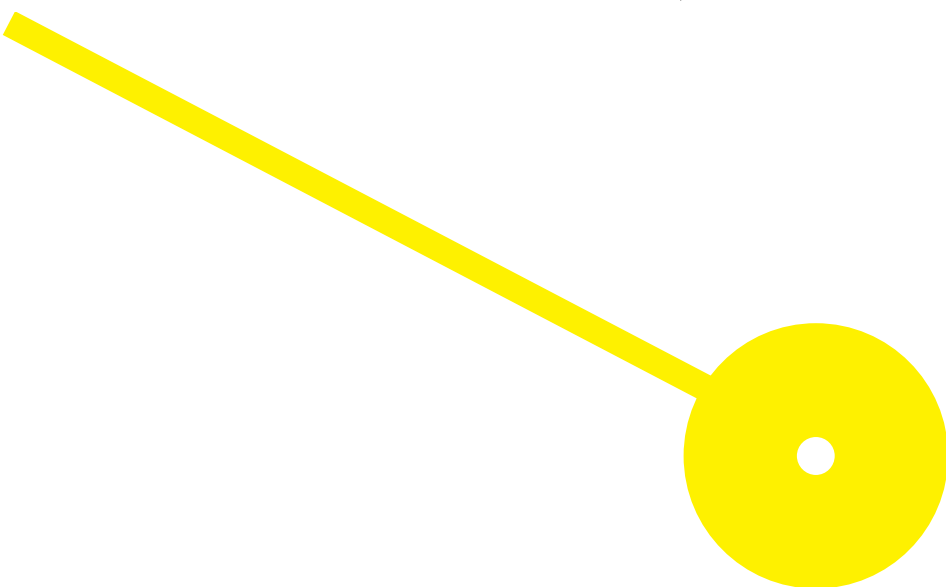




# Exposição a endotoxinas em Estações de Tratamento de Águas Residuais: Revisão sistemática

Francisca Inês da Rocha Mendes

07/2020



**P.PORTO**

**ESCOLA  
SUPERIOR  
DE SAÚDE**



**SNS** SERVIÇO NACIONAL  
DE SAÚDE



*Instituto* **Nacional de Saúde**  
*Doutor Ricardo Jorge*

## **Exposição a endotoxinas em Estações de Tratamento de Águas Residuais: Revisão sistemática**

**Autor**

Francisca Inês da Rocha Mendes

**Orientadores**

Doutora Cristiana Maria da Costa Pereira | Investigadora Auxiliar |  
Departamento de Saúde Ambiental | Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge  
Professora Doutora Sandra Marlene da Silva Mota | ESS|P.Porto

Dissertação apresentada para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de **Mestre em Análises Clínicas e Saúde Pública – Área de Especialização em Microbiologia e Saúde Pública** pela Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto.

## **Agradecimentos**

Gostaria de agradecer em primeiro lugar aos meus orientadores, à Doutora Cristiana Pereira, que esteve sempre disponível para as minhas muitas questões ou problemas, pelo acompanhamento e empenho no desenvolvimento deste trabalho e até por ter facultado a oportunidade de experimentarmos atividades práticas. Também à Professora Doutora Sandra Mota, pelo acompanhamento, disponibilidade e dedicação que demonstrou já desde o início do mestrado e, ainda mais nesta etapa final.

Também a todos os professores, em especial, a Professora Manuela Amorim por ter sido em diversos momentos incansável e pela dedicação que tem aos alunos e ao mestrado em geral.

Aos colegas de mestrado, sobretudo pela amizade e companheirismo e por terem tornado esta etapa tão mais fácil e prazerosa. Um especial agradecimento ao José Carlos Teixeira, pelo apoio incondicional, pela paciência, por envergar comigo em novas etapas e aventuras e por ter parte de todas as importantes.

À minha família pelo apoio em todos os momentos e escolhas.

E a todos que de alguma forma marcaram presença na vida académica e fora dela.

Agradeço a vossa disponibilidade, generosidade e o apoio, sobretudo neste momento.

## Resumo

As endotoxinas são componentes ubíquos no ambiente, sendo a principal forma de entrada no organismo humano a inalação. Estas podem desencadear uma reação inflamatória excessiva, que acarreta danos para o hospedeiro e inclusive podem conduzir à morte. Devido ao risco que podem representar, tem existido uma crescente preocupação relativa à sua presença em estações de tratamento de águas residuais (ETAR).

Como tal, foi realizada uma revisão sistemática de artigos selecionados da PubMed (n=29), através dos termos «*endotoxin in wastewater treatment plant*» e «*exposure*», para determinar os valores de exposição ocupacional nas ETAR, locais/tarefas de maior exposição e os danos que pode causar na saúde dos trabalhadores.

Não foi possível concluir acerca dos valores de exposição, pela diversidade obtida e pela variedade de fatores que a podem influenciar. Contudo, o tratamento da lama e tarefas de limpeza, foram os mais mencionados como sendo os de maior risco de exposição. Sintomas associados a endotoxinas foram sobretudo respiratórios e alterações da função pulmonar.

Esta exposição mostrou-se comum neste ambiente, sendo influenciada por diferentes fatores. Procedimentos que a previnam são importantes neste meio e métodos de diagnóstico precisos são requeridos para melhor avaliar os efeitos dessa exposição.

**Palavras-chave:** endotoxinas; inalação; ETAR; exposição ocupacional

## **Abstract**

Endotoxins are ubiquitous components in the environment and the main route of entrance into the human body is through inhalation. They can trigger an excessive inflammatory reaction, that cause damage to the host and even can lead to death. Due to the risk they can represent, there has been a growing concern regarding their presence in wastewater treatment plants (WWTP).

Therefore, a systematic review of selected articles from PubMed (n = 29) was performed, using the terms «endotoxin in wastewater treatment plant» and «exposure», to determine the occupational exposure values in the WWTP, locations/tasks of greatest exposure and the damage that can cause to worker's health.

It was not possible to conclude about the exposure values, due to the diversity obtained and the variety of factors that can influence it. However, sludge treatment and cleaning tasks were the most mentioned as those that represent the greatest risk of exposure. Symptoms associated to endotoxin exposure was mainly, respiratory and changes in lung function.

This exposure showed up to be common in this environment, being influenced by different factors. Procedures that prevent it are important in this environment and accurate diagnostic methods are required to better assess the effects of this exposure.

