificados inicialmente. Esta informação é essencial na compreensão dos resultados obtidos e da sua variabilidade e, portanto, da sua interpretação. Os resultados devem ser confiáveis, representativos e inequívocos (Goyer et al., 2001).

Geralmente, as avaliações de bioaerossóis realizadas no local de trabalho demonstram que:

- a presença de condições favoráveis ao crescimento microbiano deve ser considerada como uma exposição potencial a bioaerossóis que exija a tomada de medidas corretivas, no entanto, isso não significa que haverá crescimento microbiano;
- a evidência de crescimento microbiano deve ser considerada como uma exposição potencial de bioaerossóis que requer medidas corretivas. No entanto, isso não significa que haja exposição, ou que haja efeitos relatados ou uma ligação causal se os efeitos forem relatados;
- a comparação do local de medição/referência permite uma conclusão sobre a prevalência de uma espécie ou sobre a existência de exposição potencial.

1.3.2. A avaliação referente à exposição por contacto

O interesse no conhecimento da concentração e constituição dos microrganismos presentes em bioaerossóis encontra-se difundido, tanto na perspectiva da proteção do trabalhador (saúde ocupacional) como em termos de proteção da saúde de populações (saúde pública).

O conhecimento da forma de transmissão dos microrganismos infecciosos patogénicos, como as bactérias, os fungos, os vírus ou os parasitas no meio ambiente é fundamental para o controlo da disseminação de diversas infeções. As superfícies e objetos inanimados contaminados (fomites) atuam como vetores dos microrganismos infecciosos na contaminação das mãos durante o ciclo de transmissão de infeções, determinando, com as outras formas de transmissão, que a ocorrência de infeção em instituições esteja associada a uma elevada taxa de propagação (Ansari, Springthorpe, Sattar, Rivard, & Rahman, 1991).

O contacto com uma superfície contaminada resulta num grau variável de transferência de patogénicos. Mãos contaminadas também podem ser a fonte de re-contaminação da superfície, perpetuando assim a cadeia de transmissão. As mãos muitas vezes contaminam-se com vírus respiratórios, diretamente ou por contacto com superfícies contaminadas. A propagação de tais vírus poderia ocorrer ao tocar a mucosa nasal ou a conjuntiva. Estes resultados sugerem também que as superfícies ambientais não porosas desempenham um papel na contaminação das mãos com vírus respiratórios. Foi verificado que os rinovírus sobreviveram durante pelo menos algumas horas no ar e em superfícies ambientais (Ansari, Springthorpe, Sattar, Rivard, & Rahman, 1991). No entanto, não foram realizados estudos para elucidar adequadamente o potencial das mãos humanas na disseminação desses vírus. A importância relativa do ar, das mãos e das superfícies ambientais na propagação de constipações causadas por rinovírus já foi estudada, porém, até ao momento, ainda não foram realizados estudos quantitativos, de forma a determinar quanto tempo os rinovírus podem sobreviver nas mãos humanas (Ansari et al., 1991).

Durante muito tempo assumiu-se que, as doenças infecciosas eram transmitidas primariamente por via aérea ou por contacto direto com um indivíduo doente e que o ambiente circundante tinha pouco ou nenhum papel. Ao longo dos anos, vários estudos

alteraram esta perspectiva ao incluir um modelo de transmissão multifatorial mais complexo, demonstrando que as superfícies e objetos inanimados contaminados (fomites) desempenham um papel fundamental na transmissão de infecções (Kramer, Schwebke, & Kampf, 2006).

Os exemplos de fomites são muito extensos, que incluem quase tudo com que contactamos diariamente: roupa, maçanetas, corrimãos, mesas, interruptores, teclados, entre muitos outros.

Para além da transmissão aérea direta por contacto íntimo, a distâncias inferiores a 1,5 metros (germes respiratórios), e da transmissão fecal-oral (germes entéricos), são crescentes as evidências do papel intermediário na propagação de doenças infecciosas pelas superfícies infetadas, isto é, pelas fomites.

Qualquer organismo patogénico, como as bactérias, os fungos, os parasitas ou os vírus, é capaz de contaminar objetos, e assim causar infeção. Pela sua maior frequência, os vírus são os microrganismos infecciosos patogénicos que mais vezes são transmitidos através de fomites (Kramer, Schwebke, & Kampf, 2006). As fomites são contaminadas pelo contacto direto com as secreções corporais, por mãos conspurcadas, por gotículas ou aerossóis respiratórios eliminados durante o discurso, tosse, espirro, ou pela dispersão de microrganismos patogénicos pela manipulação vigorosa de objetos (exemplo sacudir um tapete, um cobertor, etc.). O termo fomite tem sido frequentemente associado a questões relacionadas com saúde pública, mais concretamente infeções nosocomiais, não tendo sido abordado em saúde ocupacional (Kramer, Schwebke, & Kampf, 2006).

Na revisão sistemática da literatura associada a infeções nosocomiais, investigadores alemães (Kramer et al., 2006) constataram que quanto mais tempo um patogénico nosocomial persistir numa superfície, mais este poderá ser uma fonte de transmissão e, portanto, colocar em risco os pacientes e os profissionais de saúde. Nas comissões de controlo de infeção, há uma controvérsia sobre a desinfecção adequada de superfícies inanimadas nos hospitais, a fim de prevenir a transmissão de patogénicos nosocomiais. Com base na falta de dados epidemiológicos que evidenciem um benefício para o paciente através da desinfecção superficial (por exemplo, através da redução significativa das taxas de infeção nosocomial), alguns cientistas postulam que a limpeza de superfícies com detergentes não antimicrobianos é geralmente suficiente. A maioria dos patogénicos nosocomiais podem persistir em superfícies inanimadas por semanas ou mesmo meses.

As mãos e as fomites são considerados veículos de transmissão de uma série de espécies de bactérias e vírus patogénicos. Muitos estudos descrevem a sobrevivência de agentes patogénicos na pele e em fomites, incluindo uma revisão sistemática da sobrevivência de patogénicos nosocomiais em superfícies inanimadas. Por exemplo, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* e *Pseudomonas aeruginosa* foram inoculadas na pele e perderam viabilidade

entre 2h a 6h na maioria dos indivíduos. Além disso, *K. pneumoniae* e *P. vulgaris* sobreviveram em superfícies pelo menos 24h e *P. aeruginosa* durou de 8h a 24h (Smith-Vaughan, Crichton, Beissbarth, Morris, & Leach, 2008). Os resultados obtidos sugerem que a lavagem regular das mãos e a limpeza de superfícies contaminadas podem ser importantes no controlo da transmissão de fomites.

A maioria das bactérias gram-positivas, das bactérias gram-negativas, *Mycobacterias* e bactérias formadoras de esporos, sobrevivem durante meses nas superfícies secas. Fungos, como *Candida albicans* sobrevivem até 4 meses nas fomites. A maioria dos vírus respiratórios sobrevive por poucos dias, porém os vírus entéricos são capazes de sobreviver até dois meses, vírus de disseminação hematogénica (pelo sangue), como o vírus da hepatite B (VHB) e o vírus da imunodeficiência humana (VIH) persistem por mais de uma semana e o herpes vírus, como citomegalovírus ou os vírus herpes simplex (VHS) tipo 1 e 2, sobrevivem de algumas horas a 7 dias (Kramer et al., 2006).

A amostragem de superfície também é possível para microrganismos. A amostragem e a análise dos microrganismos presentes em materiais e superfícies geralmente é utilizada como complemento à amostragem do ar, servindo para deteção de focos de contaminação e determinação da eficácia dos métodos de limpeza e desinfeção (Stetzenbach et al., 2004). Permite, em certa medida, uma avaliação dos bioaerossóis através da quantificação da deposição dos mesmos nas superfícies.

As amostragens de superfícies são realizadas *in loco*. Os microrganismos são recolhidos de superfícies lisas, por esfregaço usando um cotonete (zaragatoa) húmido e estéril que esfrega, através de movimentos horizontais/verticais/diagonais, a superfície pretendida para a recolha da amostra. Recomenda-se um campo de aproximadamente 100 cm² (10x10 cm). Toda a superfície do meio de cultura é então inoculada usando o mesmo princípio de rotação. Uma esponja pode ser usada para amostragem de uma superfície maior. A esponja é colocada numa bolsa limpa fornecida pelo laboratório. A amostragem pelo contacto direto do meio de cultura na superfície também é possível (Goyer et al., 2001).

Devido à grande variabilidade nos resultados obtidos nas amostragens de superfície e as correlações precárias obtidas com as medições no ar ou os efeitos sobre a saúde, esse tipo de amostragem por si só não pode ser utilizado para avaliar o risco de exposição. É sim uma ferramenta complementar numa avaliação ambiental (Goyer et al., 2001).

1.4. Avaliação do risco biológico na indústria de triagem dos resíduos

Em resposta às necessidades emergentes qua a sociedade atual atravessa, fomentadas por mudanças laborais e sociais, surgem os centros de triagem de resíduos. No cômputo geral as metas governamentais propostas para reduzir a quantidade de resíduos encaminhados para aterros sanitários, significam que esta indústria relativamente nova, provavelmente crescerá

nos próximos anos e continuará a crescer num futuro previsível (HSE (Health and Safety Executive), 2013).

Globalmente, um elevado número de pessoas trabalha na indústria de resíduos e a exposição a microrganismos é considerada um problema de saúde pública e de saúde ocupacional para pessoas que lidam com resíduos sólidos urbanos.

Os microrganismos aerotransportados (bioaerossóis) podem ser originados a partir de resíduos com material orgânico, tanto por via manual como por via mecânica. Estes bioaerossóis podem ser inalados e a exposição a um grande número destas partículas, durante um longo período de tempo pode desencadear uma reação alérgica em alguns trabalhadores (Correia, 2004). Nesta atividade, a exposição profissional dos trabalhadores aos agentes biológicos ocorre não só no contacto com material contaminado (os próprios resíduos e equipamentos), mas também quando estão criadas determinadas condições climatéricas de temperatura e humidade, favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos e quando a manutenção e limpeza não são adequadas.

Estes trabalhadores, na sua atividade, estão potencialmente expostos a um conjunto de riscos. A sua identificação, avaliação e controlo constituem procedimentos fundamentais quando o objetivo é a Segurança e a Saúde dos mesmos.

De acordo com o Decreto-Lei n.º 178/2006, de 5 de setembro, alterado pelo Decreto-Lei n.º 71/2016, de 4 de novembro consideram-se resíduos urbanos, os resíduos domésticos ou outros resíduos semelhantes (em relação à sua composição ou natureza), nomeadamente os provenientes do setor de serviços ou de estabelecimentos comerciais ou industriais, desde que, a produção não exceda os 1100l/dia por produtor. E por triagem entende-se a operação de separação dos resíduos, por processos manuais ou mecânicos, com vista à sua valorização, que tem lugar nas Estações de Triagem (Ministério do Ambiente, 2006).

Os trabalhadores lidam com uma mistura complexa de resíduos sólidos de origem diversa, cuja composição está sujeita a variações. Para além da exposição a gases resultantes de processos de fermentação da matéria orgânica (que se traduzem num incómodo olfativo – odores - face à presença de compostos azotados e sulfurados), os trabalhadores estão potencialmente expostos a: bactérias (enterobactérias e coccus); vírus (enterovírus, poliovírus e vírus da Hepatite A e B); fungos; parasitas, insetos e roedores (Correia, 2004).

O manuseio de resíduos tem sido associado a sintomas das vias aéreas, diarreia e ODS (*Organic Dust Toxic Syndrom*). A exposição a bioaerossóis durante o tratamento de resíduos foi investigada em vários países (Gorny & Dutkiewicz, 2002; Lavoie et al., 2006) mediante a exposição a endotoxinas, β -glucano, fungos ou bactérias de acordo com o resíduo manipulado.

O *Penicillium* tem sido descrito como sendo o género de fungos presente em aerossóis gerado durante o tratamento de resíduos, no entanto não há informação disponível sobre a exposição ocupacional a esta espécie. *Staphylococcus*, *Bacillus* e *Micrococcus* foram previamente encontrados como géneros bacterianos predominantes no ar numa estação de triagem de embalagens de resíduos, mas os géneros Gram-negativos *Acinetobacter*, *Shigella* e *Klebsiella* também estavam presentes (Madsen, Alwan, Ørberg, Uhrbrand, & Jørgensen, 2016).

Estudo este compaginável com a investigação de (Pinto, 2013), na qual a microflora ambiental nas zonas de triagem de resíduos é maioritariamente constituída por fungos, sendo o género predominante o *Penicillium*. No que diz respeito à flora bacteriana detetada, os géneros Gram-positivos mais frequentemente encontrados no interior da nave de triagem foram as do género *Staphylococcus* (espécie coagulase negativa) e *Bacillus* spp.

Os riscos ocupacionais ligados ao tratamento de resíduos foram identificados como emergentes no Relatório de Peritos sobre Riscos Biológicos Emergentes Relacionados com o Trabalho, da Agência Europeia para a Segurança e Saúde no Trabalho. Na década de 1990, vários governos e a União Europeia adotaram novas políticas de gestão de resíduos com o principal objetivo de diminuir a quantidade de resíduos encaminhados para aterro sanitário. A indústria de reciclagem é um negócio relativamente novo, mas em expansão, empregando um número cada vez maior de trabalhadores. Como a legislação relacionada com os resíduos foi desenvolvida essencialmente para abordar problemas ambientais, não considera os aspetos relativos à Segurança e Saúde no Trabalho.

A falta de informação sobre os riscos biológicos no local de trabalho dificulta a avaliação do risco, tratando-se como um risco emergente (European Agency for Safety and Health at Work., 2007). Na perspetiva da Segurança e Saúde no Trabalho, a realidade dos centros de triagem ainda é pouco estudada e documentada no que se refere à caracterização dos riscos biológicos associados à recolha e triagem de resíduos (Lavoie & Dunkerley, 2002), existindo um número reduzido de estudos sobre as condições de trabalho das pessoas que laboram diariamente nestes locais.

Na mesma década, vários governos adotaram novas políticas de gestão de resíduos com o principal objetivo de aumentar a quantidade de resíduos reciclados. De acordo com a Diretiva de aterros da União Europeia, Diretiva 99/31/CE do Conselho, de 26 de abril, os próximos 10 anos devem ver uma diminuição dramática na quantidade de resíduos urbanos biodegradáveis enviados para aterro sanitário. Como consequência, o setor de reciclagem é um negócio relativamente novo, mas em expansão: o número de trabalhadores envolvidos no tratamento de resíduos vem aumentando e aumentará de forma constante.

Várias orientações estão disponíveis para ajudar na avaliação de risco de agentes biológicos. No entanto, a avaliação dos riscos biológicos é seriamente dificultada, uma vez que, contrariamente à maioria dos fatores químicos e físicos, não existe nenhum critério comumente aprovado para avaliar a exposição a fatores biológicos, nem a relação dose-efeito está bem estabelecida, bem como, limites de exposição ocupacional não estão ainda estabelecidos. Quando uma atividade de trabalho envolve o uso intencional de agentes biológicos, como num laboratório de análises microbiológicas, o agente biológico é conhecido e pode ser controlado com mais facilidade. No entanto, quando a ocorrência dos agentes biológicos é uma consequência não intencional do trabalho, como por exemplo, na triagem de resíduos ou nas atividades agrícolas, a avaliação dos riscos para os trabalhadores é ainda mais difícil (European Agency for Safety and Health at Work., 2007).

No que diz respeito à exposição a agentes biológicos em centros de triagem, essa exposição desponta devido à inalação de aerossóis que podem incluir uma diversidade de microrganismos aéreos (bactérias, fungos, vírus), seus produtos tóxicos [endotoxinas, micotoxinas, compostos orgânicos voláteis (COVs)] e poeira orgânica que geralmente tem uma composição muito complexa, dependendo do tipo de resíduo manuseado, bem como do tipo de atividade de tratamento de resíduos (Tabela 4).

Tabela 4 – Microrganismos aéreos nas várias etapas de tratamento de resíduos [adaptado de (European Agency for Safety and Health at Work., 2007)]

Microrganismos	Triagem	Combustão	Compostagem	Aterro
Bactérias (total)	+	+	++	+
<i>Streptococcus</i>				+
<i>Enterobacteriaceae</i>				+
<i>Actinomyceae</i>	+	+	++	+
<i>Thermoactinomyceae</i>	+	+	++	+
Fungos (total)	++	+	++	++
<i>Aspergillus flavus</i>	+/-	+	+	+/-
<i>Aspergillus fumigatus</i>	+	+	++	+
<i>Aspergillus niger</i>	+	+	++	+
<i>Aspergillus nidulans</i>		+	++	+
<i>Cladosporium</i> spp.	+/-	+	++	+
<i>Penicillium</i> spp.	+	+	++	+

Legenda: +/-, detetável; +, 10^3 - 10^4 UFC/m³; ++ > 10^5 UFC/m³ (UFC, Unidades Formadoras de Colónias)

Na literatura estudada, os trabalhadores envolvidos nas atividades de triagem de resíduos sólidos são identificados como pertencendo ao grupo de maior risco de exposição a agentes biológicos nas atividades de tratamento de resíduos. Na verdade, em alguns casos, as novas tecnologias de tratamento de resíduos ampliaram ainda mais os riscos para os trabalhadores nas atividades de recolha, triagem, tratamento e eliminação de resíduos. Os sintomas de saúde observados em trabalhadores envolvidos na gestão de resíduos sólidos centram-se em problemas pulmonares, gastrointestinais e cutâneos, que foram reportados como relacionados à exposição a bioaerossóis. A gestão dos resíduos sólidos inclui uma multiplicidade de atividades, desde a recolha, receção, triagem, reciclagem de materiais, até

ao tratamento biológico de materiais orgânicos (por exemplo, compostagem), tratamento térmico (incluindo incineração com recuperação de energia) e aterro sanitário. O tratamento de resíduos médicos apresenta desafios adicionais, como o risco de contaminação com objetos cortantes. Atualmente, os limites de exposição ocupacional são praticamente inexistentes para microrganismos aéreos ou suas toxinas associadas (European Agency for Safety and Health at Work., 2007).

Os empregadores devem fornecer e manter medidas gerais de controlo, adaptadas de acordo com o local de trabalho. Para isso, todos os trabalhadores devem estar informados sobre os riscos a que estão expostos e das medidas de prevenção implementadas. Para isso os empregadores devem fornecer instruções escritas e informações claras aos seus trabalhadores adaptadas à evolução dos riscos existentes e ao aparecimento de novos riscos, periodicamente atualizada, em matéria de:

- riscos potenciais para a saúde;
- precauções a tomar para evitar a exposição aos riscos existentes;
- normas de higiene pessoal, essencial para a saúde dos trabalhadores;
- utilização dos equipamentos de proteção individual;
- procedimentos a seguir em caso de acidente ou incidente grave e sua prevenção (HSE, 2007; Ministério para a Qualificação e o Emprego, 1997).

Neste contexto, deve existir uma supervisão adequada para garantir que as medidas de prevenção sejam devidamente aplicadas e os procedimentos respeitados. A informação destas medidas não deve ser descurada no início de uma atividade profissional, bem como, no recrutamento de novos elementos e na mudança de posto de trabalho. Qualquer trabalhador, incluindo trabalhadores temporários, deve ser devidamente formado e informado antes de iniciarem a laboração, de acordo com os riscos a que vão estar expostos e as medidas de prevenção e controlo apropriadas. Deste modo, torna-se essencial a consulta dos trabalhadores para garantir práticas de trabalho seguras nas atividades de resíduos e reciclagem.

Algumas doenças cutâneas, tais como dermatite ocupacional; infeções, como hepatite, leptospirose e tétano e vírus transmitidos pelo sangue causados pela exposição a agentes biológicos, assim como sangue ou fluidos corporais, ou qualquer material potencialmente infeccioso, foram reportadas no estudo do (HSE, 2007). No entanto, além das medidas gerais de controlo, descritas anteriormente, este tipo de exposição pode ser evitada durante a recolha e manuseamento de resíduos, através da adoção de outras medidas de controlo específicas, tais como:

- existência de equipamentos de proteção dos trabalhadores precavendo a sua exposição, através de contentores automáticos de descarga;

- práticas de trabalho seguras associadas a este equipamento, como manter sacos e recipientes fechados o máximo de tempo possível;
- processos de trabalho que minimizem a produção de poeiras e bioaerossóis (por exemplo, usando sacos biodegradáveis ou compostáveis que não precisem de ser abertos ou removidos, evitando a abertura manual que pode gerar a inalação de poeiras, eliminando a necessidade de despejo do conteúdo dos sacos);
- contenção ou supressão de poeira, especialmente em estações de receção ou transferência de resíduos (por exemplo, cortinas de borracha/plástico e cortinas de água);
- uso de equipamentos de proteção respiratória adequados de acordo com as instruções do fabricante, mantendo-os limpos e bem conservados (HSE, 2007).

De acordo com o estudo efetuado pelo (HSE (Health and Safety Executive), 2013), as exposições a microrganismos (fungos e bactérias) foram consideradas em níveis médios (entre 10^4 e 10^5 ufc/m³) quando comparados aos dados de outros estudos. Estes níveis são mais de 10 vezes superiores às concentrações normalmente encontradas no ar ambiente geral (10^3 ufc/m³). Algumas exposições foram de uma ordem de grandeza superior, semelhantes às de instalações de animais e aves. As espécies de bactérias e fungos identificadas eram típicas daquelas geralmente encontradas em poeiras orgânicas e incluíam *Aspergillus fumigatus*, que é reconhecido como um alérgeno.

Para as setes instalações de reciclagem de resíduos visitadas na investigação já mencionada, as estratégias de controlo de exposição para poeira e bioaerossóis dependeram fortemente da ventilação geral e do uso de equipamentos de proteção respiratória, com apenas uma central com sistema de exaustão. Duas das instalações tinham unidades de supressão de poeiras nomeadamente cortinas de água instaladas, uma na instalação principal e outra nas áreas de receção dos resíduos (HSE, 2013).

Uma das unidades tinha sistema de exaustão e suspensão de névoas através de cortina de água instalada nas áreas de receção e enfardamento para controlo da poeira produzida. Esta unidade teve alguns dos maiores níveis inaláveis de poeira e endotoxinas medidos, pondo em causa a eficácia desta estratégia de controlo. No entanto, os autores referem que se deve ter em conta que o referido local era o mais recente e uma das unidades mais confinadas, em relação aos locais visitados durante o estudo. Nas unidades de triagem onde foi utilizada ventilação geral forçada, a sua qualidade e *design* não se encontravam dentro dos padrões desejados. Foram encontrados sistemas em que a condução de ar não estava completa, com baixos fluxos de ar, sem qualquer manutenção e testes de funcionamento. Depreende-se, então, que a maioria dos sistemas gerais de ventilação nas cabines de triagem foram projetados mais para atender ao conforto do operador e não ao controlo da exposição às poeiras orgânicas (HSE, 2013).

Vestuário de alta visibilidade; luvas e capacetes de proteção e calçado de segurança eram frequentemente utilizados nas centrais visitadas durante a investigação do (HSE, 2013). No entanto, a necessidade de utilização de equipamentos de proteção respiratória não foi totalmente avaliada. Os equipamentos de proteção respiratória encontravam-se geralmente disponíveis para serem utilizados em todas as instalações ou em atividades específicas; contudo nenhum processo de seleção, teste de ajuste facial, instrução ou supervisão do seu uso foram implementados. Em todos os locais, o equipamento de proteção respiratória distribuído foi principalmente respiradores descartáveis.

A ausência geral de estratégias e políticas de saúde, assim como, avaliações de risco adequadas relacionadas com a exposição a poeiras e a bioaerossóis indica uma necessidade de intervenção de gestão para adotar uma abordagem estratégica para a gestão de risco para a saúde e garantir que o nível de controlo seja melhorado e monitorizado.

2

OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Este trabalho de investigação científica teve por objetivo estudar a exposição ocupacional a agentes biológicos (bactérias e fungos viáveis) na indústria de triagem de resíduos.

2.2. Objetivos específicos

Os objetivos específicos desta investigação são:

- Analisar estatisticamente a contaminação ambiental dos setores dedicados à Triagem de Papel, Embalagens e Vidro;
- Analisar estatisticamente a contaminação de superfícies da indústria de triagem de resíduos face ao risco biológico;
- Analisar estatisticamente a contaminação biológica das mãos dos operadores da indústria de triagem de resíduos;
- Correlacionar a contaminação das superfícies com a contaminação ambiental dos locais de amostragem;
- Correlacionar a contaminação das superfícies com a contaminação biológica das mãos dos operadores da indústria de triagem de resíduos.

3

MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Caracterização da amostra

Os dados a analisar na presente investigação são decorrentes do projeto de investigação – Avaliação do Risco Biológico em Unidades de Recolha Seletiva e Aterro Sanitário”, Projeto n.º 51 APJ / 08, que contou com o financiamento da Autoridade para as Condições de Trabalho. Para o efeito, procedeu-se à análise inferencial dos resultados referentes às colheitas efetuadas no referido projeto, procedendo-se à construção de duas bases de dados com vista à análise inferencial referente à contaminação ambiental, superfícies e mãos dos operadores dedicados à indústria de triagem de resíduos (Pinto, 2013).

Nesse estudo estiveram envolvidas 5 empresas dedicadas ao tratamento de resíduos, encontrando-se reproduzidas as frações mais representativas da recolha seletiva (plástico/embalagens, papel/cartão e vidro), designadas de A a E, constituídas por 170 trabalhadores.

A Empresa A possui capacidade para tratar 35.000 toneladas de resíduos, por ano, através da triagem dos resíduos provenientes da recolha seletiva (embalagens), enfardamento e acondicionamento para posterior valorização pelas indústrias recicladoras. É efetuada a seleção mecânica das embalagens de aço (eletroímã) e posteriormente a triagem sequencial das restantes frações (PVC, PE, PEAD e filme).

As triagens manuais, na Empresa A, de papel e embalagens (PVC, PE, PEAD e filme) são efetuadas em cabine fechada, localizada no interior da nave de triagem (onde se realiza o armazenamento de resíduos, triagem de embalagens, papel e enfardamento). A triagem é sequencial, efetuada em dois tapetes rolantes. A cabine possui ventilação forçada: insuflação de ar fresco (proveniente do exterior) e exaustão.

Na Empresa A são efetuadas várias higienizações ao longo do dia de trabalho, geralmente, 3 vezes por dia, de acordo com o plano de higienização previamente estabelecido, nas superfícies de contacto. A empresa dispõe de lavandaria interna e cada trabalhador dispõe de cacifo duplo.

A Empresa B caracteriza-se por ser um sistema multimunicipal de triagem, recolha, valorização e tratamento de resíduos sólidos urbanos, que presta serviço a uma população de cerca de 114.000 habitantes, o que corresponde a 10 municípios. A triagem é efetuada manualmente por diversos tipos de plástico (PET, PET óleo, filme plástico, PEAD, ECAL, plásticos mistos) e metais.

Na Empresa B, a triagem é efetuada no interior da nave de triagem. A triagem de papel resume-se à armazenagem e ao enfardamento. A ventilação natural é assegurada pela abertura dos portões de acesso. Não existem, assim, sistemas de ventilação (natural ou artificial) e o aparelho de ar condicionado cumpre unicamente funções de climatização. A cabine de triagem de embalagens está situada no interior da nave de triagem onde se processa o armazenamento de resíduos, triagem de embalagens, papel e enfardamento. É efetuada triagem manual de embalagens (PET, PET óleo, filme plástico, PEAD, ECAL, plásticos mistos) e triagem mecânica de embalagens metálicas (eletroíman).

As instalações administrativas encontram-se localizadas em edifício independente ao da triagem e a periodicidade de higienização nestas instalações é semanal, enquanto nas superfícies de trabalho e nas instalações sociais existem rotinas de higienização realizadas diariamente.

A empresa dispõe de lavandaria interna, sendo aplicada a boa prática de a entidade empregadora não permitir que os operadores abandonem as instalações com o vestuário de trabalho. Cada trabalhador dispõe de cacifo, com um único compartimento.

A Empresa C representa-se por ser um sistema multimunicipal de triagem, recolha, valorização e tratamento de resíduos sólidos urbanos que presta serviço a 6 municípios. Na empresa efetuam a triagem manual por diversos tipos de plástico (PET, PET óleo, PEAD, filme plástico, EPS, plásticos mistos, ECAL) e também de diferentes tipos de cartão/papel (papel branco, papel de jornal, papel de revista e cartão).

Na Empresa C é efetuada triagem e compactação de papel e cartão em nave de triagem independente da nave de triagem de embalagens, em que a ventilação natural é assegurada pela abertura dos portões de acesso. Enquanto a triagem de embalagens está situada na nave de triagem (armazenamento de resíduos, triagem de embalagens, papel e enfardamento). É igualmente realizada triagem manual de embalagens (PET, PET óleo, filme plástico, PEAD, ECAL, plásticos mistos; ECAL e esporadicamente de diferentes tipos de cartão/papel - papel branco; papel de jornal; papel de revista e cartão) e igualmente a triagem mecânica de embalagens metálicas (eletroíman). A cabine fechada é climatizada, em que o sistema de ventilação dispõe de ponto de captação de ar no interior da nave.

As práticas de limpeza/desinfecção correntes são efetuadas diariamente, e a higienização de conservação é realizada com periodicidade semanal em todas as instalações da empresa.

A empresa não dispõe de lavandaria interna, sendo a higienização do vestuário de trabalho assegurada pelos operadores. No que diz respeito às medidas de prevenção e proteção dos colaboradores à exposição a agentes biológicos, existe a obrigatoriedade de desfardamento nas instalações sociais da empresa e cada um dispõe de cacifo duplo.

A Empresa D é concessionária do sistema multimunicipal de triagem, recolha seletiva, valorização e tratamento de resíduos sólidos urbanos abrangendo cinco municípios. Este sistema multimunicipal serve por volta de 333.300 habitantes. Efetuam a triagem manual de PET, PET-óleo, PEAD, filme, ECAL, plásticos mistos, EPS (esferovite), aço e alumínio.

Na Empresa D a seleção dos resíduos é realizada em plataforma aberta inserida dentro da nave de triagem, onde é igualmente efetuada a armazenagem, triagem e compactação de resíduos de papel, cartão e embalagem. O posto de trabalho afeto à triagem de papel consiste na triagem grosseira e compactação dos resíduos selecionados em espaço localizado na nave de triagem, próximo do local de deposição de embalagens triadas. Na mesma nave é realizada a triagem manual de embalagens, papel e enfardamento; a triagem manual de material de embalagem (PET-óleo, PEAD, filme, ECAL, plásticos mistos, EPS), bem como, a triagem mecânica de embalagens metálicas aço e alumínio (eletroíman). A referida nave de triagem não dispõe de climatização ou meios de renovação artificial do ar, sendo a ventilação assegurada unicamente pela abertura dos portões de acesso.

A higienização corrente é realizada diariamente tanto na nave de triagem, como nas instalações sociais da empresa. É efetuada recolha do vestuário de trabalho para lavagem realizada em lavandaria interna situada na zona suja, sendo obrigatório tomar banho na empresa e troca de roupa diária em que cada trabalhador dispõe de cacifo duplo para o efeito.

Decorrente da avaliação do risco biológico na empresa foram implementadas medidas com vista a redução da exposição ao risco, tendo sido melhoradas as condições estruturais e funcionais dos balneários e modificado o tipo de proteção respiratória aos colaboradores da triagem dos resíduos.

A Empresa E é uma organização especializada no processamento de resíduos de embalagens de vidro. A atividade de reciclagem de embalagens de vidro focaliza-se na triagem manual de vidro proveniente da recolha seletiva (mais contaminado) ou de importação. Aqui é efetuada a triagem desde contaminantes do casco – volumes grandes; materiais magnéticos – agulhas); materiais plásticos de pequenas dimensões (tampas); triagem de materiais – metais, porcelanas ou plásticos e pequenos contaminantes de porcelana ou metálicos.

Na Empresa E a triagem manual sequencial é efetuada em 3 cabines com sistemas de climatização em permanente funcionamento, não existindo, no entanto, sistemas de ventilação natural ou forçada. É efetuada triagem mecânica de contaminantes (metálicos, tampas, porcelanas) em várias etapas e a triagem manual de vidro – casco – é efetuada por um colaborador e armazenado no exterior.

A limpeza e desinfecção corrente nas cabines de triagem de vidro é efetuada com periodicidade diária e a higienização global (mais completa e de fundo) é realizada trimestralmente. A empresa não dispõe de lavandaria interna, logo os operadores têm de levar o vestuário de trabalho para lavagem no domicílio, no entanto cada trabalhador dispõe de cacifo duplo.