**Keywords:** endotoxins; inhalation; WWTP; occupational exposure

## Índice

Índice de abreviaturas e acrónimos .....	VI
Índice de figuras e tabela.....	VII
<b>1.</b> Introdução.....	1
<b>1.1.</b> Endotoxinas.....	1
<b>1.2.</b> Desintoxicação de endotoxinas:atuação do organismo humano.....	5
<b>1.3.</b> Mecanismos de ação de endotoxinas no organismo.....	7
<b>1.4.</b> Terapias para endotoxina.....	9
<b>1.5.</b> Fontes de exposição .....	10
<b>1.6.</b> Endotoxinas na matriz água.....	11
<b>1.7.</b> Contextualização do processo geral de tratamento de águas residuais numa estação de tratamento.....	12
<b>2.</b> Metodologia.....	18
<b>2.1.</b> Recolha de dados.....	18
<b>2.2.</b> Seleção.....	18
<b>3.</b> Resultados.....	20
<b>3.1.</b> Valores de exposição a endotoxinas na matriz ar.....	29
<b>3.2.</b> Áreas/tarefas de maior exposição.....	31
<b>3.3.</b> Sintomatologia dos trabalhadores de ETAR.....	32
<b>4.</b> Discussão.....	35
<b>5.</b> Conclusão.....	44
Referências Bibliográficas.....	46

## Índice de abreviaturas e acrónimos

AOAH	Aciloxiacil Hidrolase
ARB	Águas Residuais Brutas
ART	Águas Residuais Tratadas
CD14	<i>Cluster of differentiation 14</i>
DEAE	Celulose Dietilaminoetil-celulose
ETAR	Estação de Tratamento de Águas Residuais
IL-10	Interleucina 10
LBP	<i>Lipopolysaccharide Binding Protein</i>
LPS	Lipopolissacarídeos
MD2	<i>Myeloid Differentiation Factor 2</i>
m <sup>3</sup>	Metro cúbico
TLR4	<i>Toll-like receptor 4</i>
TNF	Fator de Necrose Tumoral, do inglês <i>Tumor Necrosis factor</i>
TREM2	<i>Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 2</i>
RAGE	Receptor para Produtos Finais de Glicação Avançada, do inglês <i>Receptor for Advanced Glycation Endproducts</i>
UE	Unidades de Endotoxina
UV	Ultravioleta

## Índice de figuras e tabela

<b>Figura 1</b> Ilustração da membrana de bactérias Gram-negativo e dos seus constituintes, nomeadamente lipopolissacarídeos e a sua estrutura.....	2
<b>Figura 2</b> Estrutura geral do lípido A. (R)Cadeia polissacarídea e estão assinalados (↓) os locais de ação da enzima AOA <sub>H</sub> (aciloxiacil hidrolase) (34). .....	6
<b>Figura 3</b> Representação esquemática do transporte sequencial dos LPS até ao complexo TL4/MD2.....	8
<b>Figura 4</b> Esquema das fases de tratamento de uma ETAR.....	14
<b>Figura 5</b> Esquema geral do processo de tratamento de águas residuais numa ETAR com tratamento preliminar, primário, secundário e terciário. A .....	15
<b>Figura 6</b> Esquema da revisão sistemática.....	19
<b>Tabela 1</b> Resumo da informação obtida na revisão sistemática.....	21

## 1. Introdução

Existe uma extensa variedade de microrganismos e produtos destes capazes de provocar doença em humanos, podendo até representar perigo para a vida de muitos indivíduos (1). Assim, não só os microrganismos podem provocar danos, mas também alguns dos seus produtos.

As endotoxinas são um tipo de toxinas capazes de causar doença. A exposição a estas é um acontecimento comum, sendo até provenientes das bactérias que compõem a flora intestinal normal. Ainda assim, a exposição a endotoxinas acontece usualmente em quantidades em que o organismo tem a capacidade de lidar. Contudo, em algumas situações, estas toxinas podem ultrapassar a capacidade de desintoxicação do organismo humano, provocando danos. Estas podem provocar reações pirogénicas e inclusive adquirir desfechos mais graves que incluem a morte(2–5).

A principal forma de exposição ocupacional a endotoxinas é através da inalação, podendo por esta via desencadear uma resposta inflamatória e danos subsequentes como diminuição da função pulmonar (6–8).

Assim sendo e devido à falta de conhecimento da relação dose/efeito (7), a melhor forma de evitar os potenciais danos causados por estas toxinas passa por prevenir ou diminuir a exposição. Para tal é importante perceber os principais locais onde ela ocorre e de que forma acontece de modo a ser mais facilmente controlável.

Devido à elevada contaminação microbiológica das águas residuais (9), as estações de tratamento destas águas (ETAR) são locais propícios a essa exposição. Isto significa que os seus trabalhadores estão potencialmente expostos a estas toxinas.

Deste modo, para melhor perceber a presença de endotoxinas na atmosfera de ETAR e conseqüentemente, determinar os níveis de exposição, assim como os locais/tarefas que representam maior risco e as conseqüências que pode representar para a saúde dos trabalhadores, foi realizada uma revisão sistemática de dados presentes na literatura.

### 1.1. Endotoxinas

As endotoxinas são um tipo de pirogénio, isto é, um tipo de substância proveniente de um microrganismo capaz de induzir febre, e são consideradas o pirogénio mais potente descrito atualmente (10). Estas moléculas não atuam, maioritariamente, de forma direta nas células ou órgãos, mas podem conduzir a danos pela ativação do sistema imune, ou seja, a resposta excessiva do sistema imunitário é o principal meio para desencadear danos no hospedeiro. Podendo esses danos atingir e contribuir para um quadro de sépsis, que é definida como uma disfunção multiorgânica, caracterizada por uma resposta desregulada à infeção no hospedeiro (11–14).

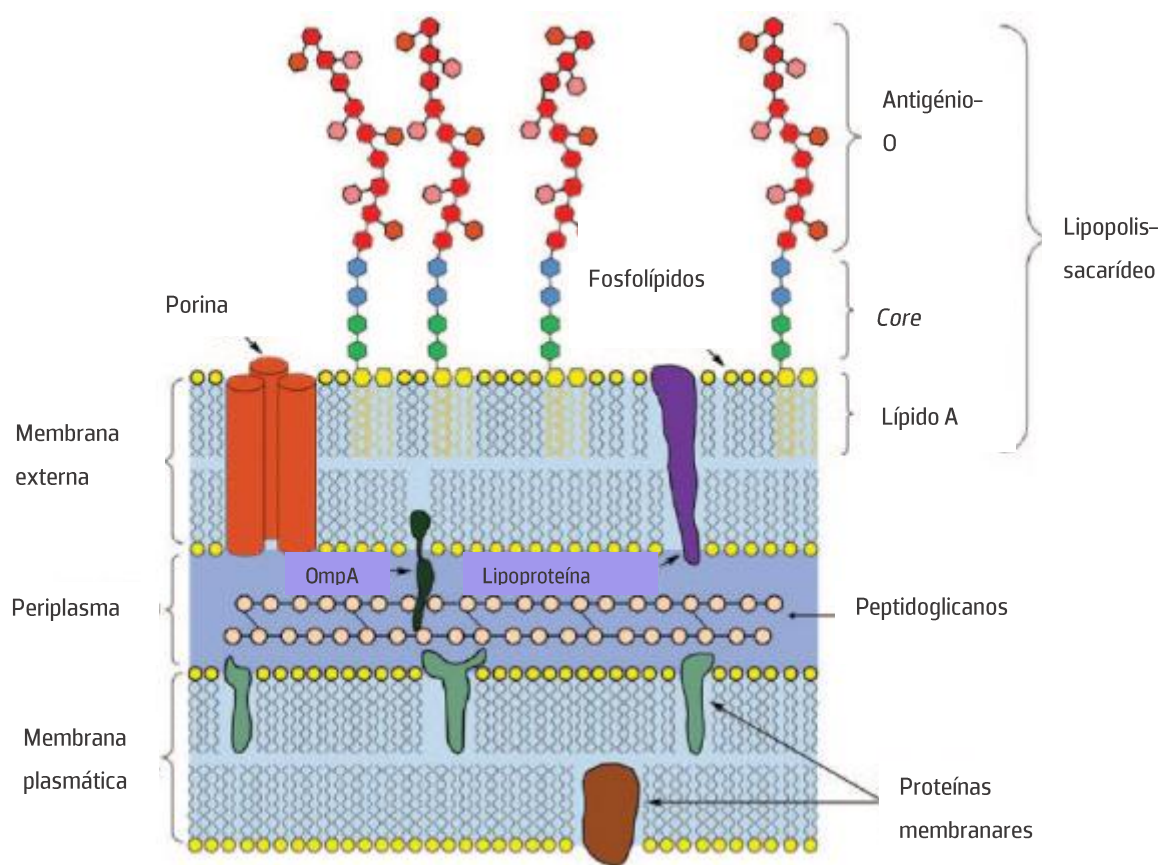
Endotoxinas são essencialmente lipopolissacarídeos (LPS) que fazem parte da membrana externa da maioria das bactérias Gram-negativo e também de cianobactérias. Contudo, as endotoxinas das cianobactérias têm atividades biológicas menores comparando com as de bactérias Gram-negativo (15).