Relativamente à execução de medidas com o intuito de reduzir a exposição dos seus colaboradores ao risco biológico foram tomadas medidas de proteção individual, sendo obrigatória a utilização de vestuário de trabalho, luvas, calçado e capacete de proteção.

Em matéria de organização dos serviços de segurança e saúde no trabalho, as empresas dispõem de serviços externos.

3.2. Metodologias e recolha de dados

Tendo a referida investigação como objetivo conhecer o risco de exposição ocupacional a agentes biológicos (bactérias e fungos viáveis) na indústria de triagem de resíduos, procurou-se deste modo realizar um trabalho contínuo baseado na pesquisa bibliográfica dedicada à problemática associada à exposição a agentes biológicos em contexto ocupacional, complementado com os dados de identificação e quantificação de agentes biológicos associados à atividade de valorização de resíduos. A componente experimental do projeto em causa (Pinto, 2013; Vasconcelos Pinto et al., 2015) compreendeu recolhas ambientais em locais distintos e estrategicamente selecionados, representativos de três zonas diferenciadas: Zona Crítica (ZC - Triagem de embalagens, papel e vidro), Zona Não Crítica (ZNC - serviços administrativos) e Ponto de Controlo (PC - exterior) tendo sido, para o efeito, utilizado um amostrador biológico de ar do tipo impactador. Os locais foram selecionados tendo em conta a possibilidade de comparação em diferentes locais de amostragem, e conseqüentemente, o confronto entre as zonas de exposição mais críticas (onde os trabalhadores estão expostos aos resíduos) e as menos críticas (onde os trabalhadores não estão diretamente expostos ao processo de triagem de resíduos) em paralelo com o local considerado como de referência (exterior). Concomitantemente, foram realizadas recolhas de amostras de indicadores de higiene em superfícies com vista a avaliação da contaminação microbiológica e risco de transmissão através de superfícies de contacto (fomites), tendo sido selecionados pontos considerados estratégicos no que respeita ao percurso efetuado em cada unidade industrial (torneira e maçaneta das instalações sanitárias, maçaneta de cacifos, maçaneta dos serviços administrativos e interior de máscaras de proteção respiratória) e foi igualmente avaliada a contaminação biológica dos manipuladores (mãos dos operadores).

As colheitas de superfícies como complemento das colheitas de ar são utilizadas para identificar locais de contaminação e as respetivas fontes de contaminação. Podem também ser utilizadas para avaliar a eficácia da lavagem e desinfecção (Stetzenbach et al., 2004).

O estudo inicial foi descritivo transversal e o período de recolha de dados decorreu entre novembro de 2010 e junho de 2011. Na recolha das amostras foi utilizado o amostrador de ar *Sampl'air Lite*, AES *Chemunex*, França. O equipamento foi recalibrado a 6 de setembro de 2011, com o certificado de calibração n.º CGAS749/11 da *LabMetro* – ISQ, analisado a 2 de

novembro 2011. As análises microbiológicas de ar, superfícies e manipuladores foram realizadas na Unidade de Microbiologia Aplicada, da Escola Superior de Tecnologia e Gestão, do Instituto Politécnico de Viana do Castelo, segundo os procedimentos internos elaborados de acordo com as respetivas normas, e estão incluídas no âmbito da acreditação do laboratório (Anexo Técnico de 14 de março de 2011 do Certificado de Acreditação n.º L0359).

Esta foi a metodologia seguida no estudo inicial (Pinto, 2013; Vasconcelos Pinto et al., 2015) e a presente investigação centrou-se numa análise inferencial dos dados anteriormente recolhidos.

3.3. Tratamento Estatístico dos dados

Os resultados referentes à contaminação microbiológica ambiental e de superfícies foram analisados com recurso a ferramentas estatísticas.

Os resultados alusivos às amostras de ar, de superfícies e de manipuladores foram previamente introduzidos em ficheiro *excel*TM (Microsoft Office 2010), onde figurava a data e hora da colheita, empresa, tipo de colheita (ar, superfície ou manipulador), ponto de colheita, quantidade recolhida (ar) ou volume do meio de transporte (superfícies e manipulador), parâmetro avaliado (bactérias e/ou fungos, com referência às contagens totais por género e espécie), unidade e classificação, de acordo com a Portaria n.º 405/98, de 11 de julho e a Portaria n.º 1036/98, de 15 de dezembro (Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998).

Os dados foram introduzidos no programa IBM SPSS Statistics versão 24, para Microsoft Windows. A interpretação dos testes estatísticos foi realizada com base num nível de significância $p=0,05$ com intervalo de confiança de 95%.

Através da utilização do programa referido, em algumas das variáveis em estudo, analisou-se a existência de diferenças significativas relativamente aos vários pontos de colheita, nas diferentes empresas, apresentando um valor $p\text{-value}<0,05$. Para responder a essa questão, e tendo em conta o tamanho das amostras, a dificuldade em garantir que as variáveis em estudo tivessem uma distribuição normal e que as variâncias entre as diferentes variáveis fossem homogéneas, aplicou-se o teste não-paramétrico de *Kruskal-Wallis* e o teste *Wilcoxon-Mann-Whitney*. De seguida fizeram-se comparações múltiplas aplicando um Teste Bonferroni corrigido (DUNN).

Nem todos os géneros e espécies foram estatisticamente analisados, pois detinham apenas uma ou duas medições em cada zona de amostragem, no entanto foi tido em consideração a contaminação por bactérias e fungos pertencentes ao grupo 2, devido à sua perigosidade.

4

RESULTADOS

4.1. Avaliação Ambiental

As colheitas ambientais foram efetuadas em todas as empresas (A, B, C, D e E), na ZC; serviços administrativos (ZNC) e no exterior (PC). Nas Empresas A, B, C e D nos postos de trabalho dedicados à Triagem de Papel e Embalagens de plástico e na Empresa E nos postos de trabalho dedicados à Triagem de Vidro.

Na Empresa A foram realizadas 13 amostras ambientais, tendo sido apenas consideradas 12 para a ZC devido à invasão de meios de cultura por bactérias e fungos. Na Empresa B foram efetuadas 6 colheitas na triagem de papel e 11 na triagem de embalagens (ZC); 13 amostras nos serviços administrativo (ZNC) e na amostra de referência (PC). Quanto à Empresa C foram efetuadas 15 recolhas na triagem de papel e 7 na triagem de embalagens (ZC); 13 amostras nos serviços administrativos (ZNC) e na amostra de referência (PC). Das 7 colheitas efetuadas na triagem de embalagens, apenas foram consideradas 6 para as contagens totais de fungos devido à invasão de meios de cultura. Na Empresa D foram realizadas 9 colheitas na triagem de papel e 13 na triagem de embalagens (ZC); 12 nos serviços administrativos (ZNC) e no exterior (PC). Das 13 colheitas efetuadas na triagem de embalagens, apenas foram consideradas 12 devido também à invasão de meios de cultura. E na Empresa E foram executadas 12 amostras ambientais em cada um dos pontos selecionados (ZC; ZNC e PC).

4.1.1. Contagem de bactérias e fungos viáveis tendo em conta os três pontos analisados

Primeiramente (Tabela 5), analisou-se estatisticamente a contagem de bactérias e fungos viáveis tendo em conta as três zonas analisadas (ZC; ZNC; PC).

Tabela 5 – Contagem de bactérias viáveis tendo em conta os três pontos analisados (ufc/m³)

Agente Biológico	Pontos de colheita			Dif. M	p-value
	ZC	ZNC	PC		
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP		
Totais Bactérias	(79) 1209,11±1512,02	---	(57) 228,25±265,53	980,87	<0,0001
Totais Bactérias	---	(62) 393,87±385,36	(57) 228,25±265,53	165,63	0,007
Totais Bactérias	(79) 1209,11±1512,02	(62) 393,87±385,36	---	815,24	<0,0001
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	(4) 630,0±877,19	(5) 72,0±90,39	(1) 400,0	---	0,163
<i>Arthrobacter</i> spp.	(3) 253,33±337,24	(1) 10,00	(2) 25,00±21,21	---	0,258
<i>Bacillus</i> spp.	(68) 253,97±293,66	(52) 66,54±131,61	(40) 55,00±63,65	---	<0,0001
<i>Bacillus cereus</i>	(50) 131,8±143,45	(21) 30,95±29,65	(32) 26,56±34,51	---	<0,0001
<i>Bacillus subtilis</i>	(9) 126,67±160,93	(2) 310,00±395,98	(6) 28,33±31,25	---	0,087
<i>Bacillus licheniformis</i>	(5) 136,0±248,35	(3) 20,00±10,00	(1) 30,00	---	0,523
<i>Bacillus megaterium</i>	(7) 140,00±168,52	(1) 10,00	(1) 10,00	---	0,112
<i>Bacillus sphaericus</i>	(3) 33,33±23,09	(2) 15,00±7,07	(2) 10,00±0,00	---	0,122
<i>Brevibacterium</i> spp.	(3) 73,33±50,33	(2) 30,00±0,00	(1) 10,00	---	0,294
<i>Cellulomonas</i> spp./ <i>Microbacterium</i> spp.	(4) 70,00±47,61	(7) 28,57±26,1	(7) 35,71±44,29	---	0,173
<i>Corynebacterium</i> spp.	(8) 176,25±176,14	(8) 36,25±39,98	(4) 70,00±101,00	---	0,158
<i>Enterobacter cloacae</i>	(5) 360,00±682,64	(1) 20,00	(0)	---	0,235
<i>Gardnerella vaginalis</i>	(2) 20,00±0,00	(2) 10,00±0,00	(4) 17,50±9,57	---	0,279
<i>Klebsiella oxytoca</i>	(5) 92,00±65,73	(1) 130,00	(0)	---	0,373
<i>Micrococcus</i> spp.	(31) 318,71±697,86	(17) 68,82±69,36	(13) 16,92±11,09	---	<0,0001
<i>Pantoea agglomerans</i>	(6) 118,33±61,45	(2) 25,00±7,07	(1) 10,00	---	0,058
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(4) 25,00±10,00	(1) 510,00	(0)	---	0,114
<i>Serratia marcescens</i>	(3) 1386,67±2246,09	(1) 70,00	(0)	---	0,655
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	(73) 421,37±848,88	(59) 257,97±268,83	(42) 135,00±168,71	---	<0,0001
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	(1) 100,00	(4) 70,00±53,54	(1) 10,00	---	0,493
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	(4) 82,5±69,46	(1) 10,00	(0)	---	0,157

Legenda: ZC=Zona Crítica; ZNC= Zona Não Crítica; PC=Ponto de Controlo; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão; Dif. M=Diferença de Médias. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Pelos resultados descritos, na Tabela 5, constatou-se que a ZC, em média, no que diz respeito aos valores estimados de Bactérias Totais, no ar, demonstrou estimativas significativamente mais elevadas comparativamente ao PC e bem como a primeira com a ZNC ($p < 0,05$).

Segundo o teste de comparações múltiplas de Bonferroni corrigido, a ZC apresentou concentrações superiores de bactérias comparativamente à ZNC e ao PC ($Z=8,283$; $p\text{-value} < 0,0001$) e ($Z=2,731$; $p\text{-value}=0,019$), respetivamente. Também a ZNC apresentou concentrações superiores de Bactérias Totais comparativamente ao PC ($Z=5,531$; $p\text{-value} < 0,0001$).

No que concerne à variação média de concentração de bactérias *Bacillus* spp., entre os pontos de avaliação, podemos igualmente constatar diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). A ZC demonstrou valores superiores deste género comparativamente à ZNC e ao PC ($Z=6,324$; $p\text{-value} < 0,0001$) e ($Z=4,908$; $p\text{-value} < 0,0001$), respetivamente.

Em relação à variação média de concentração de bactérias da espécie *Bacillus cereus*, entre os pontos analisados, observaram-se diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). A ZC apresentou valores superiores desta espécie comparativamente à ZNC e ao PC ($Z=4,224$; $p\text{-value} < 0,0001$) e ($Z=5,925$; $p\text{-value} < 0,0001$), respetivamente.

No que diz respeito à variação média de concentração de bactérias do género *Micrococcus* spp., entre os pontos de avaliação, veio a demonstrar diferenças estatisticamente

significativas ($p < 0,05$). A ZC expôs concentrações superiores comparativamente à ZNC e ao PC ($Z = 2,510$; $p\text{-value} = 0,036$) e ($Z = 4,671$; $p\text{-value} < 0,0001$), respetivamente.

Relativamente à variação média de concentração de bactérias da espécie *Staphylococcus* coagulase negativa entre os locais de medição encontraram-se diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). A ZC e a ZNC apresentaram concentrações superiores comparativamente ao PC ($Z = 4,863$; $p\text{-value} < 0,0001$) e ($Z = 2,987$; $p\text{-value} = 0,008$), respetivamente.

Por último, as restantes espécies apresentadas revelaram uma concentração, em média, semelhante entre os diferentes pontos de colheita avaliados ($p\text{-value} > 0,05$).

O seguinte gráfico representa um diagrama de extremos e quartis das contagens totais de bactérias, em amostras de ar ambiente, na ZC, ZNC e PC.

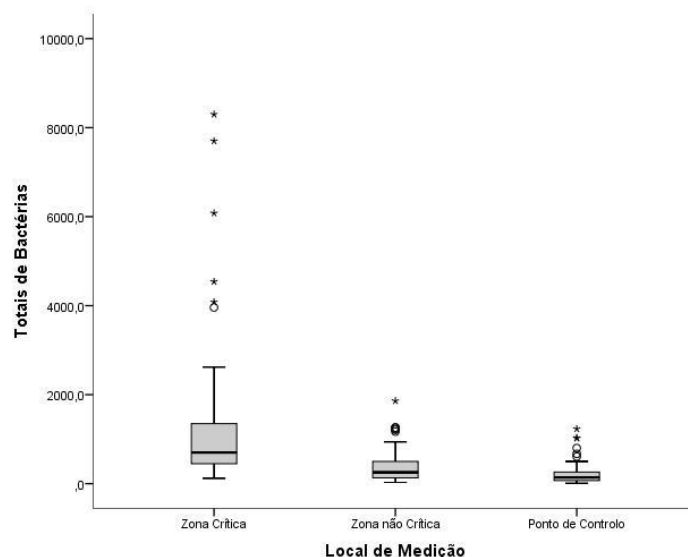


Gráfico 1 – Diagrama de extremos e quartis das contagens totais de bactérias (ufc/m^3), em amostras de ar ambiente, na ZC, ZNC e PC

Analisando o diagrama de extremos e quartis foi possível verificar que a ZC apresentou uma dispersão dos valores das contagens totais de fungos superior à ZNC e ao PC.

Posteriormente (Tabela 6), efetuou-se uma análise estatística através da contagem de fungos viáveis, tendo em conta as três zonas analisadas (ZC; ZNC; PC).

Tabela 6 – Contagem de fungos viáveis tendo em conta os três pontos analisados (ufc/m³)

Agente Biológico	Pontos de colheita			Dif. M	p-value
	ZC (n) M±DP	ZNC (n) M±DP	PC (n) M±DP		
Totais Fungos	(80) 16414,25±9951,90	---	(63) 1016,98±2977,06	15397,27	<0,0001
Totais Fungos	---	(62) 519,36±803,64	(63) 1016,98±2977,06	- 497,63	0,206
Totais Fungos	(80) 16414,25±9951,90	(62) 519,36±803,64	---	15894,90	<0,0001
<i>Aspergillus flavus</i>	(0)	(6) 20,00±10,95	(2) 365,00±417,19	---	0,039
<i>Aspergillus niger</i>	(65) 38,31±41,82	(21) 16,67±22,44	(16) 15,00±6,32	---	<0,0001
<i>Candida</i> spp.	(4) 120,00±121,11	(11) 89,09±176,49	(10) 29,00±28,07	---	0,089
<i>Candida famata</i>	(2) 50,00±42,43	(4) 132,50±201,06	(1) 60,00	---	0,979
<i>Cladosporium</i> spp.	(25) 326,00±429,52	(56) 144,64±139,51	(60) 470,33±735,18	---	0,001
<i>Cryptococcus humicola</i>	(0)	(1) 40,00	(3) 13,33±5,77	---	0,157
<i>Cryptococcus laurentii</i>	(2) 30,00±14,14	(8) 20,00±11,95	(14) 31,43±28,52	---	0,562
<i>Penicillium</i> spp.	(79) 16419,24±10033,82	(62) 289,84±687,20	(60) 107,67±151,92	---	<0,0001
<i>Rhodotorula</i> spp.	(5) 508,00±1080,06	(18) 206,11±650,37	(21) 234,76±598,75	---	0,264
<i>Saccharomyces</i> spp.	(0)	(1) 60,00	(3) 20,00±0,00	---	0,083
<i>Streptomyces</i> spp.	(1) 80,00	(3) 13,33±5,77	(8) 35,00±30,24	---	0,212
<i>Trichophyton</i> spp.	(3) 33,33±11,55	(10) 16,00±8,43	(13) 26,15±18,05	---	0,120
<i>Trichophyton equinum</i>	(1) 40,00	(2) 10,00±0,00	(9) 17,78±8,33	---	0,115
<i>Ulocladium</i> spp.	(2) 520,00±707,11	(5) 24,00±26,08	(6) 16,67±12,11	---	0,216

Legenda: ZC=Zona Crítica; ZNC= Zona Não Crítica; PC=Ponto de Controlo; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão; Dif. M=Diferença de Médias. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Relativamente à carga fúngica, constatou-se que a ZC, em média, no que diz respeito aos valores estimados de Fungos Totais, no ar, demonstrou estimativas significativamente mais elevadas comparativamente ao PC e bem como a primeira com a ZNC ($p < 0,05$). Segundo o teste de comparações múltiplas de Bonferroni corrigido, a ZC apresentou concentrações superiores de fungos comparativamente à ZNC e ao PC ($Z=9,946$; $p\text{-value} < 0,0001$) e ($Z=8,526$; $p\text{-value} < 0,0001$), respetivamente.

A variação média de concentração de fungos da espécie *Aspergillus niger* revelou estar significativamente aumentada, quando avaliamos a ZC comparativamente à ZNC e ao PC ($Z=6,023$; $p\text{-value} < 0,0001$) e ($Z=4,082$; $p\text{-value} < 0,0001$), respetivamente.

Em relação à variação média de concentração fúngica do género *Cladosporium* spp., entre os pontos de medição, registaram-se diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). O PC obteve concentrações mais elevadas deste género comparativamente à ZNC ($Z=-3,759$; $p\text{-value} < 0,0001$).

No que toca à concentração média de fungos do género *Penicillium* spp., entre os pontos de avaliação, estes demonstraram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). A ZC expôs estimativas superiores comparativamente à ZNC e ao PC ($Z=10,411$; $p\text{-value} < 0,0001$) e ($Z=9,056$; $p\text{-value} < 0,0001$), respetivamente.

A espécie *Aspergillus flavus* apresentou diferenças significativas entre a ZNC e o PC ($p < 0,05$), a qual ostentou maior significância média no PC em relação à ZNC ($Z=-2,062$; $p\text{-value} < 0,0001$).

Finalmente, as restantes espécies apresentadas revelaram uma concentração média relativamente semelhante, entre os diferentes pontos de colheita ($p\text{-value} > 0,05$).

O diagrama de extremos e quartis que se segue representa as contagens totais de fungos, em amostras de ar ambiente, na ZC, ZNC e PC.

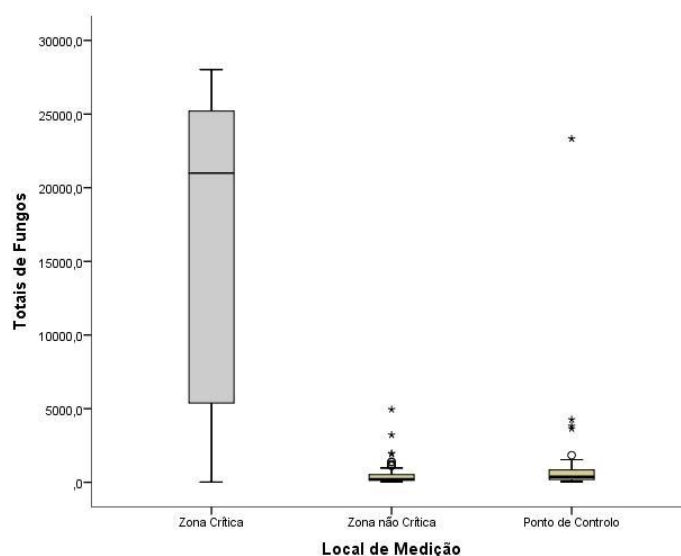


Gráfico 2 – Diagrama de extremos e quartis das contagens totais de fungos (ufc/m³), em amostras de ar ambiente, na ZC ZNC e PC

Segundo o gráfico anterior pode-se constatar que a ZC demonstrou uma maior amplitude de valores totais de fungos comparativamente às ZNC e PC.

De seguida apresentar-se-á as contagens totais de bactérias juntamente com as contagens totais de fungos viáveis, tendo em conta, as contagens mínimas e máximas medidas e as respetivas médias, em amostras de ar ambiente (ZC, ZNC e PC), em todas as amostras.

Tabela 7 – Contagens totais de bactérias e fungos viáveis, por ponto de colheita (ufc/m³)

Pontos de colheita	Contagem total de Bactérias (ufc/m ³)			Contagem total de Fungos (ufc/m ³)		
	Mínimo	Máximo	(n) M±DP	Mínimo	Máximo	(n) M±DP
Zona Crítica	120,0	8300,0	(79) 1209,11±1512,02	20,0	28020,0	(80) 16414,25±9951,90
Zona Não Crítica	30,0	1860,0	(62) 393,87±385,36	50,0	4950,0	(62) 519,36±803,64
Ponto de Controle	10,0	1230,0	(57) 228,25±265,53	50,0	23330,0	(63) 1016,98±2977,06

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão.

Nos três pontos de colheita observou-se que a média das contagens totais de bactérias e de fungos viáveis na ZC foi sempre superior às contagens médias obtidas no PC e ZNC (Tabela 7). Os valores obtidos na ZC (Triagem de papel, embalagens e vidro) apresentaram contagens totais de bactérias entre 120,0 ufc/m³ e 8300,0 ufc/m³, variando as contagens totais de fungos entre 20,0 ufc/m³ e 28020,0 ufc/m³. Enquanto os valores obtidos na ZNC apresentaram contagens totais de bactérias entre 30,0 ufc/m³ e 1860,0 ufc/m³, variando as contagens totais de fungos entre 50,0 ufc/m³ e 4950,0 ufc/m³. E por fim, os valores obtidos no PC apresentaram contagens totais de bactérias entre 10,0 ufc/m³ e 1230,0 ufc/m³,

variando as contagens totais de fungos entre 50,0 ufc/m³ e 23330,0 ufc/m³. Conclui-se assim que a microflora ambiental referente a microrganismos viáveis foi na sua maioria constituída por fungos.

4.1.2. Avaliação do risco biológico (bactérias e fungos), na Zona Crítica

Ao analisarmos o comportamento das concentrações médias de Bactérias Totais (Tabela 1 – Anexo I), nos postos de trabalho da ZC, identificou-se que os seus resultados estimados apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Ao aplicar-se o teste estatístico corrigido para comparações múltiplas (método de Bonferroni), constatou-se que a Triagem de Vidro indicou concentrações de batérias mais elevadas comparando com a Triagem de Papel ($Z=3,946$; $p\text{-value} < 0,0001$), exibindo perfil similar com a Triagem de Plástico ($Z=3,987$; $p\text{-value} < 0,0001$).

Relativamente à variação média de concentração de bactérias da espécie *Bacillus cereus*, entre os pontos analisados, registaram-se diferenças estatisticamente significativas entre si ($p < 0,05$). A Triagem de Vidro revelou estar significativamente mais elevada face à Triagem de Plástico ($Z=2,630$; $p\text{-value}=0,026$).

De seguida, procurou-se comparar os valores estimados das concentrações de bactérias (Gráfico 3) no ar interior das linhas de triagem, nas cinco empresas em estudo, por intermédio de diagramas de extremos e quartis.

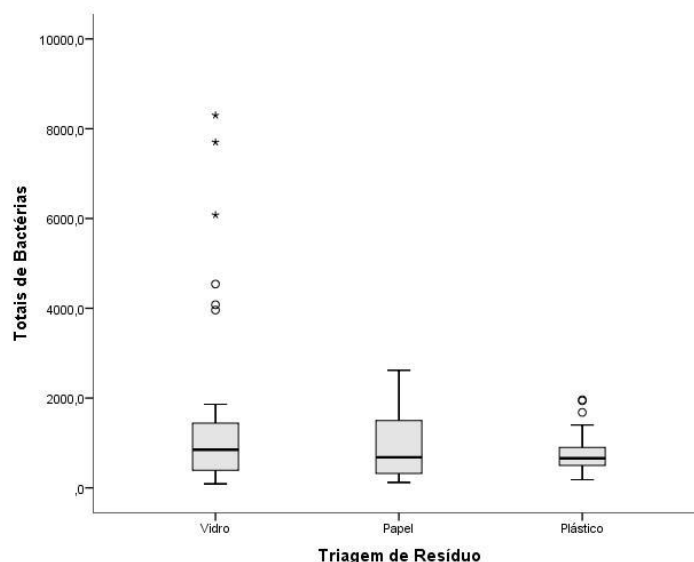


Gráfico 3 – Diagrama de extremos e quartis das contagens totais de bactérias (ar ambiente- ufc/m³) na ZC

A concentração média de bactérias no ar revelou-se estatisticamente significativa em relação ao tipo de triagem seletiva efetuada (Tabela 1 – Anexo I), indicando que na Triagem de Vidro se observaram concentrações de bactérias mais elevadas comparativamente aos restantes setores de triagem, tal como se pode constatar no Gráfico 3.

No gráfico seguinte, procurou-se comparar os valores estimados das concentrações de fungos no ar interior das linhas de triagem, nas cinco empresas em estudo, por intermédio de diagramas de extremos e quartis.

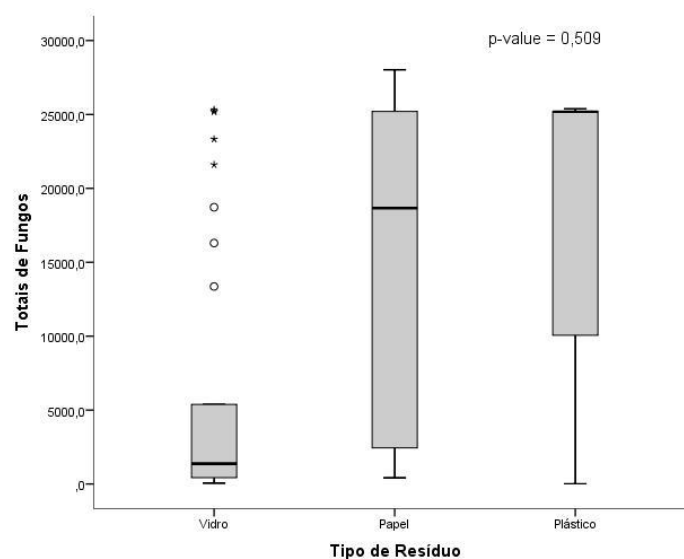


Gráfico 4 – Diagrama de extremos e quartis das contagens totais de fungos (ufc/m³), em amostras de ar ambiente, na ZC

Através do diagrama de extremos e quartis anterior constatou-se que não existiram diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios estimados de concentrações de fungos (Gráfico 4).

Na Tabela 2 – Anexo I, podemos confirmar, no caso dos fungos, a homogeneidade de variâncias entre a concentração média encontrada no ar e o tipo de triagem seletiva efetuada, apesar de se poder observar que foi na Triagem de Plástico que se encontrou maior concentração média no ar.

Os Gráficos 5 a 8 mostram as concentrações médias para a tipologia de resíduos triados nos centros de triagem de resíduos.

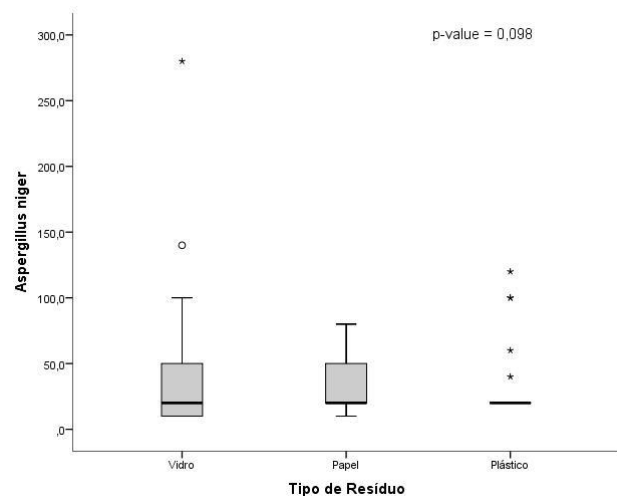


Gráfico 5 – Diagramas de extremos e quartis das contagens da espécie *Aspergillus niger* (ufc/m³), em amostras de ar ambiente, na ZC

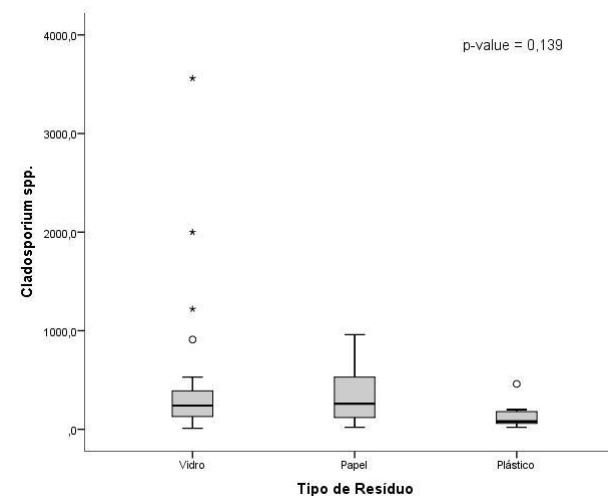


Gráfico 6 – Diagramas de extremos e quartis das contagens do género *Cladosporium spp.* (ufc/m³), em amostras de ar ambiente, na ZC

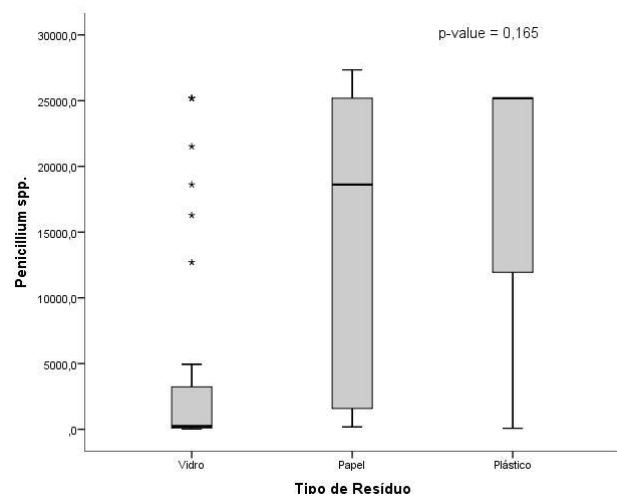


Gráfico 7 – Diagramas de extremos e quartis das contagens do género *Penicillium spp.* (ufc/m³), em amostras de ar ambiente, na ZC

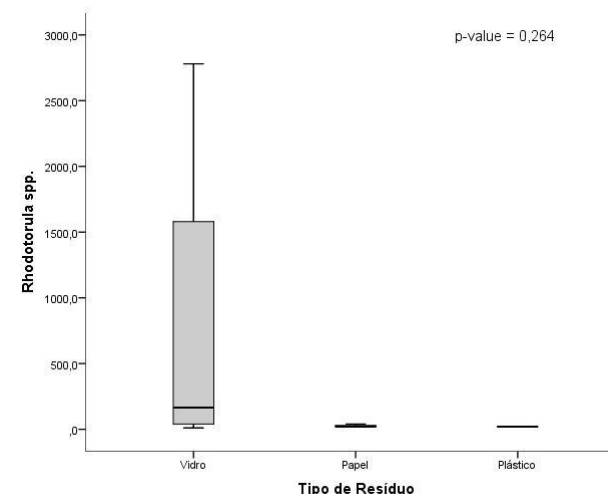


Gráfico 8 - Diagramas de extremos e quartis das contagens do género *Rhodotorula spp.* (ufc/m³), em amostras de ar ambiente, na ZC

Observando os resultados dos diagramas de extremos e quartis, verificou-se que não existiu uma associação estatística entre a espécie e os géneros identificados ($p > 0,05$), uma vez que existiram diferenças muito pouco significativas entre as médias de concentrações no interior da ZC.

4.1.3. Contagem de bactérias e fungos viáveis nas diferentes empresas

Pretendeu-se avaliar, de seguida, se existiram diferenças entre as contagens de bactérias viáveis, em função das empresas em estudo.

Tabela 8 – Contagem de bactérias viáveis nas diferentes empresas (ufc/m³)

Agente Biológico	Empresas					p-value
	A	B	C	D	E	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais Bactérias	(38) 386,05±374,94	(38) 256,84±242,20	(46) 576,30±663,18	(46) 663,04±538,26	(30) 1717,00±2252,19	<0,0001
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	(0) 0	(3) 60,00±52,92	(2) 225,00±304,06	(0) 0	(5) 530,00±790,57	0,415
<i>Bacillus</i> spp.	(30) 90,33±126,86	(29) 72,76±116,28	(37) 143,51±246,24	(42) 157,38±252,20	(22) 281,36±306,90	0,001
<i>Bacillus cereus</i>	(20) 52,50±83,78	(14) 27,14±23,67	(21) 118,57±141,96	(28) 76,43±65,90	(20) 101,50±175,15	0,082
<i>Bacillus subtilis</i>	(4) 32,50±22,17	(2) 200,00±197,99	(3) 50,00±60,83	(4) 130,00±220,15	(4) 182,50±273,42	0,535
<i>Bacillus licheniformis</i>	(5) 28,00±8,37	(0)	(1) 20,00	(1) 580,00	(2) 15,00±7,07	0,160
<i>Bacillus megaterium</i>	(2) 15,00±7,07	(1) 80,00	(4) 37,50±41,93	(2) 370,00±127,28	(0)	0,146
<i>Cellulomonas</i> spp./ <i>Microbacterium</i>	(2) 70,00±56,57	(3) 20,00±17,32	(4) 75,00±54,47	(7) 21,43±20,35	(2) 40,00±42,43	0,228
<i>Corynebacterium</i> spp.	(2) 10,00±0,00	(2) 10,00±0,00	(7) 72,86±94,11	(8) 173,75±170,62	(1) 40,00	0,087
<i>Micrococcus</i> spp.	(15) 83,33±112,10	(6) 88,33±49,16	(11) 261,82±302,29	(17) 120,00±311,57	(12) 380,83±1060,73	0,197
<i>Gardnerella vaginalis</i>	(2) 20,00±14,14	(1) 10,00	(3) 20,00±0,00	(1) 10,00	(1) 10,00	0,409
<i>Pantoea agglomerans</i>	(2) 50,00±42,43	(2) 135,00±120,21	(4) 80,00±69,76	(1) 80,00	(0)	0,777
<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	(31) 220,00±234,48	(34) 137,65 ± 137,75	(41) 294,87±302,43	(42) 305,00±278,53	(26) 586,54±1374,32	0,006

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Analisando os resultados obtidos na tabela anterior, constatou-se que existiram desigualdades estatisticamente significativas, entre a concentração média de Bactérias Totais no ar e entre as empresas de triagem de resíduos ($p < 0,05$). As Empresas D e E apresentaram concentrações superiores de Totais de Bactérias relativamente à Empresa A ($Z = -2,814$; $p\text{-value} = 0,0049$) e ($Z = -3,814$; $p\text{-value} = 0,001$), respetivamente, bem como em relação à Empresa B ($Z = -4,276$; $p\text{-value} < 0,0001$) e ($Z = -5,127$; $p\text{-value} < 0,0001$), respetivamente. Por sua vez a Empresa E apresentou valores superiores de Totais de Bactérias comparativamente à Empresa C ($Z = -3,175$; $p\text{-value} = 0,0015$).

Observando a variação média de concentração de bactérias do género *Bacillus* spp. e as cinco empresas verificou-se que existiram diferenças estatisticamente significativas

($p < 0,05$), entre si. Pode-se constatar que a Empresa E apresentou valores superiores deste género quando comparados com os da Empresa A ($Z = -2,902$; $p\text{-value} = 0,037$); da Empresa B ($Z = -3,841$; $p\text{-value} = 0,001$) e da Empresa C ($Z = -3,277$; $p\text{-value} = 0,010$).

Finalmente, destacam-se as concentrações da espécie *Staphylococcus* coagulase negativa, as quais apresentaram, igualmente, diferenças estatisticamente significativas em cada uma das empresas avaliadas ($p < 0,05$), sendo que as Empresas D e E apresentaram médias mais elevadas em comparação à Empresa B ($Z = -3,251$; $p\text{-value} = 0,012$) e ($Z = -3,060$; $p\text{-value} = 0,022$), respetivamente.

Na Tabela 9, analisou-se a presença ou ausência de concentrações de fungos viáveis, consoante os géneros e as espécies, nas empresas estudadas.

Tabela 9 – Contagem de fungos viáveis nas diferentes empresas (ufc/m³)

Agente Biológico	Empresas					p-value
	A	B	C	D	E	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(N) M±DP	
Totais Fungos	(38) 6169,21±9408,67	(43) 7363,95±10414,06	(44) 4784,54±9292,06	(45) 9676,22±11320,93	(35) 6068,00±8710,31	0,046
<i>Aspergillus niger</i>	(24) 26,67±26,15	(18) 33,33±29,31	(21) 20,48±12,44	(23) 27,39±24,72	(16) 48,75±72,74	0,574
<i>Candida</i> spp.	(2) 55,00±35,36	(3) 20,00±17,32	(7) 30,00±25,17	(6) 16,67±5,16	(7) 181,43±209,95	0,015
<i>Candidata famata</i>	(0)	(3) 36,67±37,86	(1) 10,00	(0)	(3) 190,00±208,09	0,203
<i>Cladosporium</i> spp.	(23) 342,17±859,99	(30) 189,33±221,84	(33) 289,70±312,74	(30) 306,67±368,21	(25) 486,40±776,06	0,113
<i>Cryptococcus laurentii</i>	(4) 15,00±5,77	(4) 32,50±22,17	(3) 13,33±5,77	(8) 22,50±11,65	(5) 50,00±38,08	0,248
<i>Penicillium</i> spp.	(37) 6074,32±9600,34	(41) 7566,59±10613,33	(43) 4619,30±9443,24	(45) 9434,89±11469,25	(35) 4667,71±8456,13	0,303
<i>Rhodotorula</i> spp.	(4) 17,50±15,00	(8) 18,75±21,00	(10) 16,00±9,66	(8) 13,75±10,61	(14) 763,57±1040,08	<0,0001
<i>Streptomyces</i> spp.	(2) 25,00±21,21	(2) 50,00±28,28	(5) 24,00±31,31	(2) 20,00±0,00	(1) 90,00	0,278
<i>Trichophyton</i> spp.	(4) 17,50±9,57	(1) 20,00	(8) 27,50±19,82	(8) 20,00±11,95	(5) 26,00±18,17	0,911
<i>Trichophyton equinum</i>	(1) 10,00	(3) 30,00±10,00	(2) 10,00±0,00	(3) 10,00±0,00	(3) 23,33±5,77	0,042
<i>Ulocladium</i> spp.	(0)	(2) 15,00±7,07	(3) 13,33±5,77	(1) 10,00	(7) 168,57±376,10	0,595

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Face aos resultados obtidos na tabela acima, observaram-se disparidades estatisticamente significativas quando analisada a presença de Totais de Fungos, no ar ambiente, das empresas avaliadas ($p < 0,05$). Assim sendo, após a utilização do teste estatístico de comparações múltiplas, com a correção de Bonferroni, a Empresa D ostentou exposições mais elevadas comparando com a Empresa C ($Z = -2,911$; $p\text{-value} = 0,036$).

Já no que se refere às exposições médias do género *Candida* spp., entre as empresas consideradas, conseguiu-se comprovar diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), uma vez que a Empresa E obteve estimativas médias superiores em relação à Empresa D ($Z = -2,937$; $p\text{-value} = 0,033$).

E por último, a referida tabela permitiu ainda analisar a variação de exposições médias a fungos do género *Rhodotorula* spp., entre cada uma das empresas, registando-se estimativas estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Relativamente a este género, a Empresa E comparativamente à Empresa B revelou variações superiores ($Z = -3,431$; $p\text{-value} = 0,006$), assim como com a Empresa C ($Z = -3,403$; $p\text{-value} = 0,007$) e com a Empresa D ($Z = -3,882$; $p\text{-value} = 0,001$).

4.1.3.1. Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa A

De seguida, procurou-se verificar se os operadores da Empresa A se encontraram expostos quanto às concentrações de bactérias viáveis na zona crítica, zona não crítica e local considerado de referência (ponto de controlo).

Tabela 10 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa A (ufc/m³)

Agente Biológico	Empresa A			p-value
	ZC	ZNC	PC	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de bactérias	(13) 775,39±381,85	(13) 247,69±147,54	(12) 114,17±87,43	<0,0001
<i>Bacillus</i> spp.	(11) 169,09±183,16	(10) 36,00±26,75	(9) 54,44±43,91	0,051
<i>Bacillus cereus</i>	(8) 90,00±126,94	(5) 26,00±11,40	(7) 28,57±14,64	0,103
<i>Bacillus subtilis</i>	(3) 40,00±20,00	---	(1) 10,00	0,180
<i>Bacillus licheniformis</i>	(3) 26,67±11,55	(1) 30,00	(1) 30,00	0,831
<i>Micrococcus</i> spp.	(7) 122,86±144,42	(5) 70,00±77,78	(3) 13,33±5,77	0,115
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	(13) 344,62±287,07	(12) 180,83±140,48	(6) 28,33±23,17	0,001

Legenda: ZC=Zona Crítica; ZNC= Zona Não Crítica; PC=Ponto de Controlo; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Observando os resultados estimados da Tabela 10, constatou-se que, em média, no que diz respeito aos resultados de Bactérias Totais, no ar ambiente da Empresa A, existiram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), dado que os resultados da ZC foram superiores aos da ZNC ($Z = 3,117$; $p\text{-value} = 0,005$) e aos do PC ($Z = 4,992$; $p\text{-value} < 0,0001$). Por fim, a média de concentrações de bactérias da espécie *Staphylococcus coagulase negativa*, entre os pontos de avaliação, permitiu observar diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), em que a zona de Triagem de papel e plástico (ZC) foi mais expressiva do que o local de referência - PC ($Z = 3,789$; $p\text{-value} < 0,0001$) e perfil semelhante encontrado nos serviços administrativos (ZNC) do que no mesmo local de referência ($Z = 2,634$; $p\text{-value} = 0,025$).

Procurou-se também explorar, a ZC por tipo de triagem efetuada, na Empresa A através da Tabela 11.

Tabela 11 – Avaliação do risco biológico (bactérias), na Zona Crítica, na Empresa A (ufc/m³)

Agente Biológico	Zona Crítica		p-value
	Triagem de Papel	Triagem de Plástico	
EMPRESA A	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de bactérias	(2) 510,00±240,42	(11) 823,64±390,57	0,374
<i>Bacillus</i> spp.	(2) 230,00±240,42	(9) 155,56±183,24	0,551
<i>Bacillus cereus</i>	(1) 40,00	(7) 97,14±135,37	0,657
<i>Bacillus licheniformis</i>	(1) 20,00	(2) 30,00±14,14	0,480
<i>Micrococcus</i> spp.	(2) 20,00±0,00	(5) 164,00±154,53	0,108
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	(2) 230,0±14,14	(11) 365,46±309,46	0,843

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Wilcoxon-Mann-Whitney*.

Face ao exposto, verificou-se que, no caso da carga bacteriana, na Empresa A, a concentração média encontrada no ar não estar positivamente correlacionada de forma significativa com o tipo de triagem seletiva efetuada ($p\text{-value}<0,05$), foi na Triagem de Plástico que se encontrou maior concentração bacteriana, no ar ambiente, na área crítica da empresa em questão.

Posteriormente, considerou-se importante investigar as espécies bacterianas pertencentes ao grupo 2 da classificação dos agentes biológicos, identificadas na Empresa A, devido à sua perigosidade para os trabalhadores. Veja-se a tabela seguinte:

Tabela 12 – Média das contagens totais (ufc/m³) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa A

Pontos de Colheita	Empresa A			
	Gram	Bactérias	Classificação	(n) M (ufc/m ³)
ZC (Triagem de embalagens)	(-)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	(2) 160,0
	(-)	<i>Enterobacter</i> spp.	2	(1) 280,0
	(-)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	(2) 120,0
	(-)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumoniae</i>	2	(1) 20,0
	(-)	<i>Klebsiella</i> spp.	2	(1) 100,0
PC	(+)	<i>Streptococcus uberis</i>	2	(1) 80,0
	(+)	<i>Corynebacterium renale</i> group	2	(1) 60,0
	(+)	<i>Corynebacterium</i> spp.	2	(1) 10,0
ZNC	(+)	<i>Gardnerella vaginalis</i>	2	(1) 30,0
	(+)	<i>Corynebacterium jeikeium</i>	2	(1) 20,0
	(-)	<i>Enterobacter cloacae</i>	2	(1) 20,0
	(+)	<i>Enterococcus</i> spp.	2	(1) 30,0
	(+)	<i>Gardnerella vaginalis</i>	2	(2) 10,0

Legenda: ZC=Zona Crítica; PC=Ponto de Controle; ZNC= Zona Não Crítica; n=N.º Amostras; M=Média.

Desta forma, pode-se constatar que na maioria dos locais de amostragem, exceto na Triagem de Papel, foi possível verificar a existência de espécies bacterianas pertencentes ao grupo 2 da classificação dos agentes biológicos (Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998). Por sua vez, na Triagem de Embalagens plásticas, foram identificadas espécies pertencentes aos géneros *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Streptococcus*, tendo sido detetadas microrganismos distintos no PC e ZNC (*Corynebacterium renale* group, *Corynebacterium*

spp., *Gardnerella vaginalis*, bem como, *Corynebacterium jeikeium*, *Enterobacter cloacae* e *Enterococcus* spp.).

Na ZC (Triagem manual de embalagens) foi possível verificar o predomínio de bactérias Gram (-), enquanto o PC e a ZNC apresentaram preponderância de bactérias Gram (+).

4.1.3.2. Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa B

Em analogia à Empresa A, pretendeu-se avaliar se os trabalhadores da Empresa B se deparam com exposições estatisticamente significativas quanto a concentrações médias de bactérias viáveis nas zonas mais críticas e menos críticas da empresa, face ao exterior.

Tabela 13 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa B (ufc/m³)

Agente Biológico	Empresa B			p-value
	ZC	ZNC	PC	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de bactérias	(17) 460,59±227,28	(13) 114,62±59,67	(8) 55,00±30,70	<0,0001
<i>Bacillus</i> spp.	(14) 131,43±147,95	(10) 16,00±6,99	(5) 22,00±8,37	<0,0001
<i>Bacillus cereus</i>	(8) 37,50±27,12	(3) 13,33±5,77	(3) 13,33±5,77	0,029
<i>Micrococcus</i> spp.	(5) 92,00±54,04	(1) 70,00	(0)	0,770
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	(16) 222,50±159,14	(13) 70,00±43,97	(5) 42,00±25,88	<0,0001

Legenda: ZC=Zona Crítica; ZNC= Zona Não Crítica; PC=Ponto de Controlo; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Segundo os resultados apresentados anteriormente, podemos concluir que, excetuando o género *Micrococcus* spp., todas as outras bactérias apresentaram concentrações médias, no ar, com diferenças estatisticamente significativas, entre os locais de amostragem ($p < 0,05$). Face ao exposto, a ZC demonstrou valores mais altos de Bactérias Totais quando comparada com a ZNC ($Z=3,881$; $p\text{-value} < 0,0001$), bem como, com o PC ($Z=4,820$; $p\text{-value} < 0,0001$). E valores mais altos do género *Bacillus* spp. quando comparada com a ZNC ($Z=4,064$; $p\text{-value} < 0,0001$).

Em relação à espécie *Bacillus cereus* podemos constatar que não se observaram diferenças relativamente consideráveis entre as diversas zonas.

Já as linhas de triagem (ZC) no que concerne à espécie *Staphylococcus coagulase negativa* apresentaram valores médios mais expressivos do que na ZNC ($Z=3,083$; $p\text{-value}=0,006$), tal como, no PC ($Z=3,219$; $p\text{-value}=0,004$).

Também na Empresa B, procurou-se explorar a ZC por triagem seletiva efetuada, recorrendo à Tabela 14.

Tabela 14 – Avaliação do risco biológico (bactérias), na Zona Crítica, na Empresa B (ufc/m³)

Agente Biológico	Zona Crítica		p-value
	Triagem de Papel	Triagem de Plástico	
EMPRESA B	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de bactérias	(6) 451,67±245,96	(11) 465,46±228,75	0,763
<i>Bacillus</i> spp.	(4) 125,00±55,08	(10) 134,00±174,88	0,317
<i>Bacillus cereus</i>	(2) 80,00±0,00	(6) 23,33±8,17	0,021
<i>Micrococcus</i> spp.	(4) 75,00±44,35	(1) 160,00	0,157
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	(6) 176,67±153,58	(10) 250,00±163,91	0,250

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Wilcoxon-Mann-Whitney*.

No caso das contagens médias de bactérias, foi possível verificar, através da análise da tabela anterior, que foram as operações de Triagem de Plástico que, na sua maioria, apresentaram contagens médias mais elevadas de bactérias viáveis, face à Triagem de Papel apesar de não se observarem diferenças médias estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

De seguida encontram-se explanadas na Tabela 15, a média das contagens totais de cada espécie bacteriana identificada com classificação grupo 2. Deste modo, os trabalhadores da Empresa B estiveram expostos ao género *Enterobacter*, comum a todos os pontos de colheita, exceto no PC. Na maioria dos pontos de colheita foi possível verificar o predomínio de bactérias Gram (-) sendo, no entanto, a única espécie encontrada no PC, Gram (+).

Tabela 15 – Média das contagens totais (ufc/m³) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa B

Pontos de Colheita	Empresa B			(n) M (ufc/m ³)
	Gram	Bactérias	Classificação	
ZC (Triagem de papel)	(-)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	(1) 150,0
	(-)	<i>Enterobacter</i> spp.	2	(1) 20,0
	(-)	<i>Enterobacter cloacae</i>	2	(1) 20,0
	(-)	<i>Enterobacter</i> spp.	2	(1) 40,0
ZC (Triagem de embalagens)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	(2) 20,0
	(-)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	(1) 40,0
	(+)	<i>Corynebacterium afermentans</i>	2	(1) 100,0
	(+)	<i>Corynebacterium propinquum</i>	2	(1) 40,0
	(+)	<i>Corynebacterium pseudogenitalium</i>	2	(1) 20,0
PC	(+)	<i>Gardnerella vaginalis</i>	2	(1) 10,0
ZNC	(-)	<i>Enterobacter gergoviae</i>	2	(1) 20,0
	(+)	<i>Corynebacterium</i> spp.	2	(2) 10,0

Legenda: ZC=Zona Crítica; PC=Ponto de Controlo; ZNC= Zona Não Crítica; n=N.º Amostras; M=Média.

4.1.3.3. Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa C

Seguidamente, no que se refere à Empresa C foi analisada a contagem de bactérias e fungos viáveis, tendo em conta os pontos analisados (ZC; ZNC; PC), Tabela 16, detalhando especificamente os resíduos triados na ZC (papel e plástico), Tabela 17. E ainda a identificação de cada bactéria com classificação grupo 2, por cada ponto de colheita, referido anteriormente (Tabela 18).

Tabela 16 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa C (ufc/m³)

Agente Biológico	Empresa C			p-value
	ZC	ZNC	PC	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de bactérias	(20) 982,50±795,76	(13) 343,85±337,18	(13) 183,85±180,39	<0,0001
<i>Bacillus</i> spp.	(16) 288,13±323,63	(12) 30,00±26,97	(9) 37,78±41,77	0,002
<i>Bacillus cereus</i>	(13) 174,62±155,27	(3) 26,67±28,87	(5) 28,00±34,93	0,013
<i>Bacillus megaterium</i>	(3) 46,67±46,19	(1) 10,00	---	0,157
<i>Corynebacterium</i> spp.	(3) 76,67±106,93	(3) 20,00±10,00	(1) 220,00	0,306
<i>Micrococcus</i> spp.	(8) 342,50±320,61	(2) 65,00±35,36	(1) 10,00	0,141
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	(18) 390,00±329,72	(12) 304,17±326,51	(11) 129,09±130,95	0,044

Legenda: ZC=Zona Crítica; ZNC= Zona Não Crítica; PC=Ponto de Controlo; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Face aos resultados obtidos na tabela anterior, verificaram-se diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), no que diz respeito à variação da concentração média de Bactérias Totais, *Bacillus* spp., *Bacillus cereus* e *Staphylococcus coagulase negativa*, no ar ambiente, entre os pontos de avaliação.

Desta forma, podemos constatar que a ZC demonstrou sempre valores superiores de Bactérias Totais, perante os outros locais de amostragem da empresa analisada (ZNC e PC), respetivamente, ($Z=2,636$; $p\text{-value}=0,025$) e ($Z=3,674$; $p\text{-value}=0,001$). Bem como, demonstrou sempre valores superiores do género *Bacillus* spp. quando comparado novamente com a ZNC e o PC ($Z=3,251$; $p\text{-value}=0,003$) e ($Z=2,661$; $p\text{-value}=0,023$), respetivamente. Em relação à espécie *Bacillus cereus*, a ZC expôs valores superiores quando comparada ao PC ($Z=2,496$; $p\text{-value}=0,038$) e o mesmo aconteceu relativamente à espécie *Staphylococcus coagulase negativa* ($Z=2,496$; $p\text{-value}=0,038$).

Tabela 17 – Avaliação do risco biológico (bactérias), na Zona Crítica, na Empresa C (ufc/m³)

Agente Biológico	Zona Crítica		p-value
	Triagem de Papel	Triagem de Plástico	
	(n) M±DP	(n) M±DP	
EMPRESA C			
Totais de bactérias	(13) 1045,39±931,99	(7) 865,71±493,52	0,905
<i>Bacillus</i> spp.	(10) 299,00±343,20	(6) 270,00±318,68	0,479
<i>Bacillus cereus</i>	(9) 190,00±174,93	(4) 140,00±111,95	0,816
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	(12) 385,00±388,67	(6) 400,00±192,67	0,302

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Wilcoxon-Mann-Whitney*.

Mediante a tabela acima, os níveis de exposição ocupacional a bactérias viáveis mais elevados foram verificados na Triagem de Papel, com contagens médias de bactérias de 1045,39 ufc/m³. Na Empresa C, apesar da média de concentrações de bactérias encontrada,

no ar ambiente da ZC, não estar diferenciada de forma estatisticamente significativa com o tipo de triagem seletiva efetuada ($p\text{-value}>0,05$), esta foi maior na linha de Triagem de Papel.

Tabela 18 – Média das contagens totais (ufc/m³) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa C

Pontos de Colheita	Empresa C			
	Gram	Bactérias	Classificação	(n) M (ufc/m ³)
ZC (Triagem de papel)	(-)	<i>Enterobacter cancerogenus</i>	2	(1) 20,0
	(+)	<i>Corynebacterium</i> spp.	2	(3) 76,67
	(+)	<i>Corynebacterium urealyticum</i>	2	(1) 40,0
	(+)	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	2	(2) 40,0
	(+)	<i>Enterococcus faecium</i>	2	(1) 80,0
	(+)	<i>Gardnerella vaginalis</i>	2	(2) 20,0
ZC (Triagem de embalagens)	(-)	<i>Enterobacter cloacae</i>	2	(1) 60,0
	(-)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumoniae</i>	2	(1) 40,0
PC	(-)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumoniae</i>	2	(1) 100,0
	(+)	<i>Corynebacterium</i> spp.	2	(1) 220,0
	(+)	<i>Corynebacterium aquaticum</i>	2	(1) 10,0
	(+)	<i>Corynebacterium bovis</i>	2	(1) 10,0
	(+)	<i>Gardnerella vaginalis</i>	2	(1) 20,0
ZNC	(+)	<i>Corynebacterium</i> spp.	2	(3) 20,0
	(+)	<i>Corynebacterium genitalium</i>	2	(1) 10,0

Legenda: ZC=Zona Crítica; PC=Ponto de Controlo; ZNC= Zona Não Crítica; n=N.º Amostras; M=Média.

Como observado na Tabela 18, e analisando as espécies bacterianas identificadas nos diversos pontos de colheita, verificou-se a prevalência do género *Corynebacterium*, exceto na ZC (Triagem manual de embalagens). Em todos os pontos de colheita foram isolados microrganismos pertencentes ao grupo 2 da classificação dos agentes biológicos (Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998). A expressão mais significativa foi identificada na amostra de referência (PC), com concentração média de 220 ufc/m³ do género *Corynebacterium* spp.

4.1.3.4. Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa D

Procurou-se explorar, de seguida, a avaliação da microflora bacteriana, na Empresa D.

Tabela 19 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa D (ufc/m³)

Agente Biológico	Empresa D			p-value
	ZC	ZNC	PC	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de bactérias	(22) 993,64±560,66	(12) 400,00±234,44	(12) 320,00±328,22	<0,0001
<i>Bacillus</i> spp.	(20) 275,00±327,47	(11) 45,46±53,91	(11) 55,46±35,32	<0,0001
<i>Bacillus cereus</i>	(16) 101,25±61,31	(4) 50,00±60,55	(8) 40,00±61,64	0,006
<i>Cellulomonas</i> spp./ <i>Microbacterium</i>	(1) 40,00	(4) 22,50±25,00	(2) 10,00±0,00	0,368
<i>Corynebacterium</i> spp.	(5) 236,00±191,52	(2) 100,00±0,00	(1) 10,00	0,289
<i>Micrococcus</i> spp.	(8) 217,50±445,73	(4) 50,00±73,48	(5) 20,00±12,25	0,021
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	(21) 355,24±331,54	(12) 293,33±186,61	(9) 203,33±237,64	0,221

Legenda: ZC=Zona Crítica; ZNC= Zona Não Crítica; PC=Ponto de Controlo; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Observando a Tabela 19 constatou-se que a comparação da concentração média de Fungos, no ar ambiente, entre as zonas em análise registaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). A ZC apresentou valores superiores de Totais de Bactérias relativamente à ZNC ($Z=2,974$; $p\text{-value}=0,009$) e ao PC ($Z=4,246$; $p\text{-value} < 0,0001$).

Relativamente, à variação média de concentração de bactérias do género *Bacillus* spp., entre as três zonas avaliadas, registaram-se diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). A ZC apresentou valores superiores comparativamente à ZNC ($Z=3,772$; $p\text{-value} < 0,0001$) e ao PC ($Z=2,921$; $p\text{-value}=0,010$).

Em relação, à espécie *Bacillus cereus*, registaram-se diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes locais de avaliação ($p < 0,05$), constatando-se que a ZC apresentou valores superiores em comparação ao PC ($Z=2,994$; $p\text{-value}=0,008$). Verificando-se a mesma tendência, o género *Micrococcus* spp., na ZC apresentou valores mais elevados em comparação ao ar exterior - PC ($Z=2,572$; $p\text{-value}=0,030$).

Posteriormente procurou-se analisar a avaliação da microflora bacteriana, mas agora na ZC, segundo os resíduos triados na Empresa D.

Tabela 20 – Avaliação do risco biológico (bactérias), na Zona Crítica, na Empresa D (ufc/m³)

Agente Biológico	Zona Crítica		p-value
	Triagem de Papel	Triagem de Plástico	
EMPRESA D	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de bactérias	(9) 1062,22±684,94	(13) 946,15±481,00	0,815
<i>Bacillus</i> spp.	(9) 233,33±266,08	(11) 309,09±379,83	0,543
<i>Bacillus cereus</i>	(7) 108,57±78,19	(9) 95,56±48,76	1,000
<i>Corynebacterium</i> spp.	(2) 210,00±268,70	(3) 253,33±190,09	0,564
<i>Micrococcus</i> spp.	(3) 486,67±721,76	(5) 56,00±16,73	0,122
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	(9) 322,22±349,49	(12) 380,00±330,84	0,475

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Wilcoxon-Mann-Whitney*.

Apesar da concentração média de bactérias encontrada, no ar, não se diferenciou de forma estatisticamente significativa com o tipo de triagem seletiva efetuada ($p\text{-value} > 0,05$), no caso das contagens médias de bactérias na Empresa D, é possível verificar, através da análise da Tabela 20, que foram as operações de Triagem de Papel que apresentaram contagens médias mais expressivas de bactérias viáveis.

Na tabela seguinte, analisou-se a presença ou ausência de concentrações de bactérias identificadas com classificação grupo 2, de acordo com os géneros e as espécies das amostras em estudo.

Tabela 21 – Média das contagens totais (ufc/m³) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa D

Pontos de Colheita	Empresa D			
	Gram	Bactérias	Classificação	(n) M (ufc/m ³)
ZC (Triagem de papel)	(-)	<i>Enterobacter</i> spp.	2	(1) 200,0
	(+)	<i>Corynebacterium</i> spp.	2	(2) 210,0
	(+)	<i>Corynebacterium jeikeium</i>	2	(1) 20,0
ZC (Triagem de embalagens)	(-)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	(2) 90,0
	(-)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumoniae</i>	2	(2) 80,0
	(-)	<i>Enterobacter cloacae</i>	2	(2) 70,0
	(-)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	(1) 20,0
	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	(1) 140,0
	(+)	<i>Corynebacterium</i> spp.	2	(3) 253,33
	(+)	<i>Corynebacterium striatum</i>	2	(1) 20,0
	(+)	<i>Enterococcus faecium</i>	2	(1) 60,0
	(+)	<i>Corynebacterium renale</i> group	2	(1) 60,0
PC	(+)	<i>Corynebacterium jeikeium</i>	2	(1) 50,0
	(+)	<i>Corynebacterium glucuronolyticum</i>	2	(1) 10,0
	(+)	<i>Corynebacterium</i> spp.	2	(1) 10,0
ZNC	(+)	<i>Corynebacterium</i> spp.	2	(1) 10,0
	(+)	<i>Gardnerella vaginalis</i>	2	(1) 10,0

Legenda: ZC=Zona Crítica; PC=Ponto de Controlo; ZNC=Zona Não Crítica; n=N.º Amostras; M=Média.

Em todos os pontos de colheita foi possível verificar a existência de espécies bacterianas pertencentes ao grupo 2 da classificação dos agentes biológicos (Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998). De referir, no entanto, que na Triagem de Papel foram identificadas espécies pertencentes aos géneros *Enterobacter* e *Corynebacterium*, pertencendo à Triagem de Embalagens o maior número de espécies classificadas (*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Corynebacterium* spp. e *Enterococcus* spp.)

4.1.3.5. Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa E

Pretendeu-se estudar de seguida, a avaliação do risco biológico (bactérias), na Empresa E, através da observação dos valores encontrados nas diferentes zonas da empresa.

Tabela 22 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa E (ufc/m³)

Agente Biológico	Empresa E			p-value
	ZC	ZNC	PC	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de bactérias	(7) 5157,14±2380,01	(11) 949,09±455,00	(12) 414,17±349,61	<0,0001
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	(1) 1920,00	(3) 110,00±104,40	(1) 400,00	0,202
<i>Bacillus</i> spp.	(7) 494,29±371,43	(9) 231,11±259,78	(6) 108,33±134,67	0,062
<i>Bacillus cereus</i>	(5) 336,00±230,39	(6) 33,33±18,62	(9) 16,67±12,25	0,003
<i>Micrococcus</i> spp.	(3) 1360,00±2061,36	(5) 84,00±90,44	(4) 17,50±15,00	0,046
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	(5) 1648,00±3087,32	(10) 497,00±373,13	(11) 185,46±188,80	0,060

Legenda: ZC=Zona Crítica; ZNC= Zona Não Crítica; PC=Ponto de Controlo; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Através dos resultados da tabela anterior, observou-se que existiram variações estatisticamente significativas entre as concentrações médias de Bactérias Totais, *Bacillus cereus* e *Micrococcus* spp. e os locais de trabalho, bem como, com a envolvente da empresa em questão ($p < 0,05$). A área de produção (ZC) ostentou valores superiores de Totais de Bactérias relativamente à área não produtiva (ZNC - $Z = 2,498$; $p\text{-value} = 0,037$) e à área envolvente da empresa ($Z = 4,455$; $p\text{-value} < 0,0001$). Quanto à espécie *Bacillus cereus*, a área de produção obteve valores aumentados em comparação à área envolvente ($Z = 3,404$; $p\text{-value} = 0,002$) e igualmente em relação, à espécie *Micrococcus* spp. ($Z = 2,479$; $p\text{-value} = 0,040$).

Na Triagem de Vidro efetuada na Empresa E, foi analisada a avaliação do risco biológico, quanto às bactérias, mediante a Tabela a seguir.