Geralmente, o termo endotoxinas é utilizado quando os LPS estão ligados a outros elementos da membrana celular e o termo lipopolissacarídeo é empregue quando se trata da forma pura (7).

Estes compostos, parcialmente integrados na membrana externa das bactérias, atuam para manter a integridade e na interação entre a célula e o ambiente extracelular (2,7). São assim importantes para a viabilidade e sobrevivência das bactérias que os possuem, ao realizarem funções estruturais e funcionais (12,16,17).

Os LPS (Fig.1) são compostos por um componente polissacarídeo hidrofílico e um componente lipídico hidrofóbico conhecido por lípido A (7,12,18). O primeiro é responsável pela antigenicidade e, o lípido A, pela maioria da atividade biológica, que inclui a toxicidade e afinidade a proteínas (4,7,11,18,19).

O lípido A está ancorado na membrana externa da bactéria e, o componente polissacarídeo é composto pelo antígeno-O e pelo *core*, este último serve de junção entre os outros dois componentes. O componente polissacarídeo está portanto, em contacto com o ambiente extracelular (19).



**Figura 1** Ilustração da membrana de bactérias Gram-negativo e dos seus constituintes, nomeadamente lipopolissacarídeos e a sua estrutura. Adaptado de Su e Ding, 2015.

Comumente, o lípido A é composto por 6 cadeias acil ligadas a um dissacarídeo fosforilado, este lípido é seguido, do *core* (uma cadeia curta de açúcar) e por sua vez, este está ligado ao antígeno-O (uma cadeia linear longa de açúcares de peso variável) (20).

O antígeno-O, tem esta designação devido ao facto de ser o principal alvo dos anticorpos no hospedeiro. Por outro lado, pode encapsular o microrganismo e, assim interferir com a opsonização e a morte programada. Esta cadeia é ainda reconhecida pelo sistema imune inato, podendo desencadear tanto a ativação como a inibição do sistema complemento. Ao evitar a atuação do sistema complemento na membrana das bactérias, permite a sobrevivência das bactérias, como acontece por exemplo na *Salmonella spp.* (17,21).

Não obstante, existem estirpes de bactérias Gram-negativo que não possuem o polissacarídeo-O, ou que o apresentam truncado (lipo-oligosacarídeo) (17).

A estrutura dos LPS pode diferir entre estirpes. Estas variações estão maioritariamente associadas ao antígeno-O. A estrutura do lípido A é a mais conservada, podendo ainda assim sofrer alterações e, sendo que este é o domínio detetado pelo principal complexo recetor (MD2/TLR4- Myeloid Differentiation Factor 2/ *Toll-like receptor 4*) no organismo humano, é essencialmente este que vai determinar a inflamação e a toxicidade. Em contrapartida, as variações existentes no lípido A podem conferir resistências aos péptidos catiónicos antimicrobianos libertados pelo sistema imunológico e evitar o reconhecimento pelo complexo recetor (MD2/TLR4) no hospedeiro (12,18,20).

Existem inclusive estirpes cujos LPS funcionam como antagonistas para o complexo MD2/TLR4, em que apesar de se ligarem a este complexo não possuem a capacidade de o ativar, exemplo destes LPS anti-inflamatórios são os que pertencem às bactérias *Bacteroides dorei* (20).

Assim, como podem existir diferentes estruturas de LPS, a toxicidade também difere. Já que as endotoxinas provenientes de bactérias diferentes podem ter atividades diferentes, independentemente da quantidade, usualmente é medida a sua atividade (UE- Unidades de Endotoxina) (20,22).

Dada a elevada prevalência das bactérias portadoras de endotoxinas no ambiente, apesar de serem compostos que podem ter potencial nocivo, a exposição a estas toxinas é um acontecimento comum. Acrescentado ainda que estão em elevada quantidade numa célula bacteriana, por exemplo, uma única *Escherichia coli (E.coli)*, contém cerca de 2 milhões de lipopolissacarídeos (9,11). Além disso, bactérias Gram-negativo fazem também parte da flora normal, nomeadamente dos humanos, pelo que esta exposição acontece regularmente (2,18).

Desta forma, apesar de uma lesão no intestino poder favorecer a entrada de endotoxinas para a corrente sanguínea causando endotoxémia (designação para a presença de LPS na corrente sanguínea), as endotoxinas podem também atravessar as membranas mucosas, principalmente do intestino, mas também, gengivas, nariz ou pulmões, mesmo sem que estas apresentem lesões. Ainda assim, estas são maioritariamente eliminadas em condições normais, nomeadamente pelo fígado (19,20,23,24).

Conseqüentemente, fatores que têm influência na barreira intestinal, afetam também a passagem das endotoxinas, como é o caso da ingestão reduzida de nutrientes que aumenta a permeabilidade da membrana. Bidne *et al.* (2018) (25), afirmam ainda que a endotoxemia pode ser causada por diversos fatores e condições como obesidade, infecções bacterianas e *stress* abiótico.

Existe também um aumento dos níveis de endotoxinas quando ingeridos alimentos ricos em gordura. Estima-se que exista aproximadamente 1g de endotoxinas no intestino humano. Além disso, as endotoxinas são frequentes noutros locais do organismo como na saliva, placa dental, pele, trato respiratório e, inclusive, no trato urinário. No entanto, é de notar que os valores de endotoxinas que provocam resposta inflamatória no hospedeiro humano variam entre estudos, não existindo ainda consenso no que diz respeito à relação dose/efeito (20,23).