Tabela 23 – Avaliação do risco biológico (bactérias), na Zona Crítica, na Empresa E (ufc/m³)

Agente Biológico	Zona Crítica
	Triagem de Vidro
EMPRESA E	(n) M±DP
Totais de bactérias	(7) 5157,14±2380,01
<i>Bacillus</i> spp.	(7) 494,29±371,43
<i>Bacillus cereus</i>	(5) 336,00±230,39
<i>Micrococcus</i> spp.	(3) 1360,00±2061,36
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	(5) 1648,00±3087,32

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão.

Através das contagens médias de bactérias na Empresa E, foi possível verificar através da análise da Tabela 23, que foram os Totais de bactérias, o género *Micrococcus* spp. e a espécie *Staphylococcus coagulase negativa* que apresentaram contagens médias mais elevadas de bactérias viáveis, na ZC da empresa, que efetuaram Triagem manual de embalagens de vidro.

A tabela seguinte irá apresentar a distribuição das bactérias com classificação grupo 2, entre os diferentes pontos de colheita.

Tabela 24 – Média das contagens totais (ufc/m³) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa E

Pontos de Colheita	Empresa E			
	Gram	Bactérias	Classificação	(n) M (ufc/m ³)
ZC (Triagem de vidro)	(-)	<i>Proteus vulgaris</i>	2	(1) 200,0
	(-)	<i>Proteus penniri</i>	2	(1) 680,0
	(-)	<i>Enterobacter cloacae</i>	2	(1) 1580,0
	(-)	<i>Enterobacter</i> spp.	2	(1) 180,0
	(-)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumoniae</i>	2	(1) 300,0
	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	(1) 20,0
	(+)	<i>Corynebacterium aquaticum</i>	2	(1) 6040,0
PC	(-)	<i>Enterobacter sakazakii</i>	2	(1) 30,0
	(+)	<i>Corynebacterium</i> spp.	2	(1) 40,0
	(+)	<i>Gardnerella vaginalis</i>	2	(1) 20,0
	(+)	<i>Enterococcus avium</i>	2	(1) 10,0
ZNC	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	(1) 510,0
	(-)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	(1) 130,0
	(-)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumoniae</i>	2	(1) 70,0
	(-)	<i>Klebsiella</i> spp.	2	(1) 50,0
	(-)	<i>Enterobacter sakazakii</i>	2	(1) 10,0
	(+)	<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	2	(1) 40,0
	(+)	<i>Staphylococcus aureus</i>	2	(1) 300,0

Legenda: ZC=Zona Crítica; PC=Ponto de Controlo; ZNC= Zona Não Crítica; n=N.º Amostras; M=Média.

Assim, na ZC foram identificadas as bactérias *Klebsiella pneumoniae* spp. *pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Corynebacterium aquaticum*, tendo sido igualmente descrita a existência de espécies pertencentes aos géneros *Proteus* e *Enterobacter*. No PC foram identificadas as espécies *Enterobacter sakazakii*, *Gardnerella vaginalis* e *Enterococcus avium*, tendo sido igualmente identificadas espécies pertencentes ao género *Corynebacterium*. E na ZNC foram identificadas as espécies *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* spp. *pneumoniae*, *Enterobacter sakazakii*, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* e *Staphylococcus aureus*.

4.1.3.6. Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa A

De seguida, procurou-se verificar se os operadores das empresas se encontraram expostos quanto às concentrações de bactérias viáveis na zona crítica, zona não crítica e local considerado de referência (ponto de controlo), iniciando-se pela Empresa A.

Tabela 25 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa A (ufc/m³)

Agente Biológico	Empresa A			p-value
	ZC	ZNC	PC	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de fungos	(13) 16875,39±9091,66	(12) 411,67±510,99	(13) 777,69±1111,14	<0,0001
<i>Aspergillus niger</i>	(13) 38,46±31,05	(5) 10,00±0,00	(6) 15,00±5,48	0,001
<i>Cladosporium</i> spp.	(0)	(11) 131,81±146,82	(12) 535,00±1172,51	0,279
<i>Penicillium</i> spp.	(13) 16830,77± 9106,30	(12) 274,17±530,27	(12) 221,67±292,79	<0,0001
<i>Trichophyton</i> spp.	(0)	(3) 20,00±10,00	(1) 10,00	0,346

Legenda: ZC=Zona Crítica; ZNC= Zona Não Crítica; PC=Ponto de Controlo; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Conforme se observa na Tabela 25, a comparação da concentração média de Fungos Totais no ar, entre os pontos de colheita, registou diferenciações estatisticamente significativas, ($p < 0,05$). Assim, aplicando o teste estatístico de comparações múltiplas (método de Bonferroni corrigido), nos locais de manipulação da ZC em comparação com os locais de trabalho da ZNC ($Z=4,662$; $p\text{-value} < 0,0001$) e com o exterior ($Z=3,949$; $p\text{-value} < 0,0001$) deparamo-nos com estimativas mais elevadas de fungos viáveis, nos locais mencionados em primeiro. A espécie *Aspergillus niger* na ZC apresentou ordens de grandeza superiores unicamente em relação à ZNC ($Z=3,658$; $p\text{-value}=0,001$).

Similarmente, a comparação da concentração média do género *Penicillium* spp. no ar, entre os pontos de colheita, registou diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Deste modo, a ZC da Empresa A possuía comparativamente com a ZNC ($Z=4,181$; $p\text{-value} < 0,0001$), bem como com o PC ($Z=4,374$; $p\text{-value} < 0,0001$), estimativas mais elevadas deste género de fungos.

Procurou-se também explorar, a ZC por tipo de triagem efetuada, começando pela Empresa A, através da Tabela 26.

Tabela 26 – Avaliação do risco biológico (fungos), na Zona Crítica, na Empresa A (ufc/m³)

Agente Biológico	Zona Crítica		p-value
	Triagem de Papel	Triagem de Plástico	
	(n) M±DP	(n) M±DP	
EMPRESA A			
Totais de fungos	(2) 4240,00±1951,61	(11) 19172,73±7814,92	0,042
<i>Aspergillus niger</i>	(2) 40,00±28,28	(11) 38,18±32,81	0,717
<i>Penicillium</i> spp.	(2) 4160,00±1979,90	(11) 19134,55±7821,12	0,042

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Wilcoxon-Mann-Whitney*.

A Tabela 26 mostra-nos que no caso da carga fúngica, na Empresa A, apesar da concentração média dos fungos encontrada no se diferenciar de forma significativa com o tipo de triagem seletiva efetuada, foi na Triagem de Plástico que se encontrou maior concentração de fungos no ar.

Posteriormente, considerou-se importante estratificar as espécies bacterianas pesquisadas, iniciando na Empresa A, de acordo com a classificação no grupo 2 dos agentes biológicos, devido à sua perigosidade para os trabalhadores desta empresa.

Tabela 27 – Média das contagens totais (ufc/m³) de cada fungo identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa A

Pontos de Colheita	Empresa A		
	Fungos	Classificação	(n) M (ufc/m ³)
PC	<i>Microsporium equinum</i>	2	(1) 10,0
	<i>Microsporium spp.</i>	2	(1) 20,0
	<i>Trichophyton spp.</i>	2	(1) 10,0
ZNC	<i>Trichophyton equinum</i>	2	(1) 10,0
	<i>Trichophyton spp.</i>	2	(2) 20,0

Legenda: PC=Ponto de Controlo; ZNC=Zona Não Crítica; n=N.º Amostras; M=Média.

Desta forma, analisando comparativamente as espécies bacterianas identificadas nos dois pontos (PC e ZNC), verificou-se a existência dos géneros *Microsporium* e *Trichophyton*. Enquanto na ZC (Triagem manual de papel e de embalagens de plástico) não foram isoladas espécies pertencentes ao grupo 2 da classificação dos agentes biológicos (Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998).

Nesta fase, foram analisadas as contagens totais de bactérias comparadas com as contagens de fungos viáveis, na Empresa A, especificadas por triagem manual de papel e de embalagens de plástico, zona não crítica e ponto de referência.

Tabela 28 – Contagem total de bactérias e fungos viáveis (ufc/m³), por ponto de colheita, na Empresa A

Pontos de colheita	Contagem total de Bactérias (ufc/m ³)			Contagem total de Fungos (ufc/m ³)			
	Mínimo	Máximo	(n) M±DP	Mínimo	Máximo	(n) M±DP	
EMPRESA A							
Zona Crítica	Triagem de Papel	340,0	680,0	(2) 510,0±240,41	2860,0	5620,0	(2) 4240,00±1951,61
	Triagem de Embalagens	280,0	1400,0	(11) 823,64±390,57	5020,0	25200,0	(11) 19172,73±7814,92
Zona Não Crítica		60,0	620,0	(13) 247,69±147,54	70,0	1920,0	(12) 411,67±510,99
Ponto de Controlo		40,0	350,0	(12) 114,17±87,43	50,0	4260,0	(13) 777,69±1111,14

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão.

Nos três pontos de colheita da Empresa A observa-se que a média das contagens totais de bactérias e de fungos viáveis na ZC foram sempre muito superiores às contagens médias obtidas no PC e ZNC (Tabela 28). Os valores obtidos na zona crítica (Triagem manual de papel) apresentaram contagens totais de bactérias entre 340,0 ufc/m³ e 680,0 ufc/m³,

variando as contagens totais de fungos entre 2860,0 ufc/m³ e 5620,0 ufc/m³. Enquanto os valores obtidos na zona crítica (Triagem manual de embalagens) apresentaram contagens totais de bactérias entre 280,0 ufc/m³ e 1400,0 ufc/m³, diversificando as contagens totais de fungos entre 5020,0 ufc/m³ e 25200,0 ufc/m³. A microflora ambiental referente a microrganismos viáveis foi na sua maioria constituída por fungos.

4.1.3.7. Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa B

No que se refere à Empresa B, analisa-se então a exposição ocupacional dos trabalhadores expostos às concentrações de bactérias viáveis na zona crítica, zona não crítica e local considerado de referência (ponto de controlo), através da Tabela 29. De seguida, a Tabela 30 explora de forma detalhada, a ZC por tipo de triagem efetuada; a Tabela 31 identifica as espécies bacterianas classificadas no grupo 2 dos agentes biológicos e a Tabela 32 expõe as contagens totais de bactérias e de fungos viáveis, na Empresa B.

Tabela 29 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa B (ufc/m³)

Agente Biológico	Empresa B			p-value
	ZC	ZNC	PC	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de fungos	(17) 18041,77±91691,14	(13) 388,46±494,45	(13) 376,15±331,10	<0,0001
<i>Aspergillus niger</i>	(13) 33,07±24,28	(3) 43,33±57,74	(2) 20,00±14,14	0,646
<i>Cladosporium</i> spp.	(6) 150,00±163,34	(11) 112,73±149,20	(13) 272,31±275,05	0,165
<i>Cryptococcus laurentii</i>	(1) 40,00	(0)	(3) 30,00±26,46	0,655
<i>Penicillium</i> spp.	(17) 17949,41±9261,22	(13) 333,85±423,27	(11) 68,18±62,10	<0,0001
<i>Rhodotorula</i> spp.	(1) 20,00	(2) 10,00±0,00	(5) 22,00±26,83	0,306

Legenda: ZC=Zona Crítica; ZNC= Zona Não Crítica; PC=Ponto de Controlo; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

A confrontação da concentração média de Fungos Totais e do género *Penicillium* spp., no ar, entre os pontos de colheita revelou diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Segundo o teste de comparações múltiplas corrigido de Bonferroni, e reforçando o atrás referido, podemos inferir que a ZC em comparação com a ZNC ($Z=4,877$; $p\text{-value} < 0,0001$) e com o PC ($Z=4,261$; $p\text{-value} < 0,0001$) apresentou estimativas mais relevantes de Fungos Totais.

Foi igualmente depreendido que a ZC comparativamente com a ZNC ($Z=4,936$; $p\text{-value} < 0,0001$), bem como com o PC ($Z=4,080$; $p\text{-value} < 0,0001$), apresentou estimativas mais elevadas do género *Penicillium* spp., no ar interior da Empresa B.

Tabela 30 – Avaliação do risco biológico (fungos), na Zona Crítica, na Empresa B (ufc/m³)

Agente Biológico	Zona Crítica		p-value
	Triagem de Papel	Triagem de Plástico	
	(n) M±DP	(n) M±DP	
EMPRESA B			
Totais de fungos	(6) 18808,33±8073,31	(11) 17623,64±10068,91	0,575
<i>Aspergillus niger</i>	(6) 45,00±32,09	(7) 22,86±7,56	0,328
<i>Cladosporium</i> spp.	(1) 80,00	(5) 164,00±178,55	1,000
<i>Penicillium</i> spp.	(6) 18750,00±8084,67	(11) 17512,73±10195,94	0,870

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Wilcoxon-Mann-Whitney*.

Seguidamente, no caso das contagens médias de fungos, na Empresa B, foi possível concluir através da análise da Tabela 30 que as operações de triagem apresentaram contagens médias análogas de fungos viáveis, pois os níveis de concentrações foram significativamente semelhantes.

Tabela 31 – Média das contagens totais (ufc/m³) de cada fungo identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa B

Pontos de Colheita	Empresa B		
	Fungos	Classificação	(n) M (ufc/m ³)
ZC (Triagem de Embalagens)	<i>Trichophyton equinum</i>	2	(1) 40,0
	<i>Trichophyton equinum</i>	2	(1) 25,0
PC	<i>Microsporium equinum</i>	2	(1) 10,0
	<i>Microsporium spp.</i>	2	(1) 10,0
ZNC	<i>Trichophyton spp.</i>	2	(1) 20,0

Legenda: ZC=Zona Crítica; PC=Ponto de Controlo; ZNC=Zona Não Crítica; n=N.º Amostras; M=Média.

As operações dedicadas à Triagem de papel não apresentaram contaminação por fungos pertencentes ao grupo 2 (Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998). As espécies identificadas pertencentes ao género *Trichophyton* foram comuns a todos os pontos de amostragem.

Tabela 32 – Contagem total de bactérias e fungos viáveis (ufc/m³), por ponto de colheita, na Empresa B

Pontos de colheita	Contagem total de Bactérias (ufc/m ³)			Contagem total de Fungos (ufc/m ³)			
	Mínimo	Máximo	(n) M±DP	Mínimo	Máximo	(n) M±DP	
EMPRESA B							
Zona Crítica	Triagem de Papel	300,0	940,0	(6) 451,67±245,96	7530,0	25260,0	(6) 18808,33±8073,31
	Triagem de Embalagens	180,0	840,0	(11) 465,46±228,75	1020,0	25260,0	(11) 17623,64±10068,91
Zona Não Crítica		40,0	240,0	(13) 114,62±59,67	50,0	1400,0	(13) 388,46±494,45
Ponto de Controlo		10,0	90,0	(8) 55,00±30,70	50,0	1140,0	(13) 376,15±331,10

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão.

Avaliando os mesmos pontos de colheita, observou-se que, para a empresa em estudo, as médias das contagens totais de bactérias e fungos nas operações de Triagem de Papel e de Embalagens (ZC) foram sempre superiores às contagens obtidas no PC e ZNC (Tabela 32). Os níveis de exposição ocupacional a bactérias e fungos viáveis mais elevados foram verificados na Triagem de Papel, com contagens médias de bactérias e fungos nas ordens de grandeza de 451,7 ufc/m³ e de 18808,3 ufc/m³, respetivamente. A ZNC apresentou contagens de bactérias e fungos viáveis superiores às verificadas no PC.

4.1.3.8. Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa C

As contagens médias de fungos no ar ambiente da ZC, ZNC e PC, apresentam-se na Tabela 33.

Tabela 33 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa C (ufc/m³)

Agente Biológico	Empresa C			p-value
	ZC	ZNC	PC	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de fungos	(18) 11266,11±11957,03	(13) 126,92±72,04	(13) 467,69±375,48	<0,0001
<i>Aspergillus niger</i>	(12) 26,67±13,03	(3) 10,00±0,00	(6) 13,33±5,16	0,001
<i>Candida</i> spp.	(1) 60,00	(4) 17,50±9,57	(2) 40,00±42,43	0,459
<i>Cladosporium</i> spp.	(10) 415,00±311,96	(10) 59,00±35,10	(13) 370,77±349,80	<0,0001
<i>Penicillium</i> spp.	(17) 11595,29±12188,82	(13) 58,46±50,97	(13) 57,69±37,23	<0,0001
<i>Rhodotorula</i> spp.	(3) 26,67±11,55	(4) 12,50±5,00	(3) 10,00±0,00	0,040
<i>Trichophyton</i> spp.	(2) 30,00±14,14	(2) 10,00±0,00	(4) 35,00±23,80	0,228

Legenda: ZC=Zona Crítica; ZNC= Zona Não Crítica; PC=Ponto de Controlo; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Os valores de concentração média de Fungos Totais, *Aspergillus niger*, *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp. e *Rhodotorula* spp. no ar, entre os locais de análise, assinalaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

O teste de comparações múltiplas de Bonferroni corrigido permitiu confirmar que as empresas não foram homogêneas, entre si. Deste modo, a média de Fungos Totais avaliados na ZC obteve concentrações maiores em relação à ZNC e ao PC ($Z=5,121$; $p\text{-value} < 0,0001$) e ($Z=2,849$; $p\text{-value}=0,013$), respetivamente.

Por sua vez, a média da espécie *Aspergillus niger* no ar, assinalou valores superiores na ZC em relação à ZNC ($Z=2,964$; $p\text{-value}=0,009$) e ao PC ($Z=2,758$; $p\text{-value}=0,017$).

Por último, o restante género *Cladosporium* spp., na ZC, revelou concentrações mais elevadas relativamente à ZNC ($Z=3,429$; $p\text{-value}=0,002$), tal como, o PC comparativamente à ZNC ($Z=-3,011$; $p\text{-value}=0,008$).

Na tabela seguinte, é exposta a avaliação do risco biológico, no que se refere à carga fúngica, na Zona Crítica, na Empresa C.

Tabela 34 – Avaliação do risco biológico (fungos), na Zona Crítica, na Empresa C (ufc/m³)

Agente Biológico	Zona Crítica		p-value
	Triagem de Papel	Triagem de Plástico	
	(n) M±DP	(n) M±DP	
EMPRESA C			
Totais de fungos	(12) 9417,50±12205,17	(6) 14963,33±11565,86	0,422
<i>Aspergillus niger</i>	(7) 31,43±15,74	(5) 20,00±0,00	0,109
<i>Cladosporium</i> spp.	(9) 452,22±306,42	(1) 80,00	0,118
<i>Penicillium</i> spp.	(12) 8960,00±12396,86	(5) 17920,00±10040,26	0,116

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Wilcoxon-Mann-Whitney*.

Na Empresa C, apesar da concentração média de fungos encontrada no ar não se diferenciar de forma significativa entre o tipo de triagem seletiva efetuada ($p\text{-value} > 0,05$), foi na Triagem de Plástico que se encontrou maior concentração bacteriana no ar. Os níveis de

exposição ocupacional a fungos viáveis mais elevados foram verificados na Triagem de Plástico, com contagens médias de 14963,33 ufc/m³.

Os microrganismos fúngicos da Empresa C passam, agora, a ser apresentados de acordo com a sua classificação no grupo 2 (Tabela 35).

Tabela 35 – Média das contagens totais (ufc/m³) de cada fungo identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa C

Pontos de Colheita	Empresa C		
	Fungos	Classificação	(n) M (ufc/m ³)
ZC (Triagem de Papel)	<i>Trichophyton</i> spp.	2	(1) 30,0
PC	<i>Trichophyton equinum</i>	2	(1) 10,0
	<i>Trichophyton</i> spp.	2	(2) 35,0
ZNC	<i>Trichophyton</i> spp.	2	(3) 10,0

Legenda: ZC=Zona Crítica; PC=Ponto de Controle; ZNC=Zona Não Crítica; n=N.º Amostras; M=Média.

Na ZC (Triagem manual de embalagens) não foram isolados microrganismos pertencentes ao grupo 2 da classificação dos agentes biológicos (Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998). A expressão mais significativa foi identificada na amostra de referência (PC), com a concentração média de 35 ufc/m³, quanto ao género *Trichophyton* spp.

Finalmente, identificaram-se as contagens mínimas e máximas, assim como as médias de bactérias e fungos viáveis, na Empresa C.

Tabela 36 – Contagem total de bactérias e fungos viáveis (ufc/m³), por ponto de colheita, na Empresa C

Pontos de colheita	Contagem total de Bactérias (ufc/m ³)			Contagem total de Fungos (ufc/m ³)		
	Mínimo	Máximo	(n) M±DP	Mínimo	Máximo	(n) M±DP
EMPRESA C						
Zona Crítica						
Triagem de Papel	120,0	2620,0	(13) 1045,39±931,99	420,0	28020,0	(12) 9417,50±12205,17
Triagem de Embalagens	540,0	1960,0	(7) 865,71±493,52	20,0	25200,0	(6) 14963,33±11565,86
Zona Não Crítica	30,0	1170,0	(13) 343,85±337,18	50,0	260,0	(13) 126,92±72,04
Ponto de Controle	10,0	610,0	(13) 183,85±180,39	90,0	1180,0	(13) 467,69±375,48

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão.

Nos três pontos de colheita observou-se que as médias das contagens totais de bactérias e de fungos, na ZC, são sempre superiores às contagens médias obtidas na amostra de referência (PC) e serviços administrativos (ZNC) (Tabela 36). A contaminação mais evidente de bactérias viáveis foi identificada na Triagem de Papel (1045,39 ufc/m³). No caso dos fungos, a contaminação mais elevada foi identificada na Triagem de Embalagens (14963,3 ufc/m³). A amostra de referência apresentou uma contagem média de fungos viáveis superior à avaliada na ZNC.

4.1.3.9. Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa D

Quanto à flora fúngica, na Empresa D, analisou-se na zona mais crítica, na menos crítica e no local que foi considerado como local de referência (ponto de controlo). Veja-se a Tabela 37:

Tabela 37 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa D (ufc/m³)

Agente Biológico	Empresa D			p-value
	ZC	ZNC	PC	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de fungos	(21) 20148,57±8116,83	(12) 387,50±152,50	(12) 638,33±489,99	<0,0001
<i>Aspergillus niger</i>	(18) 30,00±26,79	(4) 17,50±15,00	(1) 20,00	0,096
<i>Candida</i> spp.	(0)	(3) 16,67±5,77	(3) 16,67±5,77	1,000
<i>Cladosporium</i> spp.	(6) 130,00±85,56	(12) 219,17±153,35	(12) 482,50±521,05	0,396
<i>Cryptococcus laurentii</i>	(0)	(3) 26,67±5,77	(5) 20,00±14,14	0,433
<i>Penicillium</i> spp.	(21) 20085,71±8127,05	(12) 139,17±111,88	(12) 91,067±92,92	<0,0001
<i>Rhodotorula</i> spp.	(0)	(3) 10,00±0,00	(5) 16,00±13,42	0,439
<i>Trichophyton</i> spp.	(0)	(3) 16,67±11,55	(5) 22,00±13,04	0,522

Legenda: ZC=Zona Crítica; ZNC= Zona Não Crítica; PC=Ponto de Controlo; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

A análise por comparação da concentração média de Fungos Totais, no ar ambiente, entre os pontos de amostragem registou diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Assim, recorrendo ao teste de comparações múltiplas referido na tabela anterior, este veio demonstrar que a ZC revelou níveis de concentração mais preocupantes do que a ZNC ($Z=4,468$; $p\text{-value} < 0,0001$) e do que o PC ($Z=4,142$; $p\text{-value} < 0,0001$).

A comparação da carga fúngica de *Penicillium* spp. no ar, assinalou mais uma vez, variações estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Pelo que, a ZC comparando com a ZNC ($Z=4,280$; $p\text{-value} < 0,0001$), assim como esta com o PC ($Z=4,911$; $p\text{-value} < 0,0001$), apresentou estimativas mais elevadas.

Mais uma vez a flora fúngica, na Empresa D, analisou-se na zona mais crítica, agora comparando a Triagem manual de papel em relação à seleção manual de embalagens plásticas (Tabela 38).

Tabela 38 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa D (ufc/m³)

Agente Biológico	Zona Crítica		p-value
	Triagem de Papel	Triagem de Plástico	
	(n) M±DP	(n) M±DP	
EMPRESA D			
Totais de fungos	(9) 20315,56±8358,24	(12) 20023,33±8303,01	0,661
<i>Aspergillus niger</i>	(8) 30,00±21,38	(10) 30,00±31,62	0,494
<i>Cladosporium</i> spp.	(3) 140,00±120,00	(3) 120,00±60,00	0,820
<i>Penicillium</i> spp.	(9) 20242,22±8370,44	(12) 19968,33±8312,52	0,827

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Wilcoxon-Mann-Whitney*.

A concentração média demonstrou que os fungos encontrados no ar, não se diferenciam de forma estatisticamente significativa com o tipo de triagem seletiva – papel e plástico ($p\text{-value} > 0,05$). No caso das contagens médias de fungos na Empresa D, foi possível verificar,

através da análise da Tabela 38, que as operações de Triagem manual de papel e de embalagens de plástico apresentaram contagens médias homogêneas de fungos.

A Empresa D agora analisada na zona mais crítica, na menos crítica e no local de referência (ponto de controle), quanto aos fungos identificados com classificação grupo 2 dos agentes biológicos, conforme exposto na tabela seguinte:

Tabela 39 – Média das contagens totais (ufc/m³) de cada fungo identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa D

Pontos de Colheita	Empresa D		
	Fungos	Classificação	(n) M (ufc/m ³)
PC	<i>Penicillium marneffe</i>	2	(1) 10,0
	<i>Trichophyton equinum</i>	2	(2) 10,0
	<i>Trichophyton spp.</i>	2	(1) 22,0
ZNC	<i>Trichophyton equinum</i>	2	(1) 10,0
	<i>Trichophyton spp.</i>	2	(3) 16,67

Legenda: PC=Ponto de Controle; ZNC=Zona Não Crítica; n=N.º Amostras; M=Média.

Apesar de na ZC não terem sido isoladas espécies pertencentes ao grupo 2 da classificação dos agentes biológicos (Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998), foram isoladas espécies fúngicas nos outros dois pontos de colheita, verificando-se a existência dos gêneros *Microsporium* e *Trichophyton*.

Já pela tabela apresentada de seguida, são destacadas as concentrações mínimas, máximas e as respetivas médias de bactérias e fungos viáveis

Tabela 40 – Contagem total de bactérias e fungos viáveis (ufc/m³), por ponto de colheita, na Empresa D

Pontos de colheita	Contagem total de Bactérias (ufc/m ³)			Contagem total de Fungos (ufc/m ³)		
	Mínimo	Máximo	(n) M±DP	Mínimo	Máximo	(n) M±DP
EMPRESA D						
Zona Crítica						
Triagem de Papel	340,0	2540,0	(9) 1062,22±684,94	3280,0	25460,0	(9) 20315,56±8358,24
Triagem de Embalagens	220,0	1940,0	(13) 946,15±481,0	140,0	25380,0	(12) 20023,33±8303,01
Zona Não Crítica	150,0	940,0	(12) 400,00±234,44	140,0	700,0	(12) 387,5±152,50
Ponto de Controle	40,0	1230,0	(12) 320,00±328,22	170,0	1540,0	(12) 638,33±489,99

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão.

Através da análise da Tabela 40, pode-se observar que a ZC apresentou contagens médias de bactérias e fungos viáveis superiores aos restantes pontos de colheita (ZNC e PC). De entre os pontos de colheita afetos à ZC foi a Triagem de Papel que apresentou contagens médias de bactérias mais elevadas. A contagem média de bactérias, na ZNC, foi superior ao PC, enquanto a contagem média de fungos, no PC, foi superior à ZNC.

4.1.3.10. Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa E

Foram expostos finalmente, nas Tabelas 41, 42, 43 e 44, os parâmetros identificados anteriormente, agora em relação à Empresa E.

Tabela 41 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa E (ufc/m³)

Agente Biológico	Empresa E			p-value
	ZC	ZNC	PC	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de fungos	(11) 14649,09±9417,98	(12) 1325,83±1442,67	(12) 2944,17±6555,64	<0,0001
<i>Aspergillus niger</i>	(9) 77,78±88,00	(6) 11,67±4,08	(1) 10,00	0,005
<i>Candida</i> spp.	(1) 300,00	(4) 215,00±265,52	(2) 55,00±49,50	0,392
<i>Cladosporium</i> spp.	(3) 773,33±1069,08	(12) 182,50±132,19	(10) 765,00±1045,88	0,059
<i>Cryptococcus laurentii</i>	(0)	(2) 25,00±21,21	(3) 66,67±40,41	0,236
<i>Penicillium</i> spp.	(11) 14023,64±10021,64	(12) 659,17±1373,83	(12) 100,00±73,36	<0,0001
<i>Rhodotorula</i> spp.	(1) 2440,00	(7) 512,86±1009,35	(6) 776,67±969,41	0,384
<i>Trichophyton</i> spp.	(1) 40,00	(1) 10,00	(3) 26,67±20,82	0,496
<i>Ulocladium</i> spp.	(1) 1020,00	(3) 33,33±32,15	(3) 20,00±17,32	0,250

Legenda: ZC=Zona Crítica; ZNC= Zona Não Crítica; PC=Ponto de Controlo; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Segundo os resultados anteriores, pode-se comparar a concentração média de Fungos Totais e de *Penicillium* spp. no ar. Esta demonstrou estar significativamente ampliada ($p < 0,05$) em relação aos pontos de amostragem analisados. Quando se procedeu à avaliação do risco fúngico na ZC em comparação com a ZNC ($Z=3,334$; $p\text{-value}=0,003$) e com o PC ($Z=3,548$; $p\text{-value}=0,001$), constataram-se estimativas elevadas de Fungos Totais.

Um perfil semelhante foi apresentado na ZC novamente em relação à ZNC ($Z=3,017$; $p\text{-value}=0,008$), e ao PC ($Z=4,616$; $p\text{-value}<0,0001$), uma vez que se obteve estimativas mais elevadas de *Penicillium* spp., no ar ambiente.

Tabela 42 – Avaliação do risco biológico (fungos), na Zona Crítica, na Empresa E (ufc/m³)

Agente Biológico	Zona Crítica
	EMPRESA E
	Triagem de Vidro (n) M±DP
Totais de fungos	(11) 14649,09±9417,98
<i>Aspergillus niger</i>	(9) 77,78±88,00
<i>Cladosporium</i> spp.	(3) 773,33±1069,08
<i>Penicillium</i> spp.	(11) 14023,64±10021,64

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão.

Através das contagens médias de fungos na Empresa E, foi possível verificar, mediante a análise da Tabela 42 que foi o género *Penicillium* spp., conjuntamente com os totais de fungos que, apresentaram contagens médias mais significativas de fungos viáveis, na ZC da empresa, que efetuaram Triagem manual de vidro.

Tabela 43 – Média das contagens totais (ufc/m³) de cada fungo identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa E

Pontos de Colheita	Empresa E		
	Fungos	Classificação	(n) M (ufc/m ³)
ZC (Triagem de Vidro)	<i>Trichophyton</i> spp.	2	(1) 40,0
	<i>Trichophyton equinum</i>	2	(2) 23,3
PC	<i>Trichophyton</i> spp.	2	(3) 26,67
	<i>Microsporium equinum</i>	2	(1) 25,0
	<i>Microsporium</i> spp.	2	(1) 10,0
ZNC	<i>Trichophyton</i> spp.	2	(1) 10,0

Legenda: ZC=Zona Crítica; PC=Ponto de Controle; ZNC=Zona Não Crítica; n=N.º Amostras; M=Média.

A contagem média de espécies bacterianas identificadas, no ar ambiente, da cabine de Triagem de Vidro (ZC) foi superior em comparação com a verificada nos restantes pontos de colheita, em relação ao género *Trichophyton*.

Tabela 44 – Contagem de bactérias e fungos viáveis (ufc/m³), por ponto de colheita, na Empresa E

Pontos de colheita	Contagem total de Bactérias (ufc/m ³)			Contagem total de Fungos (ufc/m ³)		
	Mínimo	Máximo	(n) M±DP	Mínimo	Máximo	(n) M±DP
EMPRESA E						
Zona Crítica						
Triagem de Vidro	1440,0	8300,0	(7) 5157,14±2380,01	560,0	25320,0	(11) 14649,09±9417,98
Zona Não Crítica						
	390,0	1860,0	(11) 949,09±455,00	90,0	4950,0	(12) 1325,83±1442,67
Ponto de Controle						
	90,0	1030,0	(12) 414,17±349,61	60,0	23330,0	(12) 2944,17±6555,64

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão.

Nos três pontos de colheita registou-se que as médias das contagens totais de bactérias e de fungos viáveis, na ZC, foram sempre superiores às contagens médias obtidas no PC e ZNC (Tabela 44). Os valores obtidos na zona crítica (Triagem manual de vidro) apresentaram contagens totais de bactérias entre 1440,0 ufc/m³ e 8300,0 ufc/m³, variando as contagens totais de fungos entre 560,0 ufc/m³ e 25320,0 ufc/m³. A microflora ambiental referente a microrganismos viáveis foi maioritariamente constituída por fungos.

4.1.4. Sinopse da Avaliação Ambiental

Os resultados alcançados na avaliação ambiental das empresas em estudo tiveram como objetivo avaliar as condições ambientais dos locais de trabalho e área envolvente das indústrias de triagem de resíduos, bem como, comparar os resultados obtidos.

Desta forma, foi avaliado a contaminação ambiental por agentes biológicos (bactérias e fungos viáveis) na ZC, ZNC e PC, onde se conclui que a ZC apresentou contagens médias superiores, em comparação à ZNC e ao PC. Avaliando por empresa, e conseqüentemente por triagem, constatou-se que a Empresa D foi a que obteve valores mais desfavoráveis em relação às outras três empresas dedicadas à triagem de papel e plástico. Enquanto a Empresa E, única dedicada à triagem de vidro revelou, por sua vez, ser a triagem mais crítica, quando comparada com as restantes empresas. Assim, na tabela seguinte encontram-se destacadas as contagens médias superiores de bactérias e fungos viáveis, representativas de cada zona, em cada empresa estudada.

Tabela 45 – Contagem de bactérias e fungos viáveis (ufc/m³), por ponto de colheita, em cada empresa.

Empresa	Pontos de Colheita	Bactérias (ufc/m ³)	Fungos (ufc/m ³)
		(n) M±DP	(n) M±DP
A	Zona Crítica (Triagem papel)	(2) 510,00 ± 240,41	(2) 4240,00 ± 1951,61
	Zona Crítica (Triagem embalagens)	(11) 823,64 ± 390,57	(11) 19172,73 ± 7814,92
	Zona Não Crítica	(13) 247,69 ± 147,54	(13) 411,67 ± 510,99
	Ponto de Controlo	(12) 114,17 ± 87,43	(13) 777,69 ± 1111,14
B	Zona Crítica (Triagem papel)	(6) 451,67 ± 245,96	(6) 18808,33 ± 8073,31
	Zona Crítica (Triagem embalagens)	(11) 465,46 ± 228,75	(11) 17623,64 ± 10068,91
	Zona Não Crítica	(13) 114,62 ± 59,67	(13) 388,46 ± 494,45
	Ponto de Controlo	(8) 55,00 ± 30,70	(13) 376,15 ± 331,10
C	Zona Crítica (Triagem papel)	(13) 1045,39 ± 931,99	(12) 9417,50 ± 12205,17
	Zona Crítica (Triagem embalagens)	(7) 865,71 ± 493,52	(6) 14963,33 ± 11565,86
	Zona Não Crítica	(13) 343,85 ± 337,18	(13) 126,92 ± 72,04
	Ponto de Controlo	(13) 183,85 ± 180,39	(13) 467,69 ± 375,48
D	Zona Crítica (Triagem papel)	(9) 1062,22 ± 684,94	(9) 20315,56 ± 8358,24
	Zona Crítica (Triagem embalagens)	(13) 946,15 ± 481,00	(12) 20023,33 ± 8303,01
	Zona Não Crítica	(12) 400,00 ± 234,44	(12) 387,50 ± 152,50
	Ponto de Controlo	(12) 320,00 ± 328,22	(12) 638,33 ± 489,99
E	Zona Crítica (Triagem vidro)	(7) 5157,14 ± 2380,01	(11) 14649,09 ± 9417,98
	Zona Não Crítica	(11) 949,09 ± 455,00	(12) 1325,83 ± 1442,67
	Ponto de Controlo	(12) 414,17 ± 349,61	(12) 2944,17 ± 6555,64

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão.

4.2. Avaliação de Superfícies e Manipuladores

As recolhas de amostras de indicadores de higiene (superfícies e manipuladores) foram efetuadas em todas as empresas, resultaram num total de 338 colheitas. Destas colheitas podemos destacar os seguintes locais monitorizados: interior de máscaras (n=34 amostras); cacifos (n=63 amostras); maçanetas dos balneários (n=60 amostras); maçanetas dos Serviços Administrativos (n=58 amostras); torneiras das Instalações Sanitárias/Balneários (n=62 amostras), bem como, nas mãos dos manipuladores (n=61 amostras) que se encontravam a trabalhar no momento das recolhas das amostras ambientais.

4.2.1. Contaminação microbiológica e fúngica obtida em amostras de indicadores de higiene e em amostras de ar ambiente na ZC tendo em conta os pontos de colheita

Primeiramente, iremos analisar estatisticamente a contagem de bactérias e fungos viáveis tendo em conta os pontos analisadas (ZC; manipuladores; cacifos; interior de máscaras; maçanetas dos balneários; maçanetas dos Serviços Administrativos (SA) e torneiras das Instalações Sanitárias (IS)/balneários).

Os níveis de exposição a bactérias e fungos viáveis nos diferentes pontos de colheita encontram-se descritos nas Tabelas 46 e 47.

Tabela 46 – Contagem de bactérias viáveis tendo em conta os pontos analisados (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)

Agente Biológico	Pontos de colheita							p-value
	ZC (n) M±DP	Manipulador (n) M±DP	Cacifo (n) M±DP	Interior Máscara (n) M±DP	Maçaneta Balneários (n) M±DP	Maçaneta SA (n) M±DP	Torneira IS (n) M±DP	
Totais Bactérias	(57) 2601,23±3114,55	(56) 20503,57±20393,94	(38) 4939,47±7266,12	(28) 11817,86±14827,38	(35) 3560,00±157007,64	(18) 4527,78±8846,11	(47) 13480,85±18302,99	<0,0001
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	(4) 750,00±782,22	(1) 630,00	(0)	(0)	(0)	(0)	(2) 10800,00±14707,82	0,570
<i>Acinetobacter baumannii</i>	(1) 20,00	(2) 6100,00±8343,86	(2) 1200,00±565,69	(1) 200,00	(1) 200,00	(0)	(3) 1900,00±1322,88	0,388
<i>Bacillus</i> spp.	(54) 439,07±475,38	(12) 433,33±280,69	(19) 436,84±624,68	(7) 171,43±111,27	(14) 2446,43±7937,41	(6) 483,33±655,49	(17) 323,53±490,25	0,358
<i>Bacillus cereus</i>	(43) 168,14±153,91	(8) 3913,75±10541,22	(7) 10514,29±13543,32	(4) 150,00±57,74	(4) 7637,50±14908,46	(3) 10133,33±17205,33	(3) 233,33±230,94	0,016
<i>Bacillus circulans</i>	(4) 30,00±11,55	(0)	(0)	(0)	(0)	(1) 100	(0)	0,136
<i>Bacillus subtilis</i>	(12) 130,83±156,17	(1) 250,00	(1) 200,00	(0)	(0)	(0)	(1) 100,00	0,663
<i>Bacillus megaterium</i>	(10) 146,00±177,90	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1) 100,00	0,626
<i>Cellulomonas</i> spp./ <i>Microbacterium</i> spp.	(7) 68,57±45,98	(0)	(2) 250,00±70,71	(1) 100	(0)	(0)	(3) 1933,33±2482,72	0,025
<i>Corynebacterium</i> spp.	(8) 146,25±153,52	(1) 100,00	(0)	(1) 200	(0)	(0)	(0)	0,779
<i>Enterobacter</i> spp.	(3) 120,00±140,00	(2) 425,00±247,49	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	0,248
<i>Enterobacter aerogenes</i>	(4) 122,50±94,65	(1) 130,00	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	1,000
<i>Enterobacter cloacae</i>	(5) 364,25±680,21	(2) 7750,00±10253,05	(0)	(0)	(0)	(0)	(2) 350,0±212,13	0,171
<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumoniae</i>	(5) 104,00±120,33	(1) 100,00	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	0,766
<i>Klebsiella oxytoca</i>	(5) 92,00±65,73	(2) 100,00±0,00	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	0,417
<i>Micrococcus</i> spp.	(32) 353,75±686,47	(5) 2500,00±4432,83	(1) 5000,00	(2) 1575,00±2085,97	(1) 300,00	(5) 1100,00±744,98	(0)	0,015
<i>Pantoea agglomerans</i>	(6) 121,67±63,37	(2) 1250,00±1202,08	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	0,044
<i>Serratia</i> spp.	(4) 320,00±192,53	(2) 425,00±247,49	(0)	(1) 200	(0)	(0)	(2) 15150,00±21001,070	0,481
<i>Serratia marcescens</i>	(3) 1386,67±2246,09	(1) 100,00	(0)	(1) 700	(0)	(0)	(0)	0,670
<i>Staphylococcus</i> <i>coagulase negativa</i>	(55) 941,81±1098,49	(51) 18323,24±19410,21	(28) 5217,86±13654,44	(27) 10555,56±13464,32	(24) 1831,25±2390,46	(12) 3700,00±7368,32	(44) 9531,80±13803,83	<0,0001
<i>Staphylococcus</i> <i>coagulase positiva</i>	(1) 100	(7) 10467,86±17761,07	(2) 1050,00±212,13	(3) 4700,00±6323,76	(1) 100,00	(1) 1300,00	(2) 2500,00±3111,27	0,466
<i>Stenotrophomonas</i> <i>maltophilia</i>	(4) 82,50±69,46	(1) 10875,00	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	0,157

Legenda: ZC=Zona Crítica; SA=Serviços Administrativos; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Pelos resultados descritos constatou-se que, em média, no que diz respeito aos valores estimados de Bactérias Totais no ar, registaram-se diferenças estatisticamente significativas, entre os diferentes pontos de colheita, anteriormente apresentados ($p < 0,05$).

Segundo o teste de comparações múltiplas de Bonferroni corrigido, os manipuladores apresentaram valores superiores de bactérias (concentrações) comparativamente com os cacifos ($Z = -4,989$; $p\text{-value} < 0,0001$), como também comparativamente com as maçanetas dos balneários ($Z = -5,928$; $p\text{-value} < 0,0001$), as maçanetas dos SA ($Z = -4,618$; $p\text{-value} < 0,0001$) e as torneiras das IS ($Z = -2,910$; $p\text{-value} = 0,004$). Também as maçanetas dos balneários, por sua vez, apresentaram valores superiores de número de bactérias comparativamente com o interior de máscaras ($Z = -4,020$; $p\text{-value} < 0,0001$), tal como, com as torneiras das IS ($Z = -3,489$; $p\text{-value} < 0,0001$). Por fim, o interior de máscaras demonstrou valores superiores de totais de bactérias quanto à ZC ($Z = -4,367$; $p\text{-value} < 0,0001$) e os cacifos quanto às torneiras das IS ($Z = -1,941$; $p\text{-value} = 0,052$).

Em relação à variação média de concentração de bactérias da espécie *Staphylococcus coagulase negativa*, entre os pontos de avaliação, podemos constatar diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). O interior de máscaras demonstrou valores mais elevados em relação às maçanetas dos balneários ($Z = -3,607$; $p\text{-value} < 0,0001$), assim como à ZC ($Z = -5,467$; $p\text{-value} < 0,0001$). Os manipuladores ostentaram valores mais elevados relativamente às maçanetas dos SA ($Z = -3,676$; $p\text{-value} < 0,0001$); às maçanetas dos balneários ($Z = -5,334$; $p\text{-value} < 0,0001$) e à ZC ($Z = -7,785$; $p\text{-value} < 0,0001$). Também no que diz respeito às torneiras das IS estas revelaram valores superiores comparativamente com a ZC ($Z = -4,525$; $p\text{-value} < 0,0001$).

As espécies *Cellulomonas spp./Microbacterium spp.*, *Micrococcus spp.* e *Pantoea agglomerans* apresentaram diferenças significativas entre os diferentes pontos de amostragem ($p < 0,05$), observando-se diferenças consideráveis entre elas, nos pontos onde as espécies foram quantificadas.

Por último, as restantes espécies revelaram uma concentração média relativamente semelhante entre os diferentes pontos de medição avaliados ($p\text{-value} > 0,05$).

O gráfico seguinte irá apresentar o diagrama de extremos e quartis das contagens totais de bactérias em amostras de indicadores de higiene (superfícies e manipuladores) e ar ambiente.

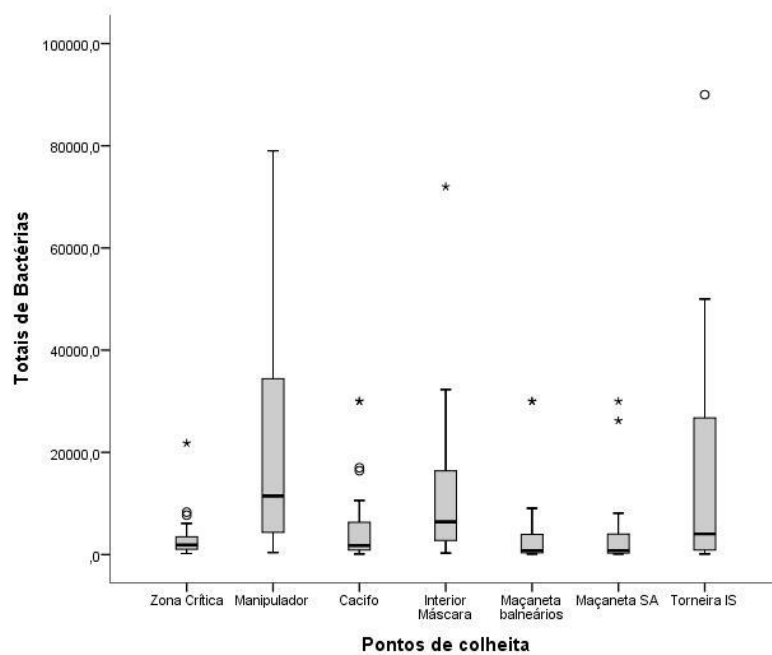


Gráfico 9 – Diagrama de extremos e quartis das contagens totais de bactérias (ar - ufc/m³; manipulador e superfície – ufc/dm²) em amostras de indicadores de higiene e ar ambiente

Observando o Diagrama de extremos e quartis é possível verificar a existência de dispersões mais acentuadas nos manipuladores, no interior de máscaras e nas torneiras das instalações sanitárias/balneários, apresentando os restantes pontos de colheita uma dispersão menor.

Tabela 47 – Contagem de fungos viáveis tendo em conta os pontos analisados (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)

Agente Biológico	Pontos de colheita							p-value
	ZC (n) M±DP	Manipulador (n) M±DP	Cacifo (n) M±DP	Interior Máscara (n) M±DP	Balneários (n) M±DP	Maçaneta SA (n) M±DP	Torneira IS (n) M±DP	
Totais Fungos	(61) 22532,95±16505,40	(35) 2782,43±10098,98	(36) 5104,17±9403,44	(28) 1392,86±1894,62	(30) 5198,33±8454,92	(17) 9282,35±14362,59	(41) 4969,27±15829,40	<0,0001
<i>Aspergillus flavus</i>	(3) 160,00±225,39	(0)	(0)	(0)	(0)	(1) 100,00	(1) 100,00	0,839
<i>Aspergillus niger</i>	(54) 53,70±50,33	(5) 160,00±134,16	(1) 200,00	(2) 100,00±0,00	(1) 300,00	(1) 100,00	(6) 233,33±326,60	<0,0001
<i>Candida</i> spp.	(9) 75,56±88,76	(8) 871,88±1300,51	(3) 333,33±404,15	(3) 866,67±1242,31	(2) 400,00±0,00	(3) 150,00±86,60	(8) 6475,00±15264,88	0,007
<i>Candida famata</i>	(5) 80,00±37,42	(8) 6753,75±16690,12	(6) 1833,33±1866,19	(5) 2360,00±2850,08	(7) 1135,71±1724,02	(2) 300,00±282,84	(12) 687,50±1113,99	0,016
<i>Candida guilliermondii</i>	(09)	(3) 1466,67±1504,44	(0)	(0)	(0)	(0)	(1) 300,00	0,180
<i>Cladosporium</i> spp.	(38) 703,42±1180,11	(9) 296,67±277,22	(23) 5163,04±9586,21	(6) 516,67±426,22	(16) 6556,25±7429,40	(5) 100,00±0,00	(13) 136,15±57,67	<0,0001
<i>Cryptococcus laurentii</i>	(6) 33,33±10,33	(1) 100,00	(0)	(0)	(1) 500,00	(1) 3000,00	(0)	0,101
<i>Penicillium</i> spp.	(61) 21500,64±16609,28	(28) 661,96±1399,07	(25) 908,00±1624,79	(21) 804,76±636,77	(9) 322,22±319,29	(6) 366,67±388,16	(33) 673,33±715,61	<0,0001
<i>Rhodotorula</i> spp.	(11) 250,91±726,33	(3) 266,67±288,68	(3) 100,00±0,00	(0)	(8) 4387,50±10413,51	(7) 20757,14±14132,57	(10) 750,00±1708,96	<0,0001
<i>Saccharomyces</i> spp.	(3) 33,33±11,55	(2) 100,00±0,00	(09)	(1) 1100,00	(1) 400,00	(0)	(2) 1850,00±494,97	0,102
<i>Trichophyton</i> spp.	(3) 40,00±20,00	(0)	(1) 100,00	(0)	(0)	(0)	(0)	0,180

Legenda: ZC=Zona Crítica; SA=Serviços Administrativos; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Relativamente à carga fúngica, a variação média de concentração, entre os pontos de avaliação, veio a demonstrar diferenças estatisticamente significativas, entre si ($p < 0,05$). A ZC obteve estimativas superiores de carga fúngica face aos manipuladores ($Z = -6,820$; $p\text{-value} < 0,0001$); aos cacifos ($Z = -5,647$; $p\text{-value} < 0,0001$); ao interior de máscaras ($Z = -6,532$; $p\text{-value} < 0,0001$); às maçanetas dos balneários ($Z = -5,508$; $p\text{-value} < 0,0001$); às torneiras das SA ($Z = -3,482$; $p\text{-value} < 0,0001$) e às torneiras das IS/Balneários ($Z = -6,558$; $p\text{-value} < 0,0001$).

No que diz respeito à variação média de concentração de fungos da espécie *Aspergillus niger* esta demonstrou estar significativamente aumentada quando avaliamos os manipuladores comparativamente à ZC ($Z = -3,133$; $p\text{-value} = 0,002$) e perfil semelhante entre a avaliação das torneiras das IS face à ZC ($Z = -3,369$; $p\text{-value} = 0,001$).

A variação média de concentração de fungos do género *Candida* spp. entre, os pontos de avaliação, registou diferenças significativas ($p < 0,05$). As torneiras das IS em relação à ZC ($Z = -3,147$; $p\text{-value} = 0,002$) obtiveram estimativas mais elevadas.

A variação média de concentração de fungos da espécie *Candida famata*, entre os pontos de avaliação, registou diferenças também estatisticamente significativas ($p < 0,05$). As maçanetas dos balneários ($Z = -2,852$; $p\text{-value} = 0,004$) e o interior de máscaras ($Z = -2,619$; $p\text{-value} = 0,009$) obtiveram valores mais elevados que a ZC.

Em relação à variação média de concentração fúngica do género *Cladosporium* spp., entre os pontos analisados, registaram-se diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Os cacifos em relação às maçanetas dos SA ($Z = -3,317$; $p\text{-value} = 0,001$) e em relação às torneiras das IS ($Z = -4,400$; $p\text{-value} < 0,0001$) e aos manipuladores ($Z = -3,263$; $p\text{-value} = 0,001$) demonstraram valores superiores. As maçanetas dos balneários relativamente às torneiras das IS ($Z = -3,436$; $p\text{-value} = 0,001$) possuíram concentrações mais altas.

No que diz respeito à variação média de concentração de fungos do género *Penicillium* spp. entre os pontos de avaliação registaram-se diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). A ZC em relação aos manipuladores ($Z = -6,407$; $p\text{-value} < 0,0001$); aos cacifos ($Z = -5,905$; $p\text{-value} < 0,0001$); ao interior de máscaras ($Z = -5,545$; $p\text{-value} < 0,0001$); às maçanetas dos balneários ($Z = -4,189$; $p\text{-value} < 0,0001$); às maçanetas dos SA ($Z = -3,474$; $p\text{-value} = 0,001$) e às torneiras das IS/Balneários ($Z = -6,580$; $p\text{-value} < 0,0001$) ostentaram estimativas mais elevadas.

Por fim, variação média de concentração de fungos do género *Rhodotorula* spp. entre os pontos de avaliação registaram-se diferenças significativas ($p < 0,05$). As maçanetas dos balneários ($Z = -3,233$; $p\text{-value} = 0,001$) e as maçanetas dos SA alardearam valores mais elevados comparativamente à ZC ($Z = -3,499$; $p\text{-value} < 0,0001$).

O gráfico a seguir irá apresentar o diagrama de extremos e quartis das contagens totais de fungos em amostras de indicadores de higiene (superfícies e manipuladores) e ar ambiente.

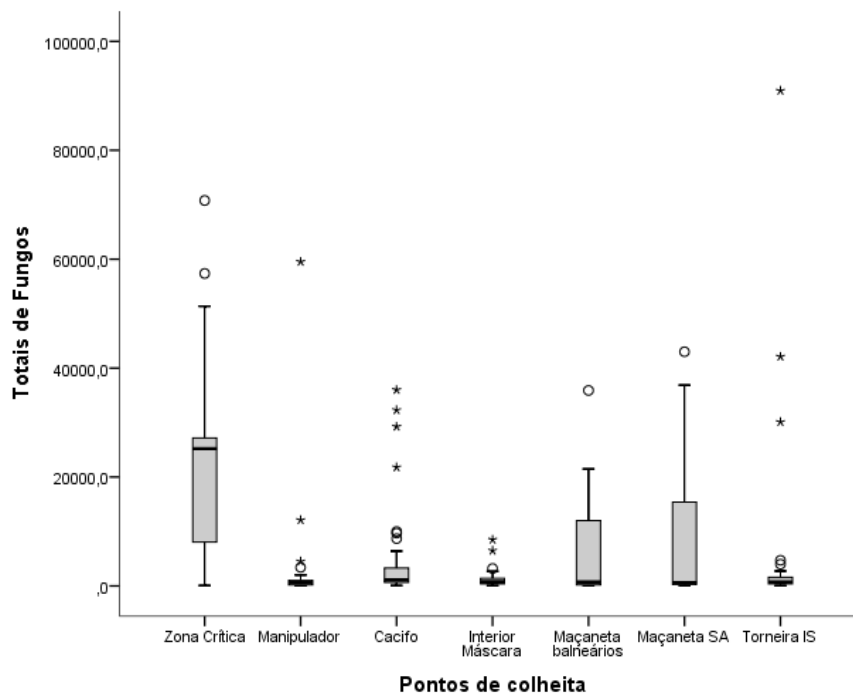


Gráfico 10 – Diagrama de extremos e quartis das contagens totais de fungos (ar - ufc/m³; manipulador e superfície – ufc/dm²) em amostras de indicadores de higiene e ar ambiente

Analisando o Gráfico 10 foi possível verificar a existência de elevadas concentrações nos manipuladores e nas superfícies, verificando-se igualmente uma pronunciada presença de valores de Fungos Totais muito extremos na sua dispersão face ao padrão da distribuição.

De seguida apresentar-se-á as contagens totais de bactérias e fungos viáveis em amostras de indicadores de higiene (superfícies e manipuladores) e ar ambiente na Zona Crítica.

Tabela 48 – Contagens totais de bactérias e fungos viáveis (ar - ufc/m³; manipulador e superfície – ufc/dm²), obtidas em amostras de indicadores de higiene e em amostras de ar ambiente, na ZC

Pontos de colheita	Contagem total de Bactérias			Contagem total de Fungos		
	Mínimo	Máximo	(n) M±DP	Mínimo	Máximo	(n) M±DP
ZC	200,0	21800,0	(57) 2601,23±3114,55	80,0	70780,0	(61) 22532,95±16505,40
Manipulador	380,0	79000,0	(56) 20503,57±20393,94	100,0	59520,0	(35) 2782,43±10098,98
Cacifo	100,0	30000,0	(38) 4939,47±7266,12	100,0	36000,0	(36) 5104,17±9403,44
Interior Máscara	300,0	72000,0	(28) 11817,86±14827,38	100,0	8500,0	(28) 1392,86±1894,62
Maçaneta Balneários	100,0	30000,0	(35) 3560,00±157007,64	100,0	35900,0	(30) 5198,33±8454,92
Maçaneta SA	100,0	30000,0	(18) 4527,78±8846,11	100,0	43000,0	(17) 9282,35±14362,59
Torneira IS/Balneários	100,0	90000,0	(47) 13480,85±18302,99	100,0	90940,0	(41) 4969,27±15829,40

Legenda: ZC=Zona Crítica; SA=Serviços Administrativos; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão.

Através dos resultados obtidos no ar da ZC, nos manipuladores e nas cinco superfícies de colheita, pode-se observar na tabela anterior que a média das contagens totais de bactérias nos manipuladores foi oito vezes superior às contagens médias obtidas na ZC. A concentração média de fungos viáveis na ZC foi por sua vez superior (22532,95 ufc/m³) às contagens de bactérias (Tabela 48). Os valores obtidos nos manipuladores apresentaram contagens totais de bactérias entre 380,0 ufc/dm² e 7900,0 ufc/m². E por seu turno os valores obtidos na ZC apresentaram contagens totais de fungos entre 80,0 ufc/m³ e 70780,0 ufc/m³. A microflora ambiental referente a microrganismos viáveis foi na sua maioria constituída por fungos.

4.2.2. Contagem de bactérias e fungos viáveis nas diferentes empresas

Nas seguintes tabelas (Tabelas 49 e 50) apresentam-se as médias das contagens totais de bactérias e fungos, por empresa, onde foi possível avaliar comparativamente a carga microbiana no ar ambiente (ZC), nas superfícies e nos manipuladores, em todas as empresas.

Tabela 49 – Contagem de bactérias viáveis nas diferentes empresas (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)

Agente Biológico	Empresas					p-value
	A	B	C	D	E	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais Bactérias	(54) 4396,48±8199,86	(48) 6086,15±9425,24	(64) 13368,52±19178,59	(68) 13582,79±18348,44	(45) 7689,11±10557,00	0,015
<i>Acinetobacter baumannii</i>	(3) 606,67±864,95	(2) 300,00±141,42	(0)	(4) 4375,00±5216,88	(1) 800,00	0,328
<i>Aerococcus viridans</i>	(0)	(1) 500,00	(0)	(3) 326,67±411,02	(4) 1275,00±1698,28	0,578
<i>Bacillus</i> spp.	(33) 1277,27±5188,03	(17) 242,94±212,95	(24) 402,08±446,86	(32) 447,50±467,52	(23) 470,00±468,55	0,241
<i>Bacillus cereus</i>	(17) 464,71±1456,25	(12) 2579,17±8635,70	(14) 6647,86±12656,12	(18) 474,44±1381,52	(11) 3084,55±8930,85	<0,0001
<i>Bacillus subtilis</i>	(3) 40,00±20,00	(3) 166,67±151,44	(6) 128,33±124,97	(2) 240,00±311,13	(1) 250,00	0,580
<i>Bacillus megaterium</i>	(1) 20,00	(2) 60,00±28,28	(4) 125,00±161,14	(4) 230,00±221,81	0	0,545
<i>Cellulomonas</i> spp./ <i>Microbacterium</i> spp.	(1) 500,00	(5) 64,00±43,36	(2) 110,00±42,43	(2) 2420,00±3365,83	(3) 333,33±152,75	0,162
<i>Corynebacterium</i> spp.	(0)	(2) 120,00±113,14	(3) 133,33±98,66	(4) 182,50±206,94	(1) 100,00	0,996
<i>Enterobacter cloacae</i>	(0)	(2) 270,00±325,27	(4) 3940,00±7375,62	(2) 70,00±42,43	(1) 1580,00	0,350
<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumoniae</i>	(1) 20,00	(0)	(1) 40,00	(3) 86,67±61,10	(1) 300,00	0,378
<i>Klebsiella oxytoca</i>	(3) 113,33±80,83	(1) 40,00	(0)	(3) 93,33±11,55	(0)	0,422
<i>Micrococcus</i> spp.	(7) 238,57±259,51	(8) 232,50±433,98	(12) 1446,67±2894,35	(13) 730,77±1338,80	(11) 2287,27±4392,59	0,040
<i>Serratia</i> spp.	(2) 310,00±325,27	(2) 425,00±247,49	(0)	(5) 6232,00±13286,87	(0)	0,835
<i>Serratia marcescens</i>	(1) 60,00	(0)	(0)	(3) 306,67±340,78	(1) 3980,00	0,202
<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	(43) 3457,67±8070,25	(44) 5565,46±9169,88	(55) 12214,09±19121,55	(62) 9409,82±14056,38	(37) 7470,00±13917,27	0,032
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	(5) 4080,00±6415,76	(1) 200,00	(4) 1643,75±2071,07	(7) 9828,57±17721,71	(0)	0,375

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Face aos resultados obtidos na tabela acima, constatou-se que a comparação da concentração média de Bactérias Totais no ar, entre as empresas avaliadas registaram diferenças significativas ($p < 0,05$). Com recurso ao teste de comparações múltiplas de Bonferroni corrigido, a Empresa D revelou níveis de concentração de Bactérias Totais mais preocupantes comparativamente à Empresa A ($Z = -3,265$; $p\text{-value} = 0,011$).

Observaram-se também disparidades significativas quando analisada a presença de bactérias da espécie *Bacillus cereus*, entre as cinco empresas avaliadas ($p < 0,05$). Afirma-se ainda que, a Empresa C e a Empresa E ostentaram exposições mais elevadas comparando com a Empresa B ($Z = -3,583$; $p\text{-value} = 0,003$) e ($Z = -3,196$; $p\text{-value} < 0,014$), respetivamente. A Empresa C também apresentou valores superiores comparativamente à Empresa A e a E relativamente à A ($Z = -3,591$; $p\text{-value} = 0,003$) e ($Z = -3,155$; $p\text{-value} < 0,016$), respetivamente. Já no que se refere às exposições médias do género *Micrococcus* spp., entre as empresas consideradas, conseguiu-se comprovar diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), uma vez que a Empresa E obteve valores bastante superiores em relação à Empresa B ($Z = -2,828$; $p\text{-value} = 0,047$). E por último, a referida tabela permitiu analisar a variação de exposições médias da espécie *Staphylococcus* coagulase negativa, entre cada uma das empresas, registando-se estimativas estatisticamente significativas ($p < 0,05$), em que a Empresa D apresentou valores superiores em comparação à Empresa A ($Z = -3,037$; $p\text{-value} = 0,024$).

Tabela 50 – Contagem de fungos viáveis nas diferentes empresas (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)

Agente Biológico	Empresas					p-value
	A	B	C	D	E	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(N) M±DP	
Totais Fungos	(46) 5389,78±8762,52	(54) 10394,44±16609,69	(58) 6603,71±9869,40	(58) 13521,55±21017,38	(32) 7363,75±9963,24	0,333
<i>Aspergillus flavus</i>	(0)	(3) 80,00±34,64	(1) 420,00	(1) 20,00	(0)	0,186
<i>Aspergillus niger</i>	(15) 74,67±81,58	(12) 55,00±36,31	(15) 109,33±220,89	(16) 73,75±49,38	(12) 108,33±118,92	0,767
<i>Candida</i> spp.	(8) 250,00±213,81	(8) 451,25±769,55	(8) 194,38±146,37	(8) 6917,50±15118,56	(4) 450,00±310,91	0,442
<i>Candidata famata</i>	(8) 487,50±615,14	(14) 3633,57±12771,47	(6) 193,33±133,67	(11) 2309,09±2146,84	(6) 2116,67±1869,14	0,002
<i>Cladosporium</i> spp.	(6) 666,67±361,48	(21) 238,10±175,03	(37) 4024,60±7401,56	(33) 2660,30±6558,00	(13) 978,46±1478,57	0,017
<i>Cryptococcus albidus</i>	(0)	(3) 380,00±457,38	(1) 100,00	(0)	(0)	0,655
<i>Cryptococcus laurentii</i>	(1) 100,00	(6) 603,33±1189,11	(2) 40,00±0,00	(0)	(0)	0,710
<i>Penicillium</i> spp.	(37) 6238,11±9545,91	(35) 9537,14±16082,55	(41) 5477,17±9786,84	(43) 10340,93±19157,25	(27) 6042,96±9196,99	0,943
<i>Rhodotorula</i> spp.	(3) 100,00±0,00	(15) 9950,67±13993,48	(10) 214,00±259,24	(8) 815,00±1936,74	(6) 5590,00±11991,12	0,215
<i>Saccharomyces</i> spp.	(0)	(1) 20,00	(1) 80,00	(1) 30000,00	(0)	0,150

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Analisando a tabela acima, na comparação da concentração média de *Candida famata* e de *Cladosporium* spp. no ar, entre as diversas empresas, comprovaram-se diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Quanto à primeira espécie, a Empresa D apresentou valores superiores em comparação à Empresa B ($Z = -3,175$; $p\text{-value} = 0,015$) e quanto à segunda espécie, a Empresa C apresentou valores superiores em comparação à Empresa B ($Z = -3,217$; $p\text{-value} = 0,013$).