Existem outras formas de exposição, podendo as endotoxinas ser também transportadas pelo ar, fazendo parte de bioaerossóis e permitindo assim a sua inalação. Os bioaerossóis são partículas transportadas pelo ar com origem biológica, como por exemplo fungos, bactérias, partículas de vegetais e são fonte da maioria das endotoxinas livres, consequência também da lise celular que é favorecida por exemplo por desidratação e por impactos (7,10,26,27).

Assim, já que a quantidade de endotoxinas presentes está diretamente relacionada com a de bactérias Gram-negativo que as possuem, a sua concentração está também dependente das condições a que as bactérias estão sujeitas, nomeadamente disponibilidade de substrato, temperatura e humidade. Já que estas podem ser libertadas não só pela lise, como pelo crescimento e multiplicação bacteriana (4,9,11,27).

Apesar da elevada prevalência destes compostos, é crucial ter em mente que as endotoxinas podem provocar efeitos no organismo que podem inclusive conduzir à morte, nomeadamente: febre, diarreia, vômitos, hipotensão, choque, coagulação intravascular, inflamação, broncoespasmo, inflamação neutrofílica crónica das vias aéreas, dano tecidual e falência de órgãos. Contribuem também para a sépsis e estão associadas a insuficiência cardiovascular, a uma maior prevalência de asma, bronquite crónica ou enfisema. Existe também descrito na literatura uma relação com as doenças degenerativas, dada a presença de endotoxinas em quantidades aumentadas nestas patologias, como na doença de Alzheimer e noutras como autismo grave, cirrose hepática, diabetes, doença cardiovascular, infeção crónica, entre outras (4,11,13,16,20,28–30).

Além do mencionado, as endotoxinas mostraram ter um impacto negativo na foliculogénese, início da puberdade, comportamento do ciclo estral, ovulação, função luteal, competência meiótica e produção de esteróides nos ovários, sendo que a exposição neonatal acarreta impactos negativos no sistema reprodutor feminino. A endotoxemia parece também estar associada à inflamação dos ovários. Existindo ainda pesquisas que concluem outras associações nocivas, nomeadamente ao aborto espontâneo (25).

Desta forma, determinar a existência de endotoxinas, em materiais e ambientes, é um passo importante para permitir diminuir a exposição a estes componentes e conseqüentemente diminuir possíveis danos causados pelos mesmos.

A prevenção da exposição torna-se fundamental ainda mais devido ao facto de estas toxinas serem resistentes, dificultando a sua eliminação, por exemplo de materiais e até de produtos de bactérias utilizados pelo Homem, que frequentemente as contêm. Estes componentes são moléculas estáveis que mantêm a sua atividade biológica mesmo em condições extremas, não sendo removidas ou até destruídas quer por processos usuais de desinfeção quer esterilização. São necessárias temperaturas que rondam os 180 a 250°C, e condições de pH extremamente ácidos ou alcalinos para a sua destruição (9,30,31).

Apesar disso, em condições normais, indivíduos saudáveis têm a capacidade de restabelecer os níveis de endotoxinas no organismo, por processos de desintoxicação, quando em concentrações e toxicidade toleráveis(32,33).

## **1.2. Desintoxicação de endotoxinas: atuação do organismo humano**

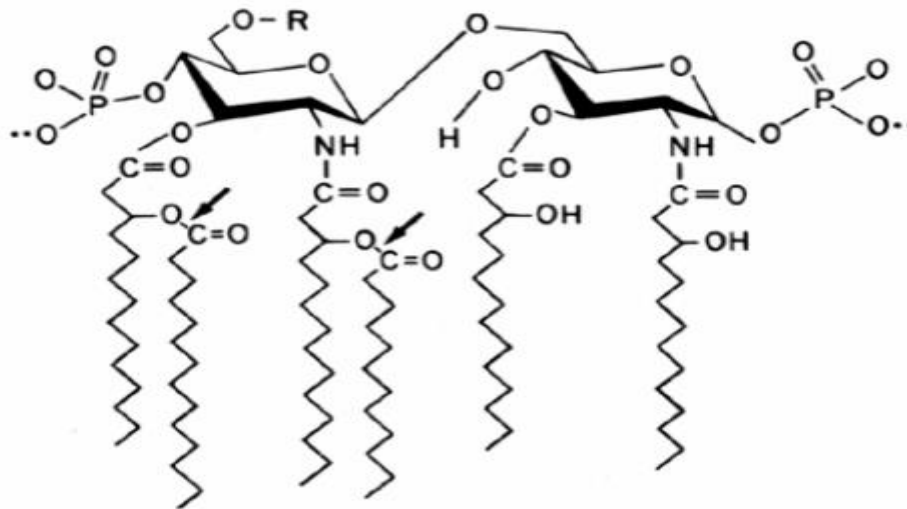
Diferentes fenómenos são capazes de conduzir à presença de endotoxinas no corpo humano, além das usuais como as derivadas de bactérias da flora normal, por inalação e ingestão, outras formas existem que potenciam o aumento do nível de endotoxinas no corpo, podendo até ser conseqüência da utilização de antibióticos (34,35).

A resposta imunológica desencadeada pela presença de endotoxinas, que é a principal causa de dano, funciona como mecanismo de defesa sendo este crucial para a sobrevivência do hospedeiro. Este é importante para o reconhecimento de bactérias Gram-negativo e combate à infeção. No entanto, tendo em conta os danos que pode desencadear, é importante a eliminação das endotoxinas do organismo. Existem diferentes mecanismos de deteção e desintoxicação de endotoxinas, que podem variar entre indivíduos. Os grupos conhecidos de desintoxicação são essencialmente quatro: 1) moléculas que ligam aos LPS impedindo a interação com o principal recetor (TLR4); 2) degradação enzimática da porção do LPS responsável pela toxicidade, o lípido A; 3) adaptações na resposta das células alvo a LPS; e, 4) inativação após captação no fígado e baço (33).

O fígado e o baço funcionam como filtros para a remoção de microrganismos e endotoxinas da corrente sanguínea. Assim estes aparentam, em condições normais, possuir um papel importante nesta tarefa, juntamente com outros tecidos reticuloendoteliais. Têm até mesmo a capacidade de remoção das endotoxinas de circulação sem desencadear uma reação imunológica (36,37).

Por sua vez, existem proteínas solúveis com capacidade de ligação ao LPS ou especificamente ao lípido A, prevenindo o contacto com o complexo TLR4/MD2, estas incluem coletinas, lactoferrina, lisozima, anticorpos anti-endotoxinas, entre outros. Anticorpos atuam também para a remoção destas toxinas além de impedir o reconhecimento pelo TLR4, nomeadamente atuando na apresentação das

toxinas a macrófagos fígado e baço. Pode ainda ocorrer a degradação enzimática dos LPS, como a desencadeada pela enzima aciloxiacil hidrolase (AOAH) que provoca desacilação no lípido A (Fig.2). Esta reação não impede a ligação do lípido A ao complexo TLR4 /MD2, mas não irá estimular uma resposta imune em humanos. Além disso, competem pela ligação aos CD14(*Cluster of differentiation 14*) e LBP (*Lipopolysaccharide Binding Protein*) com os LPS que não sofreram desacilação (21,25,33,38).