4.2.2.1. Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa A

As contagens médias de bactérias no ar ambiente da ZC, mãos dos operadores e das superfícies, apresentam-se na Tabela 51. Já na Tabela 52 encontram-se especificadas as espécies de bactérias identificadas com classificação grupo 2, na Empresa A.

Tabela 51 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa A (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)

Agente Biológico	Empresa A							p-value
	ZC	Manipulador	Cacifo	Interior Máscara	Maçaneta Balneários	Maçaneta SA	Torneira IS	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de bactérias	(11) 823,64±390,57	(11) 10331,82±14384,94	(10) 2800,00±2910,52	(2) 3700,00±141,42	(9) 6300,00±9307,76	(3) 1833,33±1985,78	(8) 2137,50±3118,12	0,007
<i>Bacillus</i> spp.	(9) 155,56±183,24	(4) 400,00±182,57	(7) 614,29±975,41	(1) 100,00	(5) 6390,00±13209,01	(2) 250,00±212,13	(5) 460,00±750,33	0,181
<i>Bacillus cereus</i>	(7) 45,71±22,25	(4) 245,00±167,63	(2) 3100,00±4242,64	(1) 100,00	(1) 100,00	(0)	(2) 100,00±0,00	0,021
<i>Micrococcus</i> spp.	(5) 164,00±154,53	(1) 750,00	(0)	(0)	(1) 100,00	(0)	(0)	0,314
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	(11) 365,46±309,46	(9) 10090,00±15957,28	(7) 2085,71±2374,47	(2) 2350,00±1767,77	(6) 3341,67±3146,49	(1) 1800,00	(7) 1814,29±3475,83	0,004

Legenda: ZC=Zona Crítica; SA=Serviços Administrativos; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: Wilcoxon-Mann-Whitney; Kruskal-Wallis; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Tabela 52 – Média das contagens totais (ar - ufc/m³; manipulador e superfície - ufc/dm²) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa A

Pontos de Colheita	Empresa A			(n) M (ufc/m ³)
	Gram	Espécie	Classificação	
ZC	(-)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	(2) 160,0
	(-)	<i>Enterobacter</i> spp.	2	(1) 280,0
	(-)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	(2) 120,0
	(-)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumoniae</i>	2	(1) 20,0
	(-)	<i>Klebsiella</i> spp.	2	(1) 100,0
	(+)	<i>Streptococcus uberis</i>	2	(1) 80,0
Manipulador	(-)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	(1) 100,0
	(+)	<i>Enterococcus faecium</i>	2	(1) 200,0
Cacifo	(+)	<i>Corynebacterium genitalium</i>	2	(1) 100,0
Interior Máscara	(+)	<i>Streptococcus sanguinis</i>	2	(1) 2100,0
Maçaneta Balneários	(+)	<i>Enterococcus faecium</i>	2	(1) 600,0

Legenda: ZC=Zona Crítica; n=N.º Amostras; M=Média.

Observando os resultados estimados da Tabela 51, no que diz respeito aos valores de Bactérias Totais e da espécie *Staphylococcus* coagulase negativa, no ar ambiente, da Empresa A, observaram-se significativas ($p < 0,05$), entre os pontos de colheita analisados. Os resultados dos manipuladores foram superiores aos das torneiras das IS ($Z = -2,809$; $p\text{-value} = 0,005$), no que concerne ao total de bactérias. Ostentaram igualmente estimativas mais altas quando comparados com a ZC ($Z = -3,306$; $p\text{-value} = 0,001$), agora em relação à espécie *Staphylococcus* coagulase negativa.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 52, no que diz respeito às espécies/gêneros identificados, com a exceção das maçanetas dos SA e das torneiras das IS, foram detetados microrganismos incluídos no grupo 2 da classificação dos agentes biológicos (Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998).

Dos três gêneros classificados na ZC, apenas os gêneros *Klebsiella* e *Streptococcus* foram detetados em duas superfícies distintas. No entanto, efetuando a análise das espécies envolvidas verificou-se um padrão entre a ZC e os manipuladores, apenas para a espécie *Klebsiella oxytoca*. As mãos dos operadores desta empresa foram portadoras de duas espécies classificadas (*Klebsiella oxytoca* e *Enterococcus faecium*). As bactérias que foram detetadas são Gram (+) e Gram (-).

4.2.2.2. Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa B

As contagens médias de bactérias no ar ambiente da ZC, mãos dos operadores e das superfícies, apresentam-se na Tabela 53.

Na comparação da concentração média de Bactérias Totais no ar, entre os pontos de colheita registaram-se diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Os cacifos em relação aos manipuladores exibiram estimativas mais altas ($Z = -1,069$; $p\text{-value} = 0,001$). Na comparação da concentração média da espécie *Staphylococcus* coagulase negativa, nomeadamente nos manipuladores comparativamente com as torneiras das IS ($Z = -1,697$; $p\text{-value} = 0,001$), apresentaram valores superiores.

Tabela 53 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa B (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)

Agente Biológico	Empresa B							p-value
	ZC	Manipulador	Cacifo	Interior Máscara	Maçaneta Balneários	Maçaneta SA	Torneira IS	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de bactérias	(13) 1220,77±679,49	(12) 11947,08±13222,16	(1) 30000,00	(6) 8316,67±10820,43	(3) 2233,33±2218,86	(4) 2462,50±3783,60	(9) 4050,00±4364,63	0,005
<i>Bacillus</i> spp.	(12) 273,33±243,06	(0)	(0)	(1) 100,00	---	(0)	(4) 187,50±103,08	0,465
<i>Bacillus cereus</i>	(9) 57,78±46,31	(1) 130,00	(1) 30000,00	(0)	---	(1) 300,00	(0)	0,121
<i>Cellulomonas</i> spp. / <i>Microbacterium</i> spp.	(4) 55,00±44,35	(0)	(0)	(1) 100,00	---	(0)	(0)	0,468
<i>Micrococcus</i> spp.	(7) 80,00±51,64	(1) 1300,00	(0)	(0)	---	(0)	(0)	0,124
<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	(13) 698,46±563,76	(12) 11920,83±13251,38	---	(5) 8360,00±12325,10	(3) 2233,33±2218,86	(3) 3183,33±4284,37	(8) 4337,50±4343,45	0,001

Legenda: ZC=Zona Crítica; SA=Serviços Administrativos; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Na Tabela 54 encontram-se especificadas as bactérias identificadas com classificação grupo 2, na Empresa B.

Tabela 54 – Média das contagens totais (ar - ufc/m³; manipulador e superfície - ufc/dm²) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa B

Pontos de Colheita	Empresa B			
	Gram	Bactérias	Classificação	(n) M (ufc/m ³)
ZC	(-)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	(1) 150,0
	(-)	<i>Enterobacter</i> spp.	2	(1) 60,0
	(-)	<i>Enterobacter cloacae</i>	2	(1) 40,0
	(-)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	(1) 40,0
	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	(2) 20,0
	(+)	<i>Corynebacterium afermentans</i>	2	(1) 100,0
	(+)	<i>Corynebacterium propinquum</i>	2	(1) 40,0
	(+)	<i>Corynebacterium</i> spp.	2	(1) 40,0
	(+)	<i>Corynebacterium jeikeium</i>	2	(1) 40,0
	(+)	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	2	(1) 20,0
	(+)	<i>Corynebacterium aquaticum</i>	2	(1) 20,0
	(+)	<i>Corynebacterium pseudogenitalium</i>	2	(1) 20,0
Manipulador	(-)	<i>Enterobacter sakazakii</i>	2	(1) 380,0
	(-)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	(1) 130,0
	(-)	<i>Enterobacter</i> spp.	2	(1) 250,0
Interior Máscara	(+)	<i>Streptococcus mitis</i>	2	(1) 5600,0
	(+)	<i>Corynebacterium</i> spp.	2	(1) 200,0
Torneira IS/Balneários	(-)	<i>Enterobacter cloacae</i>	2	(1) 500,0

Legenda: ZC=Zona Crítica; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média.

No que às espécies bacterianas diz respeito, foi detetado o género *Enterobacter* nos manipuladores e nas torneiras das IS, estando também presente no ar ambiente da ZC. No interior de máscaras foram ainda identificados os géneros *Corynebacterium* e *Streptococcus*, géneros predominantes da flora nasal e oral e com classificação *Gram (+)*. Contudo, nas maçanetas não foram identificadas quaisquer espécies bacterianas.

4.2.2.3. Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa C

As contagens médias de bactérias no ar ambiente da ZC, mãos dos operadores e das superfícies, apresentam-se na Tabela 55.

Na comparação da concentração média de Bactérias Totais no ar, entre os pontos de colheita, registaram-se diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Os cacifos comparando com as maçanetas dos balneários ($Z = -1,474$; $p\text{-value} = 0,001$) e as maçanetas dos SA, comparando com os cacifos ($Z = -0,205$; $p\text{-value} = 0,001$) obtiveram valores superiores. Bem como, o interior de máscaras relativamente às maçanetas dos SA ($Z = -0,462$; $p\text{-value} < 0,0001$).

Na comparação da concentração média da espécie *Staphylococcus* coagulase negativa, nomeadamente nos manipuladores, comparativamente com os cacifos ($Z = -2,891$; $p\text{-value} = 0,004$) e com as maçanetas dos balneários ($Z = -3,120$; $p\text{-value} = 0,002$) obtiveram estimativas mais elevadas. E a ZC com as maçanetas dos SA ($Z = -0,935$; $p\text{-value} = 0,001$), igualmente.

Tabela 55 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa C (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)

Agente Biológico	Empresa C							p-value
	ZC (n) M±DP	Manipulador (n) M±DP	Cacifo (n) M±DP	Interior Máscara (n) M±DP	Maçaneta Balneários (n) M±DP	Maçaneta SA (n) M±DP	Torneira IS (n) M±DP	
Totais de bactérias	(13) 2646,92±927,75	(12) 35489,58±26721,96	(8) 5937,50±10314,61	(9) 8000,00±11279,07	(8) 4237,50±10424,82	(3) 10500,00±16889,35	(11) 19127,27±17577,55	<0,0001
<i>Bacillus</i> spp.	(13) 580,77±536,82	(1) 100,00	(1) 300,00	(3) 133,33±57,74	(3) 300,00±264,58	(0)	(3) 133,33±57,74	0,482
<i>Bacillus cereus</i>	(10) 287,00±132,17	(0)	(1) 30000,00	(1) 200,00	(1) 30000,00	(1) 30000,00	(0)	0,131
<i>Bacillus subtilis</i>	(5) 114,00±134,09	(0)	(1) 200,00	(0)	(0)	(0)	(0)	0,380
<i>Micrococcus</i> spp.	(8) 382,50±317,03	(0)	(2) 5250,00±7283,20	(0)	(0)	(0)	(2) 1900,00±0,00	0,165
<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	(13) 1303,85±829,96	(11) 35738,64±25695,85	(5) 1120,00±1298,85	(9) 7855,56±11212,62	(5) 580,00±687,02	(2) 750,00±353,55	(10) 18100,00±16368,47	<0,0001

Legenda: ZC=Zona Crítica; SA=Serviços Administrativos; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Na Tabela 56 encontra-se especificada a microflora bacteriana com classificação grupo 2, na Empresa C.

Tabela 56 – Média das contagens totais (ar - ufc/m³; manipulador e superfície - ufc/dm²) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa C

Pontos de Colheita	Empresa C			
	Gram	Bactérias	Classificação	(n) M (ufc/m ³)
ZC	(-)	<i>Enterobacter cloacae</i>	2	(1) 60,0
	(-)	<i>Enterobacter cancerogenus</i>	2	(1) 20,0
	(+)	<i>Enterococcus faecium</i>	2	(1) 80,0
	(+)	<i>Corynebacterium</i> spp.	2	(2) 100,0
	(+)	<i>Corynebacterium glucuronolyticum</i>	2	(1) 40,0
	(+)	<i>Corynebacterium urealyticum</i>	2	(1) 40,0
	(+)	<i>Corynebacterium jeikeium</i>	2	(1) 40,0
	(+)	<i>Corynebacterium pseudogenitalium</i>	2	(1) 40,0
	(+)	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	2	(1) 10,0
	(+)	<i>Gardnerella vaginalis</i>	2	(2) 20,0
Manipulador	(-)	<i>Enterobacter cloacae</i>	2	(2) 7750,0
Interior Máscara	(+)	<i>Staphylococcus aureus</i>	2	(1) 200,0
	(-)	<i>Enterobacter cloacae</i>	2	(1) 200,0
Torneira IS/Balneários	(+)	<i>Corynebacterium aquaticum</i>	2	(1) 3100,0
	(+)	<i>Corynebacterium afermentans</i>	2	(1) 700,0

Legenda: ZC=Zona Crítica; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média.

No que diz respeito às bactérias, com a exceção dos cacifos e das maçanetas, foram sempre reconhecidos microrganismos incluídos no grupo 2 da classificação dos agentes biológicos (Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998).

Das dez bactérias identificadas apresentadas na ZC, apenas a espécie *Enterobacter cloacae* foi identificada nos manipuladores. O género *Corynebacterium* este presente tanto na ZC como nas torneiras das instalações sanitárias/balneários, mas encontra-se representado por espécies diferentes. No interior de máscaras foi ainda identificada a espécie *Staphylococcus aureus*, incluída no grupo 2 da classificação dos agentes biológicos e predominante da flora da pele e nasal. A maioria das espécies encontradas na Empresa C foram Gram (+).

4.2.2.4. Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa D

Na Tabela 57, são apresentadas as contagens médias de bactérias no ar ambiente da ZC, mãos dos operadores e das superfícies.

Observando a tabela referida constatou-se que a comparação da concentração média de Bactérias Totais, no ar ambiente, entre as zonas em análise, registaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Os manipuladores, as torneiras das IS e o interior de máscaras apresentaram valores superiores relativamente às maçanetas dos balneários ($Z = -3,467$; $p\text{-value} = 0,001$); ($Z = -3,304$; $p\text{-value} = 0,001$) e ($Z = -3,635$; $p\text{-value} < 0,0001$), respetivamente.

Relativamente, à variação média de concentrações da espécie *Staphylococcus coagulase negativa*, nomeadamente no interior de máscaras em relação à ZC ($Z = -4,142$; $p\text{-value} < 0,0001$) e em relação às maçanetas dos balneários ($Z = -3,319$; $p\text{-value} < 0,0001$), as primeiras apresentaram valores superiores. Já nos que diz respeito às torneiras das IS e à ZC ($Z = -3,361$; $p\text{-value} = 0,001$), bem como, aos manipuladores e às maçanetas dos balneários ($Z = -2,893$; $p\text{-value} = 0,004$), os primeiros registaram valores superiores comparativamente aos segundos.

Tabela 57 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa D (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)

Agente Biológico	Empresa D							p-value
	ZC	Manipulador	Cacifo	Interior Máscara	Maçaneta Balneários	Maçaneta SA	Torneira IS	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de bactérias	(13) 4063,85±5467,66	(10) 26560,00±20885,47	(11) 5236,36±6117,23	(11) 18327,27±18788,78	(8) 737,50±647,93	(4) 6875,00±12883,94	(11) 28418,18±24636,96	<0,0001
<i>Bacillus</i> spp.	(13) 616,92±647,19	(3) 400,00±264,58	(6) 450,00±383,41	(2) 300,00±141,42	(5) 240,00±54,77	(1) 300,00	(2) 150,00±70,71	0,784
<i>Bacillus cereus</i>	(12) 153,33±98,10	(2) 100,00±0,00	(1) 6000,00	(2) 150,00±70,71	(1) 200,00	(0)	(0)	0,436
<i>Bacillus megaterium</i>	(3) 273,33±250,07	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1) 100,00	0,655
<i>Micrococcus</i> spp.	(9) 311,11±437,28	(0)	(1) 800,00	(1) 5000,00	(0)	(0)	(2) 450,00±70,71	0,172
<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	(13) 1039,23±661,62	(9) 17600,00±17138,70	(9) 4600,00±6130,05	(11) 15254,55±16216,31	(6) 683,33±738,69	(3) 8966,67±14665,04	(11) 15572,64±18331,26	<0,0001
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	(1) 100,00	(2) 24950,00±33870,41	(0)	(3) 4700,00±6323,76	(0)	(0)	(1) 4700,00	0,463

Legenda: ZC=Zona Crítica; SA=Serviços Administrativos; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

As espécies de bactérias identificadas com classificação grupo 2, na Empresa D, encontram-se especificadas na Tabela 58.

Com exceção das maçanetas, foram sempre detetados microrganismos incluídos no grupo 2 da classificação dos agentes biológicos (Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998).

Das 16 espécies ou géneros classificadas no grupo 2 identificadas na ZC, apenas foram detetadas as espécies *Enterococcus faecium* no interior de máscaras, *Corynebacterium genitalium* nos cacifos, o género *Enterobacter*, spp. e a espécie *Klebsiella oxytoca* nos manipuladores. As bactérias encontradas na Empresa D são Gram (+), bem como Gram (-).

Tabela 58 – Média das contagens totais (ar - ufc/m³; manipulador e superfície - ufc/dm²) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa D

Pontos de Colheita	Empresa D			
	Gram	Bactérias	Classificação	(n) M (ufc/m ³)
ZC	(-)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	(2) 90,0
	(-)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumoniae</i>	2	(2) 80,0
	(-)	<i>Enterobacter cloacae</i>	2	(2) 70,0
	(-)	<i>Enterobacter</i> spp.	2	(1) 20,0
	(-)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	(1) 20,0
	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	(1) 40,0
	(+)	<i>Corynebacterium renale</i> group	2	(2) 270,0
	(+)	<i>Corynebacterium</i> spp.	2	(2) 182,5
	(+)	<i>Corynebacterium jeikeium</i>	2	(1) 160,0
	(+)	<i>Corynebacterium propinquum</i>	2	(1) 60,0
	(+)	<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	2	(1) 60,0
	(+)	<i>Corynebacterium striatum</i>	2	(1) 20,0
	(+)	<i>Corynebacterium genitalium</i>	2	(1) 20,0
	(+)	<i>Gardnerella vaginalis</i>	2	(1) 120,0
	(+)	<i>Staphylococcus uberis</i>	2	(1) 100,0
	(+)	<i>Enterococcus faecium</i>	2	(1) 60,0
Manipulador	(-)	<i>Enterobacter</i> spp.	2	(1) 600,0
	(-)	<i>Proteus vulgaris</i>	2	(1) 500,0
	(-)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumoniae</i>	2	(1) 100,0
	(-)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	(1) 100,0
	(+)	<i>Streptococcus bovis</i>	2	(1) 700,0
Cacifo	(+)	<i>Staphylococcus salivarius</i>	2	(1) 2700,0
	(+)	<i>Corynebacterium genitalium</i>	2	(1) 100,0
Interior Máscara	(-)	<i>Vibrio</i> spp.	2	(1) 300,0
	(+)	<i>Enterococcus faecium</i>	2	(1) 1400,0
Torneira IS/Balneários	(+)	<i>Corynebacterium bovis</i>	2	(1) 30000,0

Legenda: ZC=Zona Crítica; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média.

4.2.2.5. Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa E

Na Tabela 59 encontra-se representada a microflora bacteriana identificada, por ponto de colheita na Empresa E.

As concentrações das Bactérias Totais apresentadas revelaram uma determinada homogeneidade, em média, de valores avaliados nos diferentes pontos de colheita ($p < 0,05$). Contudo, na comparação da concentração média da espécie *Staphylococcus* coagulase negativa no ar, entre os pontos de colheita registaram-se diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) em que as torneiras das IS relativamente à ZC ($Z = -1,173$; $p\text{-value} = 0,001$), apresentaram valores superiores.

Tabela 59 – Avaliação do risco biológico (bactérias), por ponto de colheita, na Empresa E (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)

Agente Biológico	Empresa E							p-value
	ZC	Manipulador	Cacifo	Interior Máscara	Maçaneta Balneários	Maçaneta SA	Torneira IS	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de bactérias	(7) 5157,14±2380,01	(11) 18155,46±14011,62	(8) 3075,00±2611,38	---	(7) 3057,14±3188,97	(4) 1787,50±2087,41	(8) 7131,25±12378,35	0,017
<i>Bacillus</i> spp.	(7) 494,29±371,43	(4) 575,00±377,49	(5) 200,00±122,47	---	(1) 200,00	(3) 700,00±953,94	(3) 583,33±711,22	0,694
<i>Bacillus cereus</i>	(5) 336,00±230,39	(1) 30000,00	(2) 700,00±424,26	---	(1) 250,00	(1) 100,00	(1) 500,00	0,313
<i>Micrococcus</i> spp.	(3) 1360,00±2061,36	(3) 5243,33±8452,79	(2) 600,00±565,69	---	(1) 3050,00	(1) 300,00	(1) 800,00	0,944
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	(5) 1648,00±3087,32	(10) 14910,00±12279,45	(7) 12071,43±26482,43	---	(4) 2550,00±3439,48	(3) 1550,00±2382,75	(8) 2462,50±2648,82	0,025

Legenda: ZC=Zona Crítica; SA=Serviços Administrativos; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Na Tabela 60 encontram-se especificadas as bactérias identificadas com classificação grupo 2, na Empresa E.

Tabela 60 – Média das contagens totais (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²) de cada bactéria identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa E

Pontos de Colheita	Empresa E			(n) M (ufc/m ³)
	Gram	Bactérias	Classificação	
ZC	(-)	<i>Proteus vulgaris</i>	2	(1) 2000,0
	(-)	<i>Proteus penniri</i>	2	(1) 680,0
	(-)	<i>Enterobacter cloacae</i>	2	(1) 1580,0
	(-)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumoniae</i>	2	(1) 300,0
	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	(1) 20,0
	(+)	<i>Corynebacterium aquatium</i>	2	(1) 6040,0
Manipulador	(+)	<i>Streptococcus oralis</i>	2	(1) 130,0
	(+)	<i>Corynebacterium</i> spp.	2	(1) 100,0
Torneira IS/Balneários	(-)	<i>Klebsiella</i> spp.	2	(1) 2800,0

Legenda: ZC=Zona Crítica; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média.

Tendo em conta a Tabela 60, dos cinco géneros classificados detetados na ZC, apenas dois dos géneros, *Klebsiella* e *Corynebacterium* surgem nos manipuladores e em superfícies – torneiras das IS. Nos manipuladores, para além deste último surge uma espécie pertencente ao género *Streptococcus*. Nas restantes superfícies (cacifos; interior de máscaras e maçanetas) não foram detetados microrganismos incluídos no grupo 2 da classificação dos agentes biológicos (Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998).

4.2.2.6. Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa A

Na Tabela 61, são apresentadas as contagens médias de fungos no ar ambiente da ZC, mãos dos operadores e das superfícies, efetuadas na Empresa A.

Conforme observamos na tabela mencionada, a comparação da concentração média de Fungos Totais no ar, entre os pontos de colheita registaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Assim, aplicando o teste estatístico de comparações múltiplas de Bonferroni corrigido, nos locais de manipulação da ZC, em comparação com as maçanetas dos balneários ($Z = -3,527$; $p\text{-value} < 0,0001$); com as maçanetas dos SA ($Z = -3,165$; $p\text{-value} = 0,002$) e com as torneiras das IS/balneários ($Z = -2,627$; $p\text{-value} = 0,009$), deparamo-nos com estimativas mais elevadas de fungos viáveis. Bem como os cacifos, comparativamente com as torneiras das IS/balneários ($Z = -2,203$; $p\text{-value} < 0,0001$).

O género *Penicillium* spp. presente no ar registou diferenças estatisticamente significativas, entre os pontos de recolha ($p < 0,05$). Assim, a ZC comparativamente com as maçanetas dos SA ($Z = -3,167$; $p\text{-value} = 0,002$), com as maçanetas dos balneários ($Z = -3,167$; $p\text{-value} = 0,002$), bem como com os manipuladores ($Z = -3,369$; $p\text{-value} = 0,001$), apresentou estimativas mais elevadas deste género de fungos.

Tabela 61 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa A (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)

Agente Biológico	Empresa A							p-value
	ZC	Manipulador	Cacifo	Interior Máscara	Maçaneta Balneários	Maçaneta SA	Torneira IS	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de fungos	(11) 19172,73±7814,92	(8) 541,25±638,45	(10) 2200,00±2848,00	(2) 1050,00±70,71	(7) 728,57±642,17	(5) 480,00±389,87	(3) 366,67±152,75	<0,0001
<i>Aspergillus niger</i>	(11) 38,18±32,81	(1) 100,00	(1) 200,00	(0)	(1) 300,00	(1) 100,00	(0)	0,067
<i>Candida</i> spp.	(0)	(3) 266,67±288,68	(1) 100,00	(0)	(1) 400,00	(1) 100,00	(2) 300,00±282,84	0,808
<i>Cladosporium</i> spp.	(0)	(0)	(3) 933,33±321,46	(0)	(3) 400,00±100,00	(0)	(0)	0,050
<i>Penicillium</i> spp.	(11) 19134,55±7821,12	(6) 155,00±80,93	(9) 1688,89±2555,11	(09)	(5) 400,00±424,26	(5) 420,00±408,66	(1) 100,00	<0,0001

Legenda: ZC=Zona Crítica; SA=Serviços Administrativos; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

As contagens totais de bactérias e fungos, na Empresa A, nos diversos locais de recolha, bem como, nos manipuladores estão representadas na Tabela 62, através das respetivas médias e das concentrações mínimas e máximas.

Tabela 62 – Contagem total de bactérias e fungos viáveis, por ponto de colheita, na Empresa A (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)

Pontos de colheita	Contagem total de Bactérias			Contagem total de Fungos		
	Mínimo	Máximo	(n) M±DP	Mínimo	Máximo	(n) M±DP
EMPRESA A						
ZC	280,0	1400,0	(11) 823,64±390,57	5020,0	25200,0	(11) 19172,73±7814,92
Manipulador	1000,0	51000,0	(11) 10331,82±14384,94	100,0	2000,0	(8) 541,25±638,45
Cacifo	400,0	7600,0	(10) 2800,00±2910,52	300,0	9700,0	(10) 2200,00±2848,00
Interior Máscara	3600,0	3800,0	(2) 3700,00±141,42	1000,0	1100,0	(2) 1050,00±70,71
Maçaneta Balneários	250,0	30000,0	(9) 6300,00±9307,76	100,0	1700,0	(7) 728,57±642,17
Maçaneta SA	100,0	4000,0	(3) 1833,33±1985,78	100,0	1100,0	(5) 480,00±389,87
Torneira IS/Balneários	400,0	9700,0	(8) 2137,50±3118,12	200,0	500,0	(3) 366,67±152,75

Legenda: ZC=Zona Crítica; SA=Serviços Administrativos; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão.

Na Tabela 62, tendo em conta os pontos analisados, observou-se que a média das contagens totais de bactérias foi superior nos manipuladores ($10331,82 \text{ ufc/dm}^2$), comparativamente às superfícies e ao ar na cabine de triagem de resíduos - ZC ($823,64 \text{ ufc/m}^3$).

A flora microbiana presente no ar da ZC foi muito inferior aquela presente nos manipuladores e nas maçanetas dos balneários. No caso das médias das contagens totais de fungos, efetuando uma análise por empresa, verificou-se que a ZC apresentou concentrações visivelmente superiores às avaliadas nas restantes superfícies.

Relativamente à flora fúngica, nenhum dos géneros detetados nesta empresa foi classificado no grupo 2 da classificação dos agentes biológicos (Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998).

4.2.2.7. Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa B

As contagens médias de fungos no ar ambiente da ZC, mãos dos operadores e das superfícies, relativas à Empresa B, são apresentadas na Tabela 63.

A confrontação da concentração média de Fungos Totais e do género *Penicillium* spp. no ar, entre os pontos de colheita revelou diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Segundo o teste de comparações múltiplas de Bonferroni corrigido, podemos inferir que a ZC em relação às torneiras das IS obteve concentrações mais relevantes ($Z = -3,855$; $p\text{-value} < 0,0001$) e ($Z = -3,182$; $p\text{-value} = 0,001$), respetivamente.

Também pode-se constatar que a concentração média de *Rhodotorula* spp. no ar, entre os pontos de colheita apresentou diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), nas maçanetas dos SA em relação à ZC ($Z = -3,235$; $p\text{-value} = 0,026$).

Na Tabela 64 está representada a média das contagens totais de cada espécie fúngica identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa B.

Quanto à flora fúngica na Empresa B foram detetados espécies pertencentes ao grupo 2 da classificação dos agentes biológicos distintos na ZC em comparação com as maçanetas, (*Trichophyton* e *Cryptococcus*, respetivamente). Relativamente aos manipuladores e às superfícies (cacifos; interior máscara e troneira IS), nenhuma espécie e/ou género analisado foi classificado no referido grupo.

Tabela 63 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa B (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)

Agente Biológico	Empresa B							p-value
	ZC	Manipulador	Cacifo	Interior Máscara	Maçaneta Balneários	Maçaneta SA	Torneira IS	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de fungos	(13) 24859,23±18404,10	(6) 10405,00±24067,51	(2) 300,00±141,42	(6) 1000,00±1140,18	(7) 1307,14±1811,18	(9) 17177,78±16230,66	(11) 486,36±439,37	<0,0001
<i>Candida famata</i>	(4) 85,00±41,23	(3) 16076,67±27646,42	(0)	(0)	(3) 550,00±304,14	(0)	(4) 162,50±75,00	0,081
<i>Cladosporium</i> spp.	(12) 290,00±165,03	(2) 360,00±367,70	(0)	(0)	(1) 200,00	(3) 100,00±0,00	(3) 100,00±0,00	0,222
<i>Cryptococcus laurentii</i>	(4) 30,00±11,54	(0)	(0)	(0)	(1) 500,00	(1) 3000,00	(0)	0,150
<i>Penicillium</i> spp.	(13) 24493,85±18541,99	(5) 1556,00±2933,37	(1) 400,00	(5) 680,00±370,14	(2) 200,00±141,42	(0)	(9) 377,78±449,38	0,004
<i>Rhodotorula</i> spp.	(3) 20,00±0,00	(0)	(1) 100,00	(0)	(1) 3500,00	(7) 20757,14±14132,57	(3) 100,00±0,00	0,016

Legenda: ZC=Zona Crítica; SA=Serviços Administrativos; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Tabela 64 – Média das contagens totais (ar - ufc/m³; manipulador e superfície - ufc/dm²) de cada fungo identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa B

Pontos de Colheita	Empresa B		
	Espécies	Classificação	(n) M (ufc/m ³)
ZC	<i>Trichophyton equinum</i>	2	(1) 20,0
Maçaneta Balneários	<i>Cryptococcus neoformans var neoformans</i>	2	(1) 1800,0
Maçaneta SA	<i>Cryptococcus neoformans var neoformans</i>	2	(1) 2800,0

Legenda: ZC=Zona Crítica; SA=Serviços Administrativos; n=N.º Amostras; M=Média.

Na tabela seguinte estão representadas as contagens totais de bactérias e fungos, nos diversos locais de recolha, bem como, nos manipuladores, através das respetivas médias e das concentrações mínimas e máximas.

Tabela 65 – Contagem total de bactérias e fungos viáveis, por ponto de colheita, na Empresa B (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)

Pontos de colheita EMPRESA B	Contagem total de Bactérias			Contagem total de Fungos		
	Mínimo	Máximo	(n) M±DP	Mínimo	Máximo	(n) M±DP
ZC	200,0	2320,0	(13) 1220,77±679,49	560,0	50900,0	(13) 24859,23±18404,10
Manipulador	1625,0	37600,0	(12) 11947,08±13222,16	100,0	59520,0	(6) 10405,00±24067,51
Cacifo	30000,0	30000,0	(1) 30000,00	200,0	400,0	(2) 300,00±141,42
Interior Máscara	1400,0	30000,0	(6) 8316,67±10820,43	100,0	3200,0	(6) 1000,00±1140,18
Maçaneta Balneários	400,0	4700,0	(3) 2233,33±2218,86	100,0	5300,0	(7) 1307,14±1811,18
Maçaneta SA	250,0	8100,0	(4) 2462,50±3783,60	200,0	43000,0	(9) 17177,78±16230,66
Torneira IS/Balneários	100,0	11700,0	(9) 4050,00±4364,63	100,0	1400,0	(11) 486,36±439,37

Legenda: ZC=Zona Crítica; SA=Serviços Administrativos; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão.