**Figura 2** Estrutura geral do lípido A. (R)Cadeia polissacarídea e estão assinalados (↓) os locais de ação da enzima AOAH (aciloxiacil hidrolase) (33).

Em alternativa, a modelação na resposta das células alvo pode acontecer pelo desenvolvimento de um fenómeno de «tolerância», explicado posteriormente, embora possa também ser devido a outros fatores como por exemplo pela diminuição da capacidade de produzir TNF (Fator de Necrose Tumoral) em resposta aos LPS pelos monócitos. Pode existir neste grupo de desintoxicação, a diminuição de citocinas pró-inflamatórias aumentando ou mantendo a produção de moléculas anti-inflamatórias (38).

Além destes processos, os principais componentes de reconhecimento e que conduzem à formação de resposta inflamatória, nomeadamente LBP, CD14 e MD2, podem também atuar na inibição desse reconhecimento. Aparentemente, a inibição ocorre em elevadas concentrações destas moléculas, isto é, concentrações baixas de LBP catalisam a apresentação dos LPS aos CD14, enquanto que, em elevadas concentrações de LBP, promove a degradação de agregados de LPS, podendo também interferir na sua apresentação ao CD14. Os CD14 na forma solúvel por sua vez, podem inibir a produção de citocinas desencadeada por LPS. O co-recetor MD2 solúvel também pode atuar ao ligar-se aos LPS e não o transferindo prontamente para outras proteínas, podendo, contudo, ativar células que possuem apenas o recetor TLR4 (sem o MD2). Além destes, outros componentes têm vindo a ser associados à inibição da resposta inflamatória provocada pelos LPS (32,33,38).

O próprio recetor, TLR 4, tem atividade para a proteção do hospedeiro em caso de infeção. Um estudo realizado em ratinhos (39), mostrou que os TLR4 presentes em células miéloides são necessários para a fagocitose de células bacterianas, enquanto que os TLR4 de hepatócitos mostraram ser importantes para eliminar LPS da circulação. Os TLR4 são cruciais para a estimulação da fagocitose de bactérias pelos macrófagos, isto é, a estimulação dos TLR 4 conduzem à fagocitose aumentada pelos macrófagos (39).

Fenómenos de desintoxicação também acontecem localmente, em tecidos na presença de LPS ou das bactérias que os possuem. Moléculas libertadas por células estimuladas contribuem também para diminuir a resposta local (33).

Em suma, diversos mecanismos são realizados em situações normais que impedem que se gere uma resposta inflamatória excessiva passível de provocar dano (33). Ainda assim, como é sabido, nem sempre estes mecanismos são suficientes para prevenir os danos causados sobretudo pela inflamação. Baixas concentrações de endotoxinas são suficientes para causar resposta inflamatória (9), dependendo também da sua atividade, provavelmente porque ultrapassam a capacidade de eliminação normal do organismo. De seguida vão ser descritos os processos pelos quais as endotoxinas induzem a resposta inflamatória no organismo humano.

### **1.3. Mecanismos de ação de endotoxinas no organismo**

As endotoxinas podem causar diferentes efeitos patofisiológicos no organismo, geralmente como resultado da estimulação do sistema imune, maioritariamente monócitos e macrófagos. Estes vão libertar mediadores como interleucinas, citocinas, prostaglandinas e radicais livres e, são estes mediadores da resposta inflamatória que provocam os efeitos que envolvem aumento da temperatura, ativação de cascatas de coagulação, alteração da função de órgãos e células e modificações metabólicas (11,18).

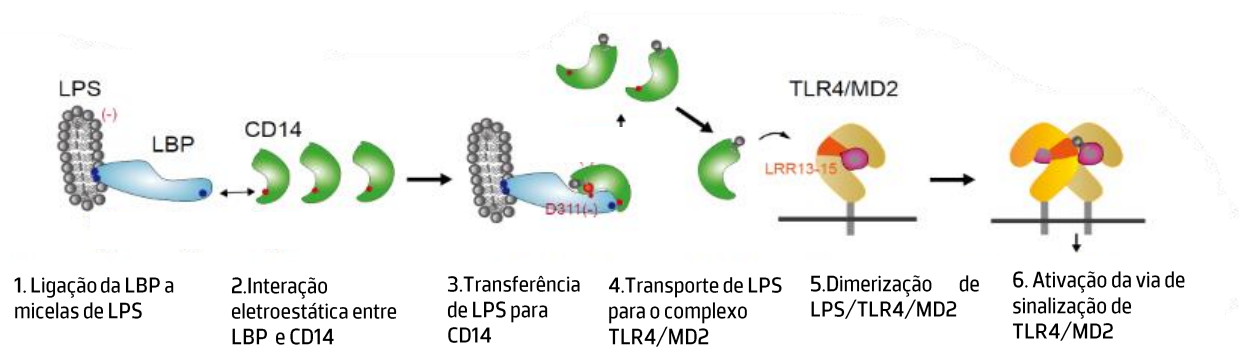
A resposta do sistema imune no hospedeiro depende da estrutura dos LPS e da sua quantidade. Assim, a maior ou menor ativação do sistema imune varia também dependendo da estirpe que deu origem às endotoxinas (12).

A ativação do sistema imune acontece maioritariamente pela estimulação da proteína transmembranar TLR4, que está presente em várias células, como monócitos, macrófagos, neutrófilos e células dendríticas. Este recetor, necessita de uma outra proteína, MD2, para o reconhecimento dos LPS. O complexo MD2/TLR4, depois de ativado pela ligação do LPS, induz uma cascata de reações que pode culminar na indução de genes que encenam a resposta inflamatória (4,12,24).

Para facilitar este processo (Fig.3), proteínas acessórias, como LBP e recetor CD14 intervêm mediando o reconhecimento dos LPS bem como transferindo-os para o complexo TL4/MD2 (23,40).

Numa fase inicial, as LBP ligam-se aos LPS, facilitando assim a ligação dos CD14 a este complexo. Estes últimos extraem monómeros dos LPS, dissociando-se de seguida e, permitindo assim a ligação de outros CD14, repetindo-se o processo. Posteriormente, partes dos LPS são transferidas pelos CD14 até à

proteína MD2, que está associada ao TLR4. A ligação do LPS ao complexo MD2/TLR4 induz a sua dimerização, desencadeando uma cascata de reações (23,40–42).



**Figura 3** Representação esquemática do transporte sequencial dos LPS até ao complexo TLR4/MD2. Uma das extremidades da LBP liga-se ao LPS e, o CD14 irá interagir com a LBP retirando monómero de LPS. O complexo LBP/LPS é rapidamente dissociado do CD14 e outro CD14 liga-se novamente. Posteriormente, os monómeros de LPS são transferidos para o complexo TLR4/MD2 e segue-se a ativação da via de sinalização para a resposta inata. Adaptado de Kim e Kim, 2017.