Em relação aos pontos de colheita observou-se que, para a empresa em estudo, as médias das contagens totais de bactérias nos manipuladores e nas superfícies dos cacifos e do interior de máscaras foram muito superiores (Tabela 65).

Os níveis de exposição ocupacional a fungos viáveis mais elevados nas superfícies foram verificados nas maçanetas dos serviços administrativos, com contagens médias de 17177,78 ufc/dm².

4.2.2.8. Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa C

Na Tabela 66 são apresentadas as contagens médias de fungos no ar ambiente da ZC, mãos dos operadores e das superfícies, relativas à Empresa C.

Tabela 66 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa C (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)

Agente Biológico	Empresa C							p-value
	ZC	Manipulador	Cacifo	Interior Máscara	Maçaneta Balneários	Maçaneta SA	Torneira IS	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de fungos	(13) 16614,62±12391,13	(6) 620,83±294,29	(8) 4762,50±11138,09	(9) 866,67±466,37	(9) 11588,89±6593,64	(2) 100,00±0,00	(11) 1172,73±1325,21	<0,0001
<i>Aspergillus niger</i>	(11) 40,00±21,91	(0)	(0)	(2) 100,00±0,00	(0)	(0)	(2) 500,00±565,69	0,016
<i>Candida</i> spp.	(4) 70,00±25,82	(2) 287,50±123,74	(0)	(0)	(1) 400,00	(0)	(1) 300,00	0,120
<i>Candida famata</i>	(1) 60,00	(0)	(1) 200,00	(1) 400,00	(0)	(0)	(3) 166,67±115,47	0,287
<i>Cladosporium</i> spp.	(12) 700,83±501,79	(1) 200,00	(6) 6033,33±12879,08	(3) 233,33±57,74	(9) 11411,11±6546,46	(2) 100,00±0,00	(4) 125,00±50,00	0,002
<i>Penicillium</i> spp.	(13) 15737,62±12291,96	(6) 429,17±223,84	(4) 425,00±330,40	(9) 722,22±506,90	(0)	---	(9) 1022,22±1109,93	<0,0001
<i>Rhodotorula</i> spp.	(6) 40,00±25,30	(0)	(0)	(0)	(2) 600,00±282,84	---	(2) 350,00±70,71	0,030

Legenda: ZC=Zona Crítica; SA=Serviços Administrativos; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

A média das contagens totais de cada fungo identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa C, está representada na Tabela 67.

Tabela 67 – Média das contagens totais (ar - ufc/m³; manipulador e superfície - ufc/dm²) de cada fungo identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa C

Pontos de Colheita	Empresa C		
	Fungos	Classificação	(n) M (ufc/m ³)
ZC	<i>Trichophyton equinum</i>	2	(1) 20,0
	<i>Trichophyton</i> spp.	2	(1) 40,0
	<i>Microsporum</i> spp.	2	(1) 20,0
Torneira IS/Balneários	<i>Aspergillus fumigatus</i>	2	(1) 400,0
	<i>Cryptococcus neofarmans</i> var <i>neofarmans</i>	2	(1) 100,0

Legenda: ZC=Zona Crítica; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média.

Os valores de concentração média de Fungos Totais, *Cladosporium* spp. e *Penicillium*, spp., no ar, entre os locais de análise assinalaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), tal como é exposto na Tabela 66.

O teste corrigido para comparações múltiplas (método de Bonferroni) permitiu confirmar que as empresas não foram homogéneas, entre si. Deste modo, a média de Fungos Totais avaliados na ZC obteve concentrações maiores em relação ao interior de máscaras ($Z = -3,506$; $p\text{-value} < 0,0001$); às torneiras IS ($Z = -3,681$; $p\text{-value} < 0,0001$); aos manipuladores ($Z = -3,421$; $p\text{-value} = 0,001$), bem como, em analogia com as maçanetas SA ($Z = -2,210$; $p\text{-value} = 0,027$).

Por sua vez, a média do género *Cladosporium* spp. no ar assinalou valores superiores na ZC em relação às torneiras das IS ($Z = -2,921$; $p\text{-value} = 0,003$), bem como aos manipuladores ($Z = -3,421$; $p\text{-value} = 0,001$).

Por último, o género *Penicillium* spp. na ZC revelou concentrações mais elevadas relativamente aos cacifos ($Z = 3,153$; $p\text{-value} = 0,034$), tal como aos manipuladores ($Z = -3,589$; $p\text{-value} = 0,007$).

Relativamente à Tabela 67, na Empresa C, a microflora fúngica recaiu em microrganismos distintos na ZC e nas torneiras das IS, pertencentes ao grupo 2 da classificação dos agentes biológicos. Nas torneiras das IS foram identificadas duas espécies de fungos pertencentes ao mesmo grupo, nomeadamente *Aspergillus fumigatus* e *Cryptococcus neoformans var neoformans*. Nos restantes pontos de colheita foram identificados fungos não classificados, de acordo com a Portaria n.º 405/98, de 11 de julho e a Portaria n.º 1036/98, de 15 de agosto (Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998).

As contagens totais de bactérias e fungos, nos diversos locais de recolha, bem como, nos manipuladores, através das respetivas médias e das concentrações mínimas e máximas, são apresentadas na tabela seguinte.

Tabela 68 – Contagem total de bactérias e fungos viáveis, por ponto de colheita, na Empresa C (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)

Pontos de colheita	Contagem total de Bactérias			Contagem total de Fungos		
	Mínimo	Máximo	(n) M±DP	Mínimo	Máximo	(n) M±DP
EMPRESA C						
ZC	900,0	4140,0	(13) 2646,92±927,75	1220,0	28840,0	(13) 16614,62±12391,13
Manipulador	2800,0	79000,0	(12) 35489,58±26721,96	250,0	1000,0	(6) 620,83±294,29
Cacifo	300,0	30000,0	(8) 5937,50±10314,61	100,0	32300,0	(8) 4762,50±11138,09
Interior Máscara	300,0	32300,0	(9) 8000,00±11279,07	300,0	1700,0	(9) 866,67±466,37
Maçaneta Balneários	100,0	30000,0	(8) 4237,50±10424,82	100,0	21500,0	(9) 11588,89±6593,64
Maçaneta SA	500,0	30000,0	(3) 10500,00±16889,35	100,0	100,0	(2) 100,00±0,00
Torneira IS/Balneários	900,0	50000,0	(11) 19127,27±17577,55	300,0	4700,0	(11) 1172,73±1325,21

Legenda: ZC=Zona Crítica; SA=Serviços Administrativos; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão.

A Empresa C exibiu contagens muito elevadas de bactérias viáveis nos manipuladores ($79000,00 \text{ ufc/dm}^2$), comparativamente ao ar analisado na ZC ($4140,00 \text{ ufc/m}^3$), levando em consideração os valores máximos obtidos. Esta empresa apresentou igualmente contagens elevadas de fungos nas maçanetas dos balneários ($11588,89 \text{ ufc/dm}^2$), na mesma ordem de grandeza que as observadas no ar ($16614,62 \text{ ufc/m}^3$).

4.2.2.9. Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa D

Relativamente à Empresa D, as contagens médias de fungos no ar ambiente da ZC, mãos dos operadores e das superfícies, são apresentadas na Tabela 69.

A análise por comparação da concentração média de Fungos Totais, no ar ambiente, entre os pontos de amostragem registou diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Assim, recorrendo ao teste de comparações múltiplas referido na tabela, este veio demonstrar que a ZC revelou níveis de concentração mais preocupantes do que os cacifos ($Z = -5,647$; $p\text{-value} < 0,0001$) e os manipuladores ($Z = -3,239$; $p\text{-value} = 0,001$), bem como nos manipuladores comparando com as maçanetas dos balneários ($Z = -2,259$; $p\text{-value} = 0,024$).

A comparação da carga fúngica de *Penicillium* spp. no ar, assinalou mais uma vez, variações estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Pelo que, a ZC comparada com os manipuladores ($Z = -2,497$; $p\text{-value} = 0,013$), apresentou estimativas com valores mais acentuados.

Já na Tabela 70 está representada a média das contagens totais de cada espécie fúngica identificada com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa D.

Dos fungos observados, unicamente o género *Trichophyton* se inclui no grupo 2 da classificação dos agentes biológicos, detetado numa única superfície – cacifos (Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998).

Tabela 69 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa D (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)

Agente Biológico	Empresa D							p-value
	ZC	Manipulador	Cacifo	Interior Máscara	Maçaneta Balneários	Maçaneta SA	Torneira IS	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de fungos	(13) 35639,23±21162,64	(9) 1400,00±1550,00	(11) 9613,64±13138,00	(11) 2100,00±2819,93	(3) 100,00±0,00	(1) 600,00	(10) 17859,00±29437,61	<0,0001
<i>Aspergillus niger</i>	(11) 61,82±56,18	(2) 100,00±0,00	(0)	(0)	(0)	(0)	(3) 100,00±0,00	0,033
<i>Candida famata</i>	(0)	(2) 1350,00±1626,35	(2) 2400,00±2828,43	(4) 2850,00±3038,09	(0)	(1) 500,00	(2) 3000,00±707,11	0,849
<i>Cladosporium</i> spp.	(11) 1138,18±2050,08	(4) 187,50±62,92	(10) 7135,00±10758,93	(3) 800,00±458,26	(1) 100,00	(0)	(4) 167,50±78,90	0,013
<i>Penicillium</i> spp.	(13) 32599,23±22677,44	(7) 407,14±316,79	(6) 566,67±608,82	(7) 1000,00±921,95	0	(1) 100,00	(9) 835,56±481,54	0,008
<i>Rhodotorula</i> spp.	(1) 20,00	(1) 100,00	(1) 100,00	(0)	(2) 100,00±0,00	(0)	(3) 2033,33±3092,46	0,277

Legenda: ZC=Zona Crítica; SA=Serviços Administrativos; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Tabela 70 – Média das contagens totais (ar - ufc/m³; manipulador e superfície - ufc/dm²) de cada fungo identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa D

Ponto de Colheita	Empresa D		
	Género	Classificação	(n) M (ufc/m ³)
Cacifo	<i>Trichophyton</i> spp.	2	(1) 100,0

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média.

Na tabela seguinte estão representadas as contagens totais de bactérias e fungos, nos diversos locais de recolha, bem como, nos manipuladores, através das respetivas médias e das concentrações mínimas e máximas.

Tabela 71 – Contagem total de bactérias e fungos viáveis, por ponto de colheita, na Empresa D (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)

Pontos de colheita EMPRESA D	Contagem total de Bactérias			Contagem total de Fungos		
	Mínimo	Máximo	(n) M±DP	Mínimo	Máximo	(n) M±DP
ZC	610,0	21800,0	(13) 4063,85±5467,66	80,0	70780,0	(13) 35639,23±21162,64
Manipulador	1800,0	61400,0	(10) 26560,00±20885,47	100,0	4500,0	(9) 1400,00±1550,00
Cacifo	100,0	17000,0	(11) 5236,36±6117,23	100,0	36000,0	(11) 9613,64±13138,00
Interior Máscara	3900,0	72000,0	(11) 18327,27±18788,78	100,0	8500,0	(11) 2100,00±2819,93
Maçaneta Balneários	100,0	2100,0	(8) 737,50±647,93	100,0	100,0	(3) 100,00±0,00
Maçaneta SA	300,0	26200,0	(4) 6875,00±12883,94	600,0	600,0	(1) 600,00
Torneira IS/Balneários	500,0	90000,0	(11) 28418,18±24636,96	1200,0	90940,0	(10) 17859,00±29437,61

Legenda: ZC=Zona Crítica; SA=Serviços Administrativos; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão.

Através da análise da Tabela 71 foi possível observar que as torneiras das instalações sanitárias, os manipuladores e o interior das máscaras apresentaram contagens médias de bactérias viáveis muito superiores aos restantes pontos de colheita.

Nos cinco pontos de contacto, quer os cacifos quer as torneiras das instalações sanitárias, apresentaram igualmente contagens médias totais de fungos elevadas.

No caso das médias das contagens totais de fungos, efetuando uma análise por empresa, verificou-se que a ZC apresentou concentrações visivelmente superiores às avaliadas nas superfícies.

4.2.2.10. Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa E

Na Tabela 72 são apresentadas as contagens médias de fungos no ar ambiente da ZC, mãos dos operadores e das superfícies, relativas à Empresa E.

Assim, pode-se comparar a concentração média de Fungos Totais, no ar. Esta demonstrou estar significativamente ampliada ($p < 0,05$), em relação aos diferentes pontos de amostragem. Deste modo, as maçanetas dos balneários demonstraram valores superiores de Fungos Totais comparativamente aos manipuladores ($Z=2,999$; $p\text{-value}=0,041$).

Tabela 72 – Avaliação do risco biológico (fungos), por ponto de colheita, na Empresa E (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)

Agente Biológico	Empresa E							p-value
	ZC	Manipulador	Cacifo	Interior Máscara	Maçaneta Balneários	Maçaneta SA	Torneira IS	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de fungos	(11) 14649,09±9417,98	(6) 2383,33±4773,01	(5) 3460,00±3831,84	---	(4) 9275,00±17750,75	---	(6) 966,67±818,94	0,015
<i>Aspergillus niger</i>	(9) 77,78±88,00	(2) 250,00±212,13	(0)	---	(0)	---	(1) 100,00	0,232
<i>Cladosporium</i> spp.	(3) 773,33±1069,08	(2) 500,00±565,69	(4) 2100,00±2289,10	---	(2) 350,00±353,55	---	(2) 150,00±70,71	0,663
<i>Penicillium</i> spp.	(11) 14023,64±10021,64	(4) 11000,00±1867,26	(5) 400,00±264,58	---	(2) 250,00±70,71	---	(5) 400,00±244,95	0,006

Legenda: ZC=Zona Crítica; SA=Serviços Administrativos; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*; Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

A média das contagens totais do género fúngico identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa E, está representada na Tabela 73.

Tabela 73 – Média das contagens totais (ar - ufc/m³; manipulador e superfície - ufc/dm²) de cada fungo identificado com classificação grupo 2, por ponto de colheita, na Empresa E

Ponto de Colheita	Empresa E		
	Género	Classificação	(n) M (ufc/m ³)
ZC	<i>Trichophyton</i> spp.	2	(1) 40,0

Legenda: ZC=Zona Crítica; n=N.º Amostras; M=Média.

No que diz respeito à microflora fúngica, apenas foi identificado no ar ambiente da ZC, um único género incluído no grupo 2 da classificação dos agentes biológicos (Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998).

As contagens totais de bactérias e fungos, nos diversos locais de recolha, bem como, nos manipuladores, através das respetivas médias e das concentrações mínimas e máximas, são apresentadas na tabela seguinte.

Tabela 74 – Contagem total de bactérias e fungos viáveis, por ponto de colheita, na Empresa E (ar - ufc/m³; manipulador e superfícies - ufc/dm²)

Pontos de colheita EMPRESA E	Contagem total de Bactérias			Contagem total de Fungos		
	Mínimo	Máximo	(n) M±DP	Mínimo	Máximo	(n) M±DP
ZC	1440,0	8300,0	(7) 5157,14±2380,01	560,0	25320,0	(11) 14649,09±9417,98
Manipulador	380,0	35130,0	(11) 18155,46±14011,62	100,0	12100,0	(6) 2383,33±4773,01
Cacifo	300,0	7800,0	(8) 3075,00±2611,38	300,0	8700,0	(5) 3460,00±3831,84
Interior Máscara	---	---	---	---	---	---
Maçaneta Balneários	100,0	7600,0	(7) 3057,14±3188,97	200,0	35900,0	(4) 9275,00±17750,75
Maçaneta SA	250,0	4700,0	(4) 1787,50±2087,41	---	---	---
Torneira IS/Balneários	400,0	36700,0	(8) 7131,25±12378,35	200,0	2500,0	(6) 966,67±818,94

Legenda: ZC=Zona Crítica; SA=Serviços Administrativos; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão.

A flora microbiana presente no ar da ZC foi inferior aquela detetada nos manipuladores e nas torneiras das IS, tendo sido superior relativamente aos restantes indicadores de higiene (Tabela 74).

No que aos fungos diz respeito, verificou-se que a média das contagens totais foi superior na ZC (14649,09 ufc/m³), apesar do valor máximo nesta zona ter sido inferior ao detetado nas maçanetas dos balneários.

4.2.3. Sinopse da Avaliação de Superfícies e Manipuladores

Os resultados alcançados nesta avaliação tiveram como objetivo avaliar as superfícies e mãos dos operadores das indústrias de triagem de resíduos em estudo, tal como, comparar os resultados obtidos.

Desta forma, foi avaliado a contaminação biológica por aerossóis (bactérias e fungos viáveis) na torneira e maçaneta das instalações sanitárias, maçaneta de cacifos, maçaneta dos serviços administrativos e interior de máscaras de proteção respiratória, onde se conclui que a torneira das instalações sanitárias (IS)/balneários apresentou contagens médias superiores de bactérias viáveis, ao passo que a ZC apresentou maior prevalência de espécies fúngicas. Assim, na tabela seguinte encontram-se destacadas as contagens médias superiores de bactérias e fungos viáveis, representativas dos manipuladores e das superfícies de contacto (fomites), em cada empresa estudada.

Tabela 75 – Contagem de bactérias e fungos viáveis (ufc/m³), por ponto de colheita, em cada empresa.

Empresa	Pontos de Colheita	Bactérias (ufc/m ³)	Fungos (ufc/m ³)
		(n) M±DP	(n) M±DP
A	Zona Crítica	(11) 823,64 ± 390,57	(11) 19172,73 ± 7814,92
	Manipulador	(11) 10331,82 ± 14384,94	(8) 541,25 ± 638,45
	Cacifo	(10) 2800,00 ± 2910,52	(10) 2200,00 ± 2848,00
	Interior Máscara	(2) 3700,00 ± 141,42	(2) 1050,00 ± 70,71
	Maçaneta Balneários	(9) 6300,00 ± 9307,76	(7) 728,57 ± 642,17
	Maçaneta SA	(3) 1833,33 ± 1985,78	(5) 480,00 ± 389,87
	Torneira IS/Balneários	(8) 2137,50 ± 3118,12	(3) 366,67 ± 152,75
B	Zona Crítica	(13) 1220,77 ± 679,49	(13) 24859,23 ± 18404,10
	Manipulador	(12) 11947,08 ± 13222,16	(6) 10405,00 ± 24067,51
	Cacifo	(1) 30000,00	(2) 300,00 ± 141,42
	Interior Máscara	(6) 8316,67 ± 10820,43	(6) 1000,00 ± 1140,18
	Maçaneta Balneários	(3) 2233,33 ± 2218,86	(7) 1307,14 ± 1811,18
	Maçaneta SA	(4) 2462,50 ± 3783,60	(9) 17177,78 ± 16230,66
	Torneira IS/Balneários	(9) 4050,00 ± 4364,63	(11) 486,36 ± 439,37
C	Zona Crítica	(13) 2646,92 ± 927,75	(13) 16614,62 ± 12391,13
	Manipulador	(12) 35489,58 ± 26721,96	(6) 620,83 ± 294,29
	Cacifo	(8) 5937,50 ± 10314,61	(8) 4762,50 ± 11138,09
	Interior Máscara	(9) 8000,00 ± 11279,07	(9) 866,67 ± 466,37
	Maçaneta Balneários	(8) 4237,50 ± 10424,82	(9) 11588,89 ± 6593,64
	Maçaneta SA	(3) 10500,00 ± 16889,35	(2) 100,00 ± 0,00
	Torneira IS/Balneários	(11) 19127,27 ± 17577,55	(11) 1172,73 ± 1325,21
D	Zona Crítica	(13) 4063,85 ± 5467,66	(13) 35639,23 ± 21162,64
	Manipulador	(10) 26560,00 ± 2885,47	(9) 1400,00 ± 1550,00
	Cacifo	(11) 5236,36 ± 6117,13	(11) 9613,64 ± 13138,00
	Interior Máscara	(11) 18327,27 ± 18788,78	(11) 2100,00 ± 2819,93
	Maçaneta Balneários	(8) 737,50 ± 647,93	(3) 100,00 ± 0,00
	Maçaneta SA	(4) 6875,00 ± 12883,94	(1) 600,00
	Torneira IS/Balneários	(11) 28418,18 ± 24636,96	(10) 17859,00 ± 29437,61
E	Zona Crítica	(7) 5157,14 ± 2380,01	(11) 14649,09 ± 9417,98
	Manipulador	(11) 18155,46 ± 14011,62	(6) 2383,33 ± 4773,01
	Cacifo	(8) 3075,00 ± 2611,38	(5) 3460,00 ± 3831,84
	Interior Máscara	---	---
	Maçaneta Balneários	(7) 3057,14 ± 3188,97	(4) 9275,00 ± 17750,75
	Maçaneta SA	(4) 1787,50 ± 2087,41	---
	Torneira IS/Balneários	(8) 7131,25 ± 12378,35	(6) 966,67 ± 818,94

Legenda: SA=Serviços Administrativos; IS=Instalações Sanitárias; n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão.

Mediante a análise dos resultados obtidos, analisar-se-á os resultados entre a avaliação ambiental e a avaliação das superfícies e dos manipuladores.

5

DISCUSSÃO

Os locais em cada empresa onde foram realizadas as colheitas inerentes à avaliação ambiental foram selecionados tendo em conta a possibilidade de comparação entre diferentes pontos de amostragem e, conseqüentemente, o confronto entre as zonas de exposição críticas e não críticas em paralelo com o local considerado como de referência (exterior).

As amostras de ar interior devem ser comparadas com níveis ou valores de base, como as amostras recolhidas no ar exterior, num local de referência ou quando o processo ou a atividade profissional são interrompidos (Goyer et al., 2001).

As Empresas A, B, C e D efetuam Triagem de Papel (cartão) e Embalagens (plástico, materiais ferrosos e não ferrosos), sendo que a Empresa E efetua Triagem de embalagens de Vidro.

Nas cinco empresas analisadas, as espécies de bactérias e fungos viáveis encontradas em elevadas concentrações nas amostras de ar na Zona Crítica (ZC) foram igualmente identificadas na Zona Não Crítica (ZNC) e no Ponto de Controlo (PC), mas em concentrações menores.

A microflora ambiental referente a microrganismos viáveis na triagem de resíduos (ZC) foi na sua maioria constituída por fungos. Assim, de seguida, iremos comparar, no cômputo geral, as empresas em estudo.

Na Empresa A, a média das contagens totais de fungos ($1,7 \times 10^4$ ufc/m³) foi 22 vezes superior à média das contagens totais de bactérias ($7,7 \times 10^2$ ufc/m³); na Empresa B, a média das contagens totais de fungos ($1,8 \times 10^4$ ufc/m³) foi 39 vezes superior à média das contagens totais de bactérias ($4,6 \times 10^2$ ufc/m³); na Empresa C a média das contagens totais de fungos ($1,1 \times 10^4$ ufc/m³) foi 11 vezes superior à média das contagens totais de bactérias ($9,8 \times 10^2$ ufc/m³); na Empresa D a média das contagens totais de fungos ($2,0 \times 10^4$ ufc/m³) foi 20 vezes superior à média das contagens totais de bactérias ($9,9 \times 10^2$ ufc/m³) e na

Empresa E a média das contagens totais de fungos ($1,5 \times 10^4$ ufc/m³) foi 3 vezes superior à média das contagens totais de bactérias ($5,1 \times 10^3$ ufc/m³).

Assim, a Empresa D apresentou as contagens médias de bactérias e fungos viáveis mais elevadas ($9,9 \times 10^2$ ufc/m³ e $2,0 \times 10^4$ ufc/m³, respetivamente), comparando com as quatro empresas dedicadas à Triagem de Papel e Embalagens, apesar do valor máximo referente à contagem total de bactérias e fungos viáveis ter sido identificado na Empresa C ($2,6 \times 10^3$ ufc/m³ e $2,8 \times 10^4$ ufc/m³), respetivamente. No entanto comparando com a Empresa E (Triagem de Vidro), esta apresentou contagens médias de bactérias superiores ($5,1 \times 10^3$ ufc/m³).

Na Empresa D, onde se verificaram concentrações mais elevadas de fungos e bactérias viáveis, a nave de triagem das diferentes fileiras de resíduos não possui qualquer sistema de ventilação ou climatização, onde é realizada a triagem grosseira de papel; triagem manual de embalagens, papel, enfiamento e a triagem mecânica de embalagens metálicas aço e alumínio. Pelo exposto, as medidas preventivas podem passar pela substituição dos processos manuais, através por exemplo, da pré-seleção mecânica, instalação de cabines de triagem com ventilação eficiente e exaustão localizada nas linhas (atmosfera controlada através de filtros de ar particulado de alta eficiência – filtros HEPA ou ar condicionado) ou mesmo o confinamento das áreas críticas (fontes emissoras de aerolisados) das outras áreas de trabalho, a título de exemplo mediante aplicação de portas de fecho automático (EU-OSHA, 2007), nunca esquecendo que deve ser dada prioridade à implementação de medidas de proteção coletiva, em detrimento de medidas de proteção individual (EU-OSHA, 2007).

Efetuada uma comparação entre as espécies de bactérias isoladas nas quatro empresas dedicadas à triagem de papel e embalagens (Empresas A, B, C e D) verificou-se a prevalência de espécies pertencentes aos géneros *Bacillus* spp., bem como *Staphylococcus* coagulase negativa, em todas as zonas estudadas. No que respeita aos resultados referentes às amostragens ambientais, foram identificadas espécies pertencentes aos géneros do grupo 2 (Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998) no interior e exterior das empresas monitorizadas: *Corynebacterium*; *Enterobacter*; *Enterococcus*; *Gardnerella*; *Klebsiella*; *Pseudomonas* e *Streptococcus*.

A presença de níveis elevados de bioaerossóis resulta frequentemente da colonização natural da matéria orgânica presente no local de trabalho (Oppliger, 2014). Foi igualmente aludido que a presença no ar interior de microrganismos pertencentes aos grupos de risco 3 e 4 da Diretiva 2000/54/CE da Comunidade Europeia (por exemplo, *Mycobacterium tuberculosis*, *Bacillus anthracis*, *Coxiella burnetii*), independentemente da sua concentração, seja sempre inadmissível e que resulte em ações preventivas (Gorny & Dutkiewicz, 2002).

Os estafilococos são habitantes naturais da pele e mucosas, embora também possam ser percussores de infeção se encontrarem portas de entrada (fissuras, feridas...). Os sintomas

causados pela presença da bactéria *Staphylococcus aureus* vão desde pequenas infecções em que a pele apresenta sinais de vermelhidão e inflamação ao redor da ferida (furúnculos ou borbulhas), a infecções graves como infecções no sistema urinário, incluindo insuficiência renal, pneumonia, infecções no sangue, síndrome tóxico orgânico (falência multiorgânica) e até mesmo a morte. As consequências para a saúde em casos graves podem incluir febre, letargia e dor de cabeça (EU-OSHA, 2007).

Nas quatro empresas dedicadas à triagem de papel e embalagens verificou-se a predominância das espécies fúngicas *Aspergillus niger* e do género *Penicillium* spp. em todas as áreas estudadas. No entanto, foi possível verificar a presença de espécies distintas na ZC, em comparação com a ZNC e PC, reforçando os resultados do estudo de Madsen et al. que reporta *Penicillium* como sendo o género de fungos presente em aerossóis gerados durante o tratamento de resíduos (Madsen et al., 2016).

Com o presente estudo, verificou-se uma exposição considerável a bactérias e fungos viáveis (10^3 e 10^4 ufc/m³). A exposição a bactérias variou de 10^2 a 10^3 ufc/m³, sendo que a exposição a fungos variou entre 10^1 a 10^4 ufc/m³.

No setor de gestão de resíduos, os fungos ambientais colonizam e crescem na matéria orgânica sem qualquer controlo humano. Estes desempenham um papel importante na decomposição da mesma e estão fortemente envolvidos no tratamento de resíduos (Oppliger & Duquenne, 2016). A emissão de aerossóis de natureza fúngica durante operações de reciclagem de resíduos foi relatada em vários estudos. A concentração média ambiental de fungos sob a forma de aerossol em centros de triagem Coreanos foi estimada em $1,8 \times 10^4$ ufc/m³ (Oppliger & Duquenne, 2016). Estes valores enquadram-se nos obtidos com a presente investigação, onde na triagem de resíduos se obtiveram contagens totais de fungos de 20,0 a $2,8 \times 10^4$ ufc/m³. Outro estudo realizado em duas centrais municipais de tratamento de resíduos sólidos na Finlândia revelou concentrações ambientais de 470 a $2,9 \times 10^5$ ufc/m³ para fungos cultiváveis (Oppliger & Duquenne, 2016).

Nas unidades de resíduos sólidos indiferenciados é espectável que a concentração microbiana seja relativamente superior em comparação às unidades de triagem de resíduos pré-seleccionados. No entanto, foi possível verificar que a carga microbiana nos locais de trabalho dedicados à triagem de resíduos das empresas estudadas foi ligeiramente inferior em relação à triagem de resíduos sólidos não separados na origem (Oppliger & Duquenne, 2016).

A exposição a bioaerossóis durante a recolha e transporte de resíduos em Copenhaga, Dinamarca, foi estudada por Madsen, Alwan, Ørberg, Uhrbrand e Jørgensen (Madsen et al., 2016). Os autores descreveram que a concentração média de espécies bacterianas obtidas através de amostras pessoais foi de 115 ufc/m³ de ar, enquanto a concentração média de espécies fúngicas encontradas em amostras foi de 1123 ufc/m³.

Outro estudo, realizado em Hämeenlinna, Finlândia, reportou concentrações de fungos mesofílicos na unidade de triagem visual de resíduos entre 153 000 a 290 000 ufc/m³ (média 220 000 ufc/m³) e 17 300 a 220 000 ufc/m³ de bactérias (média de 68 900 ufc/m³). (Lehtinen, Tolvanen, Nivukoski, Veijanen, & Hänninen, 2013). Estes resultados contradizem os aferidos no presente estudo, onde a concentração média de espécies bacterianas foi de 120 a 8 300 ufc/m³ de ar (média de 1 209 ufc/m³), sendo a contagem média de espécies fúngicas de 20 a 28 020 ufc/m³ (média de 16 414 ufc/m³).

A Agência britânica Health and Safety Executive, num estudo desenvolvido em 2013, identificou a existência de exposição significativa a bactérias e fungos entre 10⁴ e 10⁵ ufc/m³. A exposição a bactérias variou de 10³ a 10⁵ ufc/m³ e 102 exposições foram >10⁴ ufc/m³ enquanto que a exposição aos fungos variou de 10² a 10⁵ ufc/m³ e 113 foram >10⁴ ufc/m³. Estes níveis são 10 vezes superiores às concentrações normalmente encontradas no ar ambiente (10³ ufc/m³). Algumas exposições foram de uma ordem de magnitude maior, semelhante à carga orgânica em indústrias de animais e de aves de capoeira. As espécies identificadas de bactérias e fungos eram típicas daquelas geralmente encontradas em bioaerossóis incluindo bactérias *Bacillus* e fungos *Aspergillus fumigatus*, sendo esta última associada à compostagem de materiais e reconhecida como um alérgeno.

Efetuando uma análise por fileira de triagem de resíduos verificou-se que a microflora ambiental na Triagem de Papel foi maioritariamente constituída por fungos. Na Empresa A, a média das contagens totais de fungos (4,2x10³ ufc/m³) foi 8 vezes superior à média das contagens totais de bactérias (5,1x10² ufc/m³); na Empresa B, a média das contagens totais de fungos (1,9x10⁴ ufc/m³) foi 42 vezes superior à média das contagens totais de bactérias (4,5x10² ufc/m³); na Empresa C a média das contagens totais de fungos (9,4x10³ ufc/m³) foi 9 vezes superior à média das contagens totais de bactérias (1,0x10³ ufc/m³) e na Empresa D a média das contagens totais de fungos (2,0x10⁴ ufc/m³) foi 20 vezes superior à média das contagens totais de bactérias (1,0x10³ ufc/m³).