Um estudo afirma ainda que o componente polissacarídeo dos LPS pode até contribuir para as alterações conformacionais facilitando a interação com os recetores celulares (18).

Esta reação tem como objetivo salvaguardar o hospedeiro, no entanto, uma reação excessiva à presença de LPS pode conduzir a uma reação potencialmente fatal. Além do mais, não foi encontrado consenso quanto aos níveis de endotoxinas necessárias para desencadear uma ativação exagerada do sistema imune (5,20,41).

Tirando partido do facto de as endotoxinas atuarem maioritariamente a partir da estimulação do sistema imune, existem estudos que visam diminuir a resposta imunitária à presença de endotoxinas, tentando assim evitar o choque causado por estas substâncias (43).

Além do referido, estes compostos podem também interagir com as células do organismo humano, desencadeando da mesma forma danos. Este facto dificulta ainda mais o desenvolvimento de uma terapia direcionada para diminuir os danos da exposição a endotoxinas (11).

Outros componentes e reações podem ainda ser estimuladas por estas moléculas, o que inclui a ativação direta, a nível intracelular de enzimas como caspase 4 e 5, que irá culminar na ativação da resposta inflamatória. Outro fenómeno passível de acontecer diz respeito à morte da célula contendo LPS a nível intracelular, por piroptose, que é uma morte programada que tem também como finalidade alertar o sistema imunológico, ativando células de defesa. Outros recetores ativados por LPS incluem por exemplo, RAGE (recetor para produtos finais de glicação avançada), TREM2 (*Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells*) e integrinas (5,20).

Como referido anteriormente, o fígado é o principal responsável pela eliminação de endotoxinas em condições normais, sendo que a partir de uma determinada concentração destas toxinas no sangue pode ocorrer libertação de TNF e IL-10 (interleucina-10) para a corrente sanguínea, desencadeando a reposta inflamatória. Em contrapartida, concentrações baixas de endotoxinas parecem passar despercebidas neste órgão, em termos de reação imunológica (33).

Dado que nem sempre os processos normais de defesa do organismo são suficientes para prevenir o dano e modo a impedir os desfechos mais trágicos, são utilizadas as técnicas terapêuticas disponíveis para reduzir as endotoxinas em circulação, sendo algumas alternativas referidas de seguida.

#### **1.4. Terapias para endotoxina**

Embora, um individuo saudável, seja capaz de lidar com LPS, sobretudo indivíduos com comorbilidades, incluindo hepáticas, podem sofrer mais facilmente de endotoxémia podendo culminar com consequências posteriores, como disfunção de órgãos. Deste modo, não só formas de tratamento mas também de prevenção podem ditar a sobrevivência desses indivíduos (37).

Numa fase anterior à patologia, e apesar de não ser tratamento, mas sim uma abordagem preventiva, é possível a evitar os danos causados pela exposição a endotoxinas através do desenvolvimento de um fenómeno de «tolerância». A nível de células imunes este fenómeno, também designado de pré-condicionamento de endotoxinas, previne a resposta inflamatória excessiva, mas ainda assim, preserva a capacidade de conter infeções no hospedeiro (44,45).

Tal pode ser conseguido pela administração/exposição a estes compostos, em baixas doses e, em consequência disso existe uma proteção contra uma resposta inflamatória exagerada numa exposição secundária. Além disso, está referido que tal exposição controlada oferece tolerância cruzada, ou seja proteção contra outros componentes, nomeadamente microrganismos (46).

Baseado neste fenómeno, é atualmente utilizado um análogo do lípido A, o monofosforil lípido A como adjuvante em preparações de vacinas humanas, devido às suas propriedades imunomoduladoras e, uma vez que a utilização de lípido A nativo apresenta atividade tóxica. A utilização de análogos de lípido A, facilitam a resposta inata do sistema imune a infeções quando administrados profilaticamente, assim estes análogos podem ter especial interesse para indivíduos com risco de desenvolver infeções oportunistas e/ou infeções associadas aos cuidados de saúde (46).

Formas de terapia baseadas em análogos parecem promissoras, porém é necessário ter em atenção que existem partes da estrutura do lípido A que tem que ser mantidas, de modo a permitir o reconhecimento pelas células (33).

À parte disto, existem terapias que consistem, resumidamente, na remoção extracorpórea de endotoxinas, mas também de outros componentes como citocinas de modo a diminuir os danos da resposta inflamatória. Uma destas terapias são as colunas Toraymyxin™ que fazem uso de um antibiótico

com afinidade para as endotoxinas, a polimixina B. Este antibiótico tem atividade bactericida para bactérias Gram-negativo, ao ligar-se e inativar as endotoxinas, destabilizando assim a parede celular bacteriana. No entanto, a sua administração é limitada devido à possibilidade de ter efeitos de nefro- e neurotoxicidade (37,47,48).

Apesar das contrapartidas da administração deste antibiótico, as suas propriedades foram aproveitadas para desenvolver uma terapia que visa a diminuição das endotoxinas presentes no sangue, ao imobilizar este antibiótico em fibras incluídas numa coluna, onde se faz passar o sangue do paciente que retorna posteriormente ao corpo. Dada a capacidade destas fibras com polimixina B imobilizadas se ligarem a diferentes tipos de endotoxinas, conclui-se que este composto tem afinidade para a porção mais conservada, isto é, o lípido A (37,47,49).

Um outro método, designado de oXiris™, tem também em vista a remoção extracorpórea e, possui propriedades anti-trombogénicas, capacidade de remoção de endotoxinas e ainda citocinas. Contém uma membrana constituída por 3 camadas, uma responsável pela remoção de citocinas da circulação, outra de endotoxinas e uma terceira possui heparina para atuar como anti-trombogénico (48).

Outros métodos extracorpóreos estão disponíveis para a remoção de endotoxinas da circulação sanguínea, como colunas Alteco® LPS Adsorber, que tem uma funcionalidade semelhante aos mencionados anteriormente, diferindo o composto empregue para a remoção de endotoxinas. Neste caso, é utilizado um péptido com elevada afinidade para as endotoxinas. Porém, há estudos que afirmam que existem ainda poucos resultados clínicos que permitam obter dados suficientes para concluir acerca da viabilidade de utilização deste dispositivo (13,37,48).

Outros sistemas têm sido estudados, como por exemplo o DEAE-celulose (Dietilaminoetil-celulose), que se baseia no facto de as endotoxinas serem carregadas negativamente. Contudo, estas formas de remoção baseadas na carga possuem a elevada desvantagem da remoção inespecífica (37).

Naturalmente, embora existam terapias para diminuição das endotoxinas no organismo, a melhor metodologia será a prevenção e para tal, numa fase inicial, é importante perceber quais são as principais fontes de exposição.

## **1.5. Fontes de exposição**

As endotoxinas são componentes ubíquos no ambiente, estando presentes no solo, água e também ar. Sendo que os níveis destas toxinas estão diretamente relacionados com os de bactérias Gram-negativo, e algumas cianobactérias, dependem das condições a que estas estão sujeitas. Foi referido que as endotoxinas se encontram em maior concentração em locais com animais, como quintas, também nas residências de indivíduos com condições socioeconómicas mais baixas ou em residências com presença de crianças, carpetes, animais de estimação, baratas, dependendo também da idade e uso dos edifícios. Plantas ou partes destas podem ser também uma fonte de contaminação assim como fezes de animais.

A exposição a endotoxinas está em grande parte relacionada à agricultura e indústrias relacionadas, como de criação de animais (9,16,27,28).

Indivíduos residentes em locais de exploração de gado tornam-se, deste feito, propensos às consequências da exposição de endotoxinas, não sendo apesar disso os únicos afetados (26).

Estas toxinas podem também estar presentes na água de consumo, alimentos ou produtos alimentares e, em fármacos, sendo uma preocupação desde cedo a eliminação destes compostos (29).

Em suma, potenciais formas de entrada de endotoxinas no organismo humano incluem a inalação, ingestão, feridas, intravenosamente e contacto direto com a fonte de contaminação (por exemplo através da pele e mucosas) (8,50). Apesar disso, a inalação é das formas mais comuns de exposição, já que se podem tornar aerossolizadas de diversas formas. Assim, para a maioria das exposições ambientais, as células alvo são as epiteliais e células imunes do sistema respiratório. Estas moléculas ao serem inaladas, ativam macrófagos alveolares e outras células no trato respiratório, podendo resultar em inúmeros danos, como desenvolvimento de doença pulmonar obstrutiva crónica. Sendo desta forma este sistema comumente afetado por estas toxinas (51).

Dado os potenciais efeitos nefastos para a saúde é importante ter especial atenção com os locais de risco de exposição acrescida, nomeadamente locais que lidam com resíduos como as estações de tratamento de águas residuais(50).

A forma mais eficaz de reduzir ou eliminar os danos causados por estas toxinas será limitar a exposição. Para prevenir a exposição é importante aumentar o conhecimento acerca da ocorrência de endotoxinas, quantidades que se tornam tóxicas, processos que possam aumentar essa exposição e eventualmente determinar abordagens que possam ser utilizadas para aumentar a segurança, nomeadamente de trabalhadores expostos. Assim, inicialmente irá ser feita uma contextualização da presença de endotoxinas na água e os processos realizados no tratamento de águas residuais em ETAR.

## **1.6. Endotoxinas na matriz água**

O acesso a água de consumo potável representa um dos principais requisitos para uma vida saudável, contudo doenças transmitidas pela água ainda são um problema, podendo conduzir à morte, sobretudo em crianças (52).

Os produtos tóxicos presentes em águas tratadas em ETAR podem ser de três tipos: poluentes vindos do influente (referente a uma estação de tratamento de águas); químicos utilizados no tratamento e os seus produtos; e, produtos de bactérias, como endotoxinas (53).

É notório que estas toxinas estão presentes nesta matriz, portanto é fundamental o esforço realizado para minimizar a sua presença. Inclusivamente, a presença de endotoxinas na água de hemodíalises, foi causa de morte de alguns pacientes a partir do qual foram aumentados os esforços para garantir a sua remoção. Apesar disso, quantidades residuais de endotoxinas, não se mostraram suficientes para causar

reações graves, embora conduzam ao aumento das citocinas pró-inflamatórias em circulação que desencadeiam *stress* oxidativo e microinflamação (9).

Os níveis destas toxinas, dependem de vários fatores, naturalmente estão relacionadas também às condições a que estão sujeitas as bactérias Gram-negativo e cianobactérias portadoras destas toxinas e do tratamento realizado. Por exemplo, as colónias bacterianas presentes nas canalizações e o nível de cianobactérias nas fontes de água são situações que provocam o aumento destas toxinas nesta matriz. As bactérias presentes nas canalizações são variáveis, no entanto já foi reportado que os biofilmes são maioritariamente constituídos por bactérias Gram-negativo (54).

É comum, apesar dos tratamentos realizados, detetar, em águas tratadas, a presença destas endotoxinas, sendo que os seus níveis são variáveis. Inclusive, os processos empregues durante o tratamento da água podem também conduzir à libertação de endotoxinas (9).

Devido aos danos que estas toxinas podem provocar, os tratamentos realizados nas estações de tratamento de água, são apesar de tudo cruciais para prevenir a exposição da população. Mas por outro ponto de vista significa que uma ETAR poderá ter níveis elevados de endotoxinas e como tal, os seus trabalhadores podem estar expostos a níveis que podem afetar a sua saúde. A principal forma de exposição neste meio é através de bioaerossóis formados durante o tratamento da água (55).

De modo a perceber quais os locais das ETAR onde os trabalhadores poderão estar sujeitos a uma maior exposição é necessário primeiro perceber o funcionamento dessas estações. De seguida, serão apresentados processos comumente realizados no tratamento de águas residuais.

## **1.7. Contextualização do processo geral de tratamento de águas residuais numa estação de tratamento**

Existem três grupos de constituintes da água a tratar que são indispensáveis ter em atenção no processo de tratamento: aqueles que são originalmente encontrados na água da torneira; produtos químicos como detergentes, fármacos e outros resíduos residenciais, os seus subprodutos e os subprodutos que são gerados no processo de tratamento da água; subprodutos de microrganismos mortos que asseguram o tratamento por degradação biológica (56).

O principal objetivo das ETAR, centra-se na redução de componentes tóxicos das águas residuais de modo a que a água obtida no efluente não tenha um efeito negativo para o ambiente ou para a saúde (57).

Segundo a legislação portuguesa, no decreto de lei nº 152/97, as águas residuais podem ser águas residuais domésticas ou a mistura desta com águas residuais industriais e/ou água pluviais (58).

As ETAR realizam o tratamento das águas residuais a qual poderá ter fins distintos e como tal, diferenças no tratamento realizado, dependendo da qualidade da água exigida, da sensibilidade do meio receptor e/ou se se trata de água com vista à reutilização e ainda da qualidade das águas residuais brutas. Assim, o processo de tratamento pode ter a necessidade de ser mais ou menos complexo, podendo

limitar-se ao tratamento primário, pode ser acrescido o tratamento secundário, terciário ou ainda o avançado no caso da reutilização do efluente (57,59).

Os poluentes nas águas residuais encontram-se quer dissolvidos quer em suspensão e a separação destes componentes vai dar origem ao efluente tratado e, adicionalmente, a resíduos sólidos (como gradados e areias) e resíduos gasosos (gás sulfídrico, dióxido de carbono, metano e outros). Já que estes resíduos também representam um problema a nível ambiental e sanitário, estes necessitam igualmente de ser tratados, se não for possível pela ETAR, por outra instituição competente (59).