A Empresa D apresentou as contagens médias de bactérias e fungos viáveis mais elevadas (1,0x10³ ufc/m³ e 2,0x10⁴ ufc/m³, respetivamente), em comparação com as restantes empresas que efetuam Triagem de Papel, apesar do valor máximo referente à contagem total de bactérias e fungos viáveis ter sido identificado na Empresa C (2,6x10³ ufc/m³ e 2,8x10⁴ ufc/m³), respetivamente.

No que concerne à comparação entre as espécies bacterianas isoladas verificou-se a prevalência, nas quatro empresas, na Triagem de Papel (ZC), de espécies pertencentes aos géneros *Bacillus* spp., bem como *Staphylococcus coagulase* negativa.

No que respeita à caracterização da microflora fúngica, os géneros fúngicos prevalentes na Triagem de Papel foram *Penicillium* spp. e *Aspergillus niger*, dominantes em todos os pontos

de colheita. Em todas as empresas, o género fúngico com média aritmética superior foi *Penicillium spp.*

Relativamente à triagem de embalagens, em todas as empresas, observou-se que as médias das contagens totais de bactérias e fungos viáveis na ZC foram superiores às contagens médias obtidas no PC e na ZNC. No caso particular em estudo verificou-se a existência de diferenças significativas entre a ZC; ZNC e PC ($p < 0,05$), como seria expectável, atendendo à existência de contaminações mais acentuadas nos postos de trabalho afetos à Triagem de Embalagens.

Na zona crítica da Empresa A, a média das contagens totais de fungos ($1,9 \times 10^4$ ufc/m³) foi 23 vezes superior à média das contagens totais de bactérias ($8,2 \times 10^2$ ufc/m³). Na Empresa B, a microflora ambiental da ZC – Triagem de Plástico foi maioritariamente constituída por fungos. Esta relação foi mais significativa nesta empresa, uma vez que a média das contagens totais de fungos foi 38 vezes superior à média das contagens totais de bactérias ($1,8 \times 10^4$ ufc/m³ e $4,7 \times 10^2$ ufc/m³, respetivamente).

A tendência referida anteriormente foi igualmente verificada nos postos de trabalho dedicados à Triagem de Embalagens das Empresas C e D. A flora microbiana foi maioritariamente constituída por fungos, sendo que na empresa C a média das contagens totais de fungos ($1,5 \times 10^4$ ufc/m³) foi 17 vezes superior à média das contagens totais de bactérias ($8,7 \times 10^2$ ufc/m³); e a média das contagens totais de fungos na Empresa D ($2,0 \times 10^4$ ufc/m³) foi 21 vezes superior à das contagens totais de bactérias ($9,5 \times 10^2$ ufc/m³).

Como referido anteriormente, a inexistência de setorização na nave de triagem e armazenamento dos resíduos, na Empresa D, associada à ausência de sistemas de ventilação artificial e/ou localizada poderá explicar a predominância das contagens médias de bactérias e fungos viáveis observadas. No entanto, constatou-se que as restantes empresas apresentaram médias de contagens de fungos viáveis na mesma ordem de grandeza (10^4 ufc/m³).

A presença de bastonetes formadores de endósporos foi bastante frequente, sendo usualmente identificadas espécies pertencentes ao género *Bacillus*. Em todos os locais dedicados à Triagem de Embalagens (ZC) foram isoladas as espécies *Bacillus cereus*. Entre os cocos Gram (+), os mais representados na microflora ambiental da ZC das empresas alvo de estudo foram estafilococos coagulase negativa, seguidos de espécies pertencentes ao género *Micrococcus*, agentes da população microbiana normal da pele e mucosas.

Assim, *Staphylococcus*, *Bacillus* e *Micrococcus* foram previamente encontrados como géneros bacterianos mais predominantes no ar numa estação de Triagem de Embalagens de resíduos (Madsen et al., 2016), tal como nas unidades de triagem de resíduos estudadas.

Salienta-se as espécies do género *Enterobacter*, preeminente em todas as instalações analisadas, por se encontrarem classificadas no grupo 2 (Ministérios da Saúde e do Trabalho

e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998).

No que respeita à caracterização da microflora fúngica das empresas dedicadas à triagem de plástico, *Penicillium* spp. e *Aspergillus niger* foram dominantes em todos os pontos de colheita. Em todas as empresas, o género fúngico com maior média aritmética foi *Penicillium* spp.

A ZC da Empresa D apresentou maior concentração média de fungos, sendo que além dos géneros referenciados anteriormente, foram isoladas espécies patogénicas pertencentes ao grupo 2 da classificação dos agentes biológicos (*Trichophyton* spp. e *Trichophyton equinum*) na ZNC e PC (Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998).

As diferenças das concentrações médias de totais de bactérias e fungos encontradas em amostras de ar nas triagens de papel e embalagens, nas quatro instalações, não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$), excetuando as concentrações médias de fungos, na Empresa A ($p < 0,05$). Nesta empresa as contagens de fungos encontradas na Triagem de Plástico foram significativamente superiores do que as contagens observadas na Triagem de Papel ($p = 0,042$).

Segundo os autores Schlosser, Déportes, Facon, & Fromont, 2015 os níveis de exposição pessoal nas áreas de triagem rondava as 13 000 ufc/m³ para fungos e 1800 ufc/m³ para bactérias nas quatro instalações de triagem de plástico, obtidos em seis campanhas de amostragem, o que vai ao encontro à contaminação ambiental fúngica avaliada nas quatro instalações analisadas (18 370 ufc/m³).

Num estudo desenvolvido na Alemanha, foram aferidas exposições máximas individuais a fungos de $1,8 \times 10^6$ ufc/m³ durante a triagem e reciclagem de papel e cartão e, $3,2 \times 10^6$ ufc/m³ aquando a triagem e reciclagem de resíduos plásticos (Oppliger & Duquenne, 2016). A contaminação ambiental reportada por Oppliger & Duquenne foi superior à contaminação ambiental da ZC – Triagem de Papel (máximo de $2,8 \times 10^4$ ufc/m³) na Empresa C e na Triagem de Embalagens de plástico (máximo de $2,5 \times 10^4$ ufc/m³) na Empresa D.

Na Triagem de Vidro observou-se que as médias das contagens totais de bactérias e de fungos viáveis na ZC foram sempre superiores às contagens médias obtidas no PC e ZNC, demonstrando a amplitude de bioaerossóis nos postos de trabalho dedicados à triagem da referida empresa. Os valores obtidos na zona crítica (Triagem manual de vidro) apresentaram contagens totais de fungos entre $5,6 \times 10^2$ ufc/m³ e $2,5 \times 10^4$ ufc/m³, variando as contagens totais de bactérias entre $1,4 \times 10^3$ ufc/m³ e $8,3 \times 10^3$ ufc/m³. A microflora ambiental referente a microrganismos viáveis foi maioritariamente constituída por fungos. Apesar da contagem média de fungos no PC ser superior ($2,9 \times 10^3$ ufc/m³), efetuando

comparação com os valores avaliados na ZNC, também foi possível observar valores médios de $1,3 \times 10^3$ ufc/m³.

Outros níveis ambientais foram relatados num estudo, realizado durante a reciclagem de garrafas de vidro no Canadá, onde a exposição individual aos fungos cultiváveis situava-se entre $4,8 \times 10^3$ e $1,0 \times 10^5$ ufc/m³ (Oppliger & Duquenne, 2016), corroborando os resultados do presente estudo, que mostraram contagens médias de fungos viáveis de $1,5 \times 10^4$ ufc/m³ com concentrações mínimas e máximas de $5,6 \times 10^2$ e $2,5 \times 10^4$ ufc/m³, respetivamente.

A manipulação do casco no exterior e o seu armazenamento, poderá facilitar a formação e dispersão de aerossóis biológicos, contribuindo para o aumento da contagem total de fungos no PC e conseqüentemente na ZC, facilitando a proliferação dos mesmos.

No que diz respeito à flora bacteriana identificada nas operações de Triagem de Vidro, a espécie com maior realce foi *Staphylococcus coagulase negativa*. É de enfatizar que a microflora bacteriana da ZC foi maioritariamente constituída por bactérias Gram (-), possíveis produtoras de endotoxinas. Destacam-se os géneros *Proteus* e *Enterobacter*, tal como, as espécies *Klebsiella pneumoniae* spp. *pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* por se encontrarem classificados no grupo 2 (Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social., 1998; Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social, 1998).

Relativamente à flora fúngica, verificou-se que as amostras interiores da ZNC e do exterior (PC) apresentaram *Cladosporium* spp. como um dos géneros predominantes, conjuntamente com *Penicillium* spp. (n=12), enquanto nas amostras de interior na ZC, o género *Penicillium* spp. (n=11) foi dominante relativamente à contagem total de fungos. Esta tendência foi igualmente verificada, por Lehtinen et al. referindo como espécie fúngica mais comum no ar o *Penicillium* (Lehtinen et al., 2013).

No estudo de Krieg et al, em todos os locais analisados, o número de bactérias mesófilas e fungos filamentosos excedeu 10^4 ufc/m³ de ar (Krieg, N. R., Bergey, D. H., & Holt, 2015). Krieg reportou igualmente a contaminação por vários microrganismos potencialmente perigosos para a saúde humana: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*, bem como bactérias *Pseudomonas*. O número de microrganismos isolados nos aerossóis microbiológicos encontravam-se dependentes da estação do ano, das condições meteorológicas e da localização da amostra de ar. O ar mais contaminado (em termos do número de microrganismos) foi detetado nos dois pontos do interior da sala de armazenamento e processamento de resíduos. O presente estudo denotou também a presença de bactérias patogénicas, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus* spp., que foram encontradas em amostras de ar.

A espécie bacteriana potencialmente perigosa para a saúde humana - *Enterococcus faecium* foi isolada numa medição na Empresa C na ZC - Triagem de Papel e numa medição na Empresa D na ZC - Triagem de Embalagens. A espécie *Pseudomonas aeruginosa*, considerada um patógeno ambiental, foi isolada em duas medições na Empresa B na ZC - Triagem de Embalagens e numa medição na Empresa D na mesma área. Na Empresa E as mesmas espécies foram encontradas na ZC - Triagem de Vidro e na ZNC. As bactérias patogénicas *Staphylococcus* spp. foram detetadas nas diferentes áreas das diversas empresas.

A concentração de bactérias de espécies patogénicas *Staphylococcus* spp. verificada na ZC da Empresa A foi significativamente maior do que a concentração de bactérias encontradas no PC ($p=0,001$), como se pode verificar na Tabela 10.

Enterococcus, particularmente *E. faecalis* e *E. faecium*, apresentam-se como uma das principais causas de infeções nosocomiais, do sistema urinário e feridas infetadas, sendo os estafilococos coagulase negativa a terceira causa mais comum de infeções nosocomiais (Kramer et al., 2006).

Da exposição a fontes emissoras de aerossóis contaminados podem emergir algumas doenças da pele (dermatite ocupacional); infeções (hepatite), leptospirose e tétano; vírus transmitidos pelo sangue causados pela exposição a agentes biológicos, como sangue ou fluidos corporais, ou qualquer material potencialmente infeccioso (HSE, 2007).

Doenças como pneumonia; broncopneumonia; meningite (a bactéria pode invadir o hospedeiro pela mucosa nasal); septicemia (se a bactéria conseguir alcançar a corrente sanguínea e aí se desenvolver) e infeções respiratórias altas (otites, sinusites e conjuntivites) são frequentemente causadas por *Streptococcus pneumoniae* ou *pneumococcus*.

Segundo a European Agency for Safety and Health at Work, não sendo possível eliminar os riscos que representam os agentes biológicos nas atividades relacionadas com os resíduos, a medida de prevenção mais eficiente é reduzir a produção de poeiras e aerossóis no local de trabalho. As medidas de prevenção coletiva (através da implementação de sistemas de ventilação e exaustão eficazes) e os planos de higiene também podem reduzir consideravelmente a exposição dos trabalhadores (EU-OSHA, 2007), comutativamente com a formação dos trabalhadores, atores principais na prossecução de boas práticas.

Os resultados dos diferentes estudos são de difícil comparação. Na verdade, existe uma grande variedade de métodos distintos utilizados para colher e analisa recolha e análise de bactérias e fungos aerolisados e os resultados podem ser variáveis, dependendo da metodologia. A recolha de fungos e bactérias aéreas é baseada na impactação ou filtração. Assim, o desenvolvimento de padrões internacionais seria um passo importante por forma a permitir a comparação confiável entre diferentes cenários de exposição ocupacional (Goyer

et al., 2001). A primeira etapa deverá passar pelo conhecimento das diferentes formas de exposição aos agentes biológicos.

No entanto, é de realçar que o número de amostragens realizadas para cada triagem de resíduos (papel, embalagens e vidro) foi díspar devido às diferenças entre as empresas estudadas em cada uma das fileiras. Poucos estudos fornecem orientações sobre o número de amostras necessárias para caracterizar a contaminação microbiológica do ar num determinado ambiente, não sendo consensual a caracterização da dimensão da amostra. Portanto, o risco biológico no trabalho requer uma abordagem complexa em relação à avaliação e gestão de riscos profissionais, dificultada pela grande variedade de agentes biológicos, ambientes e técnicas de trabalho que podem determinar a sua exposição (Corra, Mazzotta, La Torre & De Giusti, 2012; EU-OSHA, 2010).

Avaliação de superfícies e manipuladores

Em relação às superfícies foram selecionados para amostragem os locais onde o contacto é mais frequente, de forma a caracterizar o cenário mais crítico de contaminação, aferindo se a contaminação bacteriana e fúngica das mesmas pode representar um fator de risco para os trabalhadores.

A avaliação da contaminação microbiológica das mãos dos operadores revelou que as mesmas se encontraram colonizadas por diferentes espécies de bactérias e fungos, sendo a média das contagens totais de bactérias ($2,0 \times 10^4$ ufc/dm²), 7 vezes superior à média das contagens totais de fungos ($2,7 \times 10^3$ ufc/dm²).

Em relação à avaliação da contaminação microbiológica das superfícies ou fmites, constatou-se que a torneira das instalações sanitárias (IS)/balneários apresentou maior prevalência de espécies bacterianas ($1,3 \times 10^4$ ufc/dm²), ao passo que a ZC apresentou maior preeminência de espécies fúngicas ($2,2 \times 10^4$ ufc/m³).

Pelo exposto, verificou-se que a média aritmética das contagens totais de bactérias nos manipuladores foi oito vezes superior à contaminação na ZC (média aritmética das contagens totais de $2,6 \times 10^3$ ufc/m³).

Efetuada a mesma análise por empresa verificou-se na Empresa A que a contaminação microbiológica dos manipuladores ($1,0 \times 10^4$ ufc/dm²) apresentou contagens médias de bactérias muito superiores comparativamente às superfícies analisadas e ao ar na ZC ($8,2 \times 10^2$ ufc/m³). No entanto, esta tendência inverte-se quando comparada com a contaminação fúngica na ZC muito superior às superfícies (10^4 ufc/m³). Na Empresa B a contagem média de bactérias totais foi muito superior nos manipuladores. O constatado pode ser reflexo de realização de procedimentos de limpeza e higienização com periodicidade

pré-definida ao longo da jornada de trabalho e/ou semanal como o referido na caracterização da amostra do presente estudo.

Na Empresa C a contaminação bacteriana mais relevante encontrou-se plasmada nas mãos dos operadores ($3,5 \times 10^4$ ufc/dm²) seguida das torneiras das IS/balneários ($1,9 \times 10^4$ ufc/dm²) o que pode ser revelador da importância da existência de toneiras de acionamento não manual para a prevenção de contaminação biológica das superfícies de contacto pelos manipuladores aquando a lavagem e desinfeção das mãos. O mesmo se pode observar na Empresa D, onde as torneiras das instalações sanitárias/balneários apresentaram contagens aritméticas de bactérias e fungos viáveis muito superiores em relação às outras superfícies de contacto.

Por sua vez na Empresa E, as contagens médias de bactérias foram igualmente superiores nos manipuladores ($1,8 \times 10^4$ ufc/dm²).

O género de bactérias mais frequente nas superfícies de todas as empresas foi o *Staphylococcus*, tendência igualmente verificada na ZC e nas mãos dos trabalhadores. Foram igualmente isoladas espécies coagulase negativa e coagulase positiva. Relativamente, aos fungos o género *Penicillium* foi o mais preponderante.

As superfícies inanimadas são frequentemente fonte de surtos de infeções nosocomiais, decorrentes da presença de diferentes agentes patogénicos em superfícies inanimadas.

A persistência destes agentes foi evidente nas diferentes superfícies. A maioria das bactérias Gram (+), como *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* ou *Streptococcus*, sobrevivem por meses em superfícies secas. Espécies como *Acinetobacter* spp., *Klebsiella* spp. ou *Pseudomonas aeruginosa*, também podem sobreviver durante meses. Outras, como *Proteus vulgaris* ou *Vibrio*, persistem apenas por dias, em superfícies (Kramer et al., 2006). No entanto, patogénicos fúngicos podem sobreviver até 4 meses em superfícies, como algumas espécies pertencentes aos géneros *Candida*.

Todos os microrganismos aerolisados descritos anteriormente foram identificados nas superfícies estudadas.

A carga fúngica em indústrias de resíduos foi abordada por Carla Viegas et al onde a quantificação fúngica no ar variou de 180 a 5 280 ufc/m³ antes dos procedimentos de limpeza e de 220 a 2 460 ufc/m³ após os procedimentos. As superfícies apresentaram resultados que variaram de 29×10^4 a 109×10^4 ufc/m² antes da limpeza e de 11×10^4 a 89×10^4 ufc/m² após as práticas de higienização, revelando a ineficácia dos procedimentos de limpeza e a importância determinar a carga fúngica para a realização da avaliação de risco (Viegas et al., 2015).

Planos de higienização, procedimentos de limpeza e medidas de descontaminação regulares e manutenção periódica contribuem igualmente para uma redução considerável de exposição dos trabalhadores (EU-OSHA, 2007).

As medidas de proteção de índole individual devem ser acompanhadas de medidas rigorosas de higiene pessoal de forma a reduzir os efeitos adversos da exposição aos bioaerossóis na pele e no sistema respiratório. Por conseguinte, os trabalhadores devem adotar boas práticas como lavagem frequente das mãos durante o trabalho, antes das pausas e quando utilizam as instalações sanitárias; evitar o contacto mão-boca ou mão-olhos; manter as unhas curtas; tratar e proteger adequadamente qualquer corte ou lesão; guardar o vestuário de trabalho e os pertences pessoais em cacifos duplos; o vestuário de trabalho e o calçado deve permanecer no local de trabalho e os trabalhadores devem tomar banho no final da jornada de trabalho (Goyer et al., 2001; HSE, 2007).

6

CONCLUSÃO

Com o presente estudo, desenvolvido na área da Saúde Ocupacional, foram alcançados os seguintes objetivos: identificação e quantificação da exposição a bactérias e fungos (exposição ambiental); identificação e quantificação de microrganismos em superfícies e mãos dos operadores (exposição de contacto); conhecimento da relação entre as bactérias e fungos isolados nos locais de trabalho e os isolados nas superfícies e, ainda, conhecimento da relação entre os microrganismos isolados nas superfícies e os isolados nas mãos dos trabalhadores.

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que existe contaminação ambiental por agentes biológicos (bactérias e fungos) nos locais de trabalho das indústrias de triagem de resíduos. Nas cinco empresas analisadas, as espécies de bactérias e fungos viáveis identificadas nas amostras ambientais na ZC também foram identificadas em concentrações menores na ZNC e no PC. A exposição ocupacional a microrganismos viáveis foi díspar nas empresas estudadas, possivelmente influenciada pelo tipo de resíduo a triar, sendo o setor da Triagem de Vidro o que revelou ser o mais crítico.

A carga microbiana dos setores dedicados à triagem de resíduos foi maritariamente constituída por fungos, com predomínio do género *Penicillium* spp. No que respeita à caracterização bacteriológica das amostras ambientais, verificou-se a preeminência de *Staphylococcus* spp. (coagulase negativa) e *Bacillus* spp. nos setores dedicados à triagem.

No que concerne à avaliação da contaminação microbiológica das superfícies ou fomites, constatou-se a predominância de bactérias, destacando-se o género *Staphylococcus* e quanto à microflora fúngica, observou-se maior prevalência do género *Penicillium*. As mãos dos operadores encontravam-se predominantemente colonizadas por bactérias, apresentando igualmente contaminação de *Staphylococcus*.

Os microrganismos identificados foram na sua maioria não classificados (NC) de acordo com a Portaria n.º 405/98, de 11 de julho e a Portaria n.º 1036/98, de 15 de dezembro, tendo sido isoladas microrganismos pertencentes ao grupo 2.

Os resultados decorrentes desta investigação reforçam a necessidade da implementação de medidas preventivas ambientais, nomeadamente, controlo da exposição ocupacional a

agentes biológicos através da implementação de programas de vigilância ambiental no âmbito da contaminação bacteriana e fúngica, permitindo o conhecimento das formas de transmissão destes microrganismos e da variabilidade da flora em diversos ambientes. Paralelamente, urge a implementação de medidas corretivas adequadas e imediatas, desde medidas de engenharia e organizacionais, assim como medidas de proteção coletiva acrescidas pela instalação de medidas de índole individual, conjugadas com a existência de planos de formação específicos.

Assim, recomenda-se a adoção de procedimentos de lavagem e desinfecção eficazes, de modo a minimizar a contaminação microbiológica das superfícies; identificação precoce da infecção nos operadores através da realização de colheitas biológicas periódicas, inseridas num protocolo de vigilância da saúde ocupacional, bem como, a formação e informação dos trabalhadores para a aplicação de medidas de higiene pessoal e coletiva.

O risco biológico pode ser considerado um risco em evolução, tanto nos locais de trabalho com tecnologias modernas como em ambientes de trabalho tradicionais. Além disso, o risco emergente está amplamente documentado na maioria dos locais de trabalho tradicionais (Corra et al., 2012).

E, parafraseando o Diretor-Geral da OMS, já em 2003, "Nós todos nadamos num único mar microbiano".

7

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abelho, M. (2010). Manual de monitorização microbiológica ambiental Manual de monitorização microbiológica ambiental, 1–20.
- Agência Europeia para a Segurança e a Saúde no Trabalho. (2003). FACTS - Agentes biológicos.
- Ansari, A., Springthorpe, S., Sattar, S., Rivard, S., & Rahman, M. (1991). Potential role of hands in the spread of respiratory viral infections: studies with human parainfluenza virus 3 and rhinovirus 14. *Journal of Clinical Microbiology*, 29(10), 2115–9.
- Corra, C. R. N., Mazzotta, A., La Torre, G., & De Giusti, M. (2012). Biological risk and occupational Health. *Industrial Health*, 50(4), 326–337. <https://doi.org/10.2486/indhealth.MS1324>
- Correia, M. dos S. (2004). *Resíduos*. (IDICT, Ed.). Lisboa.
- EU-OSHA. (2010). Risk assessment for biological agents. *European Agency for Safety and Health at Work*, 1–14. Retrieved from <http://osha.europa.eu>
- EU-OSHA (European Agency for Safety and Health at Work). (2007). *Expert forecasts on emerging biological risks related to occupational safety and health*. <https://doi.org/ISSN1830-5946>
- European Agency for Safety and Health at Work. (2007). *Expert forecast on Emerging Biological Risks related to Occupational Safety and Health. Sperimentale*.
- Franco, H., Cano, M., Brum, L., Jos, M., Pires, L., Silva, S., ... Neto, M. (2004). DIRECÇÃO-GERAL DA SAÚDE Divisão de Saúde Ocupacional 30 de Junho de 2004 LISBOA Com a colaboração de : ii.
- Gorny, R. L., & Dutkiewicz, J. (2002). Bacterial and fungal aerosols in indoor environment in Central and Eastern European countries. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 9(1).
- Goyer, N., Lavoie, J., Lazure, L., & Marchand, G. (2001). *Bioaerosols in the workplace: Evaluations, Control and Prevention Guide*. Québec.
- Guedes, A. (2006). Agentes biológicos no trabalho: Perigos ocultos! *Instituto Para a Segurança, Higiene E Saúde No Trabalho.*, 1–3.
- Guedes, A. B. (2008). Agentes biológicos no trabalho: Perigos ocultos! *Autoridade Para as Condições de Trabalho*, 97–99.
- HSE. (2007). Health and hazardous substances in waste and recycling, 1–15.

- HSE (Health and Safety Executive). (2013). RR977 - Occupational Hygiene implications of processing waste at Materials Recycling Facilities (MRFs): Exposure to bioaerosol and dust.
- Kramer, A., Schwebke, I., & Kampf, G. (2006). How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infectious Diseases*, 6, 130. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-6-130>
- Krieg, N. R., Bergey, D. H., & Holt, J. G. (2015). Assessment of the Microbiological Contamination of Air in a Municipal Solid Waste Treatment Company. *Ecol Chem Eng A.*, 22(2), 175–183. [https://doi.org/10.2428/ecea.2015.22\(2\)14](https://doi.org/10.2428/ecea.2015.22(2)14)
- L. Conceição Freitas. (2011). *Manual de Segurança e Saúde do Trabalho*. (Robalo Manuel, Ed.) (2nd ed.). Lisboa.
- Lavoie, J., & Dunkerley, C. J. (2002). Assessing waste collectors' exposure to bioaerosols. *Aerobiologia*, 18(3–4), 277–285. <https://doi.org/10.1023/A:1021381826042>
- Lavoie, J., Dunkerley, C. J., Kosatsky, T., & Dufresne, A. (2006). Exposure to aerosolized bacteria and fungi among collectors of commercial, mixed residential, recyclable and compostable waste. *Science of The Total Environment*, 370(1), 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.05.016>
- Lehtinen, J., Tolvanen, O., Nivukoski, U., Veijanen, A., & Hänninen, K. (2013). Occupational hygiene in terms of volatile organic compounds (VOCs) and bioaerosols at two solid waste management plants in Finland. *Waste Management*, 33(4), 964–973. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2012.11.010>
- Madsen, A. M., Alwan, T., Ørberg, A., Uhrbrand, K., & Jørgensen, M. B. (2016). Waste Workers' Exposure to Airborne Fungal and Bacterial Species in the Truck Cab and during Waste Collection. *Annals of Occupational Hygiene*, 60(6), 651–668. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mew021>
- Ministério do Ambiente, do O. do T. e do D. R. (2006). Decreto-Lei n.º 178/2006, de 5 de setembro. *Director*, 1562–1571.
- Ministério para a Qualificação e o Emprego. (1997). Decreto-Lei 84/97, de 16 de Abril. In *Diário da República - I Série-A* (pp. 1702–1709).
- Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social. (1998). Portaria 405/98, de 11 de Julho. In *Diário da República - I Série-A* (pp. 3308–3314).
- Ministérios da Saúde e do Trabalho e da Solidariedade Social. (1998). Portaria n.º 1036/98, de 15 de Dezembro. In *Diário da República - I Série -B* (pp. 6835–6843).
- Oppliger, A. (2014). Advancing the science of bioaerosol exposure assessment. *Annals of Occupational Hygiene*, 58(6), 661–663. <https://doi.org/10.1093/annhyg/meu042>
- Oppliger, A., & Duquenne, P. (2016). Chapter 8 - Highly Contaminated Workplaces. *Environmental Mycology in Public Health*. Elsevier. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-411471-5.00008-9>
- Parlamento Europeu. (2000). Diretiva 2000/54/CE, de 18 de Setembro de 2000. In *Jornal Oficial das Comunidades Europeias* (p. L 262/21-44).
- Pinto, M. V. (2013). Perceção e risco de exposição ocupacional a agentes biológicos em centros de triagem de resíduos e aterro sanitário, 508.

- Português Parlamento. (2009). Decreto-Lei n.º 102/2009, de 10 de setembro - Regime Jurídico da Promoção da Segurança e Saúde no Trabalho. *Diário Da República / Official Journal of the Portuguese Republic*, 176, 6167–6192. Retrieved from <https://dre.pt/application/file/489947>
- Schlosser, O., Déportes, I. Z., Facon, B., & Fromont, E. (2015). Extension of the sorting instructions for household plastic packaging and changes in exposure to bioaerosols at materials recovery facilities. *Waste Management*, 46, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.05.022>
- Smith-Vaughan, H., Crichton, F., Beissbarth, J., Morris, P. S., & Leach, A. J. (2008). Survival of pneumococcus on hands and fomites. *BMC Research Notes*, 1, 4. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-1-112>
- Stetzenbach, L. D., Buttner, M. P., & Cruz, P. (2004). Detection and enumeration of airborne biocontaminants. *Current Opinion in Biotechnology*, 15(3), 170–174. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2004.04.009>
- Tang, J. W. (2009). The effect of environmental parameters on the survival of airborne infectious agents. *Journal of the Royal Society, Interface / the Royal Society*, 6 Suppl 6(September), S737-46. <https://doi.org/10.1098/rsif.2009.0227.focus>
- Uva, A. (2006). Avaliação e gestão do risco em Saúde Ocupacional: algumas vulnerabilidades. *Revista de Saúde Ocupacional*, 6, 6–14.
- Vasconcelos Pinto, M., Veiga, J. M., Fernandes, P., Ramos, C., Gonçalves, S., Vaz Velho, M., & Santos Guerreiro, J. (2015). Airborne Microorganisms Associated with Packaging Glass Sorting Facilities. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 78(11), 685–696. <https://doi.org/10.1080/15287394.2015.1021942>
- Viegas, C., Faria, T., dos Santos, M., Carolino, E., Gomes, A. Q., Sabino, R., & Viegas, S. (2015). Fungal burden in waste industry: an occupational risk to be solved. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(4). <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4412-y>

8

ANEXOS

ANEXO I

Tabela 1 – Avaliação do risco biológico (bactérias), na Zona Crítica (ufc/m³)

Agente Biológico	Zona Crítica			p-value
	Triagem de Papel	Triagem de Plástico	Triagem de Vidro	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de bactérias	(30) 896,00±755,63	(42) 774,76±436,31	(7) 5157,14±2380,01	<0,0001
<i>Bacillus</i> spp.	(25) 242,00±272,46	(36) 215,56±278,12	(7) 494,29±371,43	0,066
<i>Bacillus cereus</i>	(19) 140,00±135,01	(26) 86,15±90,29	(5) 336,00±230,39	0,022
<i>Bacillus subtilis</i>	(4) 235,00±200,91	(5) 40,00±20,00	(0)	0,133
<i>Bacillus licheniformis</i>	(3) 206,67±323,32	(2) 30,00±14,14	(0)	1,000
<i>Bacillus megaterium</i>	(3) 46,67±46,18	(4) 210,00±200,33	(0)	0,271
<i>Corynebacterium</i> spp.	(5) 130,00±170,59	(3) 253,33±190,09	(0)	0,177
<i>Enterobacter aerogenes</i>	(1) 150,00	(3) 113,33±113,72	(0)	0,655
<i>Enterobacter cloacae</i>	(0)	(4) 55,00±34,16	(1) 1580,0	0,157
<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumoniae</i>	(0)	(4) 55,00±57,46	(1) 300,00	0,147
<i>Micrococcus</i> spp.	(17) 267,06±373,09	(11) 114,55±113,17	(3) 1360,00±2061,36	0,188
<i>Pantoea agglomerans</i>	(2) 95,00±63,64	(4) 130,00±66,33	(0)	0,475
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(0)	(3) 26,67±11,54	(1) 20,00	0,564
<i>Staphylococcus coagulase</i> negativa	(29) 311,72±324,32	(39) 345,64±267,38	(5) 1648,00±3087,32	0,382

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*. Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni Corrigido.

Tabela 2 – Avaliação do risco biológico (fungos), na Zona Crítica (ufc/m³)

Agente Biológico	Zona Crítica			p-value
	Triagem de Papel	Triagem de Plástico	Triagem de Vidro	
	(n) M±DP	(n) M±DP	(n) M±DP	
Totais de fungos	(29) 14385,52±11121,25	(40) 18370,50±9011,95	(11) 14649,09±9417,98	0,509
<i>Aspergillus niger</i>	(23) 35,22±22,94	(33) 29,70±26,04	(9) 77,78±88,00	0,098
<i>Cladosporium</i> spp.	(13) 351,54±299,88	(9) 140,00±133,42	(3) 773,33±1069,08	0,139
<i>Penicillium</i> spp.	(29) 14155,86±11284,59	(39) 18777,95±20,00	(11) 14023,64±10021,64	0,165
<i>Rhotorula</i> spp.	(3) 26,67±11,55	(1) 20,00	(1) 2440,00	0,264

Legenda: n=N.º Amostras; M=Média; DP=Desvio Padrão. Testes: *Kruskal-Wallis*.