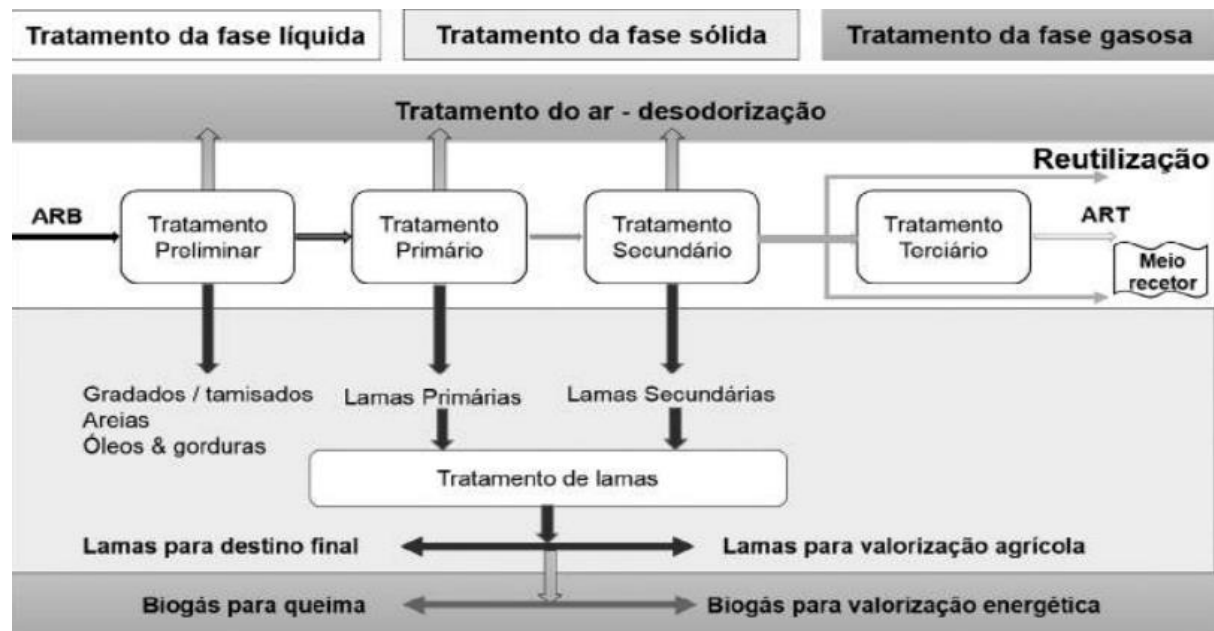
O tratamento realizado numa ETAR (Fig.4) pode ser distinguido em tratamento de fase líquida, tratamento de fase sólida e, finalmente, tratamento de fase gasosa, que dizem respeito à matéria a ser tratada. Pode ainda dividir-se os tratamentos realizados em 5 níveis, tratamento preliminar, primário, secundário, terciário e avançado (57,59).

Assim, no tratamento de fase líquida, a ser descrito de seguida, o tratamento preliminar diz respeito aos processos de separação dos sólidos de maiores dimensões (gradagem) seguido da remoção dos sólidos de menores dimensões (tamisagem). Posteriormente é realizada a remoção de gordura (desengorduramento) e das areias, entre outros compostos como partículas metálicas, por sedimentação. No tratamento primário, ainda utilizado para a remoção de sólidos, mas suspensos e facilmente sedimentáveis, faz-se uso mais uma vez da sedimentação na decantação primária, utilizando-se ainda mais raramente o processo de flotação para o efeito, podendo estes processos ser assistidos pelo processo de coagulação química. O tratamento secundário realiza-se com vista à redução da matéria orgânica dissolvida ou em suspensão que não foi removida até então e, geralmente são utilizados para o efeito processos biológicos, mas também outros processos físico-químicos como a decantação assistida por coagulação-floculação. Embora os processos de tratamento biológico mostrem ser mais vantajosos, a temperatura ambiente da ETAR pode dificultar o funcionamento adequado dos reatores biológicos e como tal, em países de temperaturas mais baixas é comum optarem pelo tratamento químico. O tratamento terciário tem como objetivo a remoção dos nutrientes de modo a evitar a eutrofização e, por outro lado o tratamento que se destina à remoção de microrganismos patogénicos que é sempre requerido. Finalmente, o tratamento avançado visa a remoção de poluentes dissolvidos em concentrações residuais (50,57,59).

Por sua vez, o tratamento de fase sólida, diz respeito aos resíduos formados durante o tratamento das águas residuais, como gradados (sólidos que foram retidos nas grades), tamisados (sólidos que foram retidos nos tamisadores), areias, até gorduras formadas durante o tratamento preliminar e flotados. As lamas podem advir dos diferentes níveis, designadamente do tratamento primário, secundário, até mesmo do terciário e mistas (mistura das lamas do tratamento primário e secundário). A matéria orgânica que se encontra na fase sólida, sobretudo nas lamas, podem prejudicar a saúde dos trabalhadores, estando também presente em menor quantidade nas areias seguido de gradados e tamisados, com

menores quantidades. Geralmente, os gradados e tamisados são compactados e é reduzido o teor de água, sendo posteriormente enviados para entidades de gestão de resíduos sólidos; às areias efetua-se a remoção de compostos orgânicos, podendo posteriormente ser colocadas em aterro ou destinadas à construção se cumprirem os requisitos necessários; as lamas podem ter como destino a agricultura, como fertilizante, dependendo das suas características. Os principais alvos do tratamento de lamas são a redução de volume e degradação de substâncias, os processos utilizados mais comuns são o espessamento das lamas, estabilização química, digestão geralmente anaeróbia, desidratação e compostagem(50,59,60).

Por fim, existe outro tratamento das águas residuais, o da fase gasosa. Alguns dos gases presentes nas águas residuais são o dióxido de carbono, o metano e o gás sulfídrico; estes possuem características adversas nomeadamente por serem corrosivos (gás sulfídrico) e por contribuírem para o efeito de estufa (dióxido de carbono e metano), podendo naturalmente representar perigo para a saúde e como tal existe a necessidade de serem removidos. Dado que a atmosfera tem uma baixa capacidade de autopurificação, deverá existir um cuidado acrescido com o tipo de substâncias passíveis de ser libertadas, acrescido ao facto de nesta matriz poderem alcançar largas distâncias. Existem ETAR, maioritariamente as de maiores dimensões e as próximas de localidades, em que é efetuada a desodorização da atmosfera dessas instalações, que necessitam de ser cobertas para confinar a atmosfera. O metano é o principal constituinte do biogás gerado no tratamento de lamas e, este pode ser valorizado para a produção de energia térmica e/ou elétrica ou queimado antes de ser libertado (59).



**Figura 4** Esquema das fases de tratamento de uma ETAR (Estação de Tratamento de Águas Residuais), produtos resultantes e o destino dos mesmos; ARB-Águas Residuais Brutas; ART-Águas Residuais Tratadas (59).

Os processos realizados durante o tratamento das águas residuais podem ser repetidos nos diferentes níveis do processo, como é o caso da decantação que além de ser realizada no tratamento primário, pode também fazer parte do tratamento secundário e terciário. Naturalmente, além da qualidade objetiva da água no final do tratamento, outros fatores condicionam estes processos, como a capacidade da ETAR. Na figura 5 está esquematizado um processo geral típico de uma ETAR.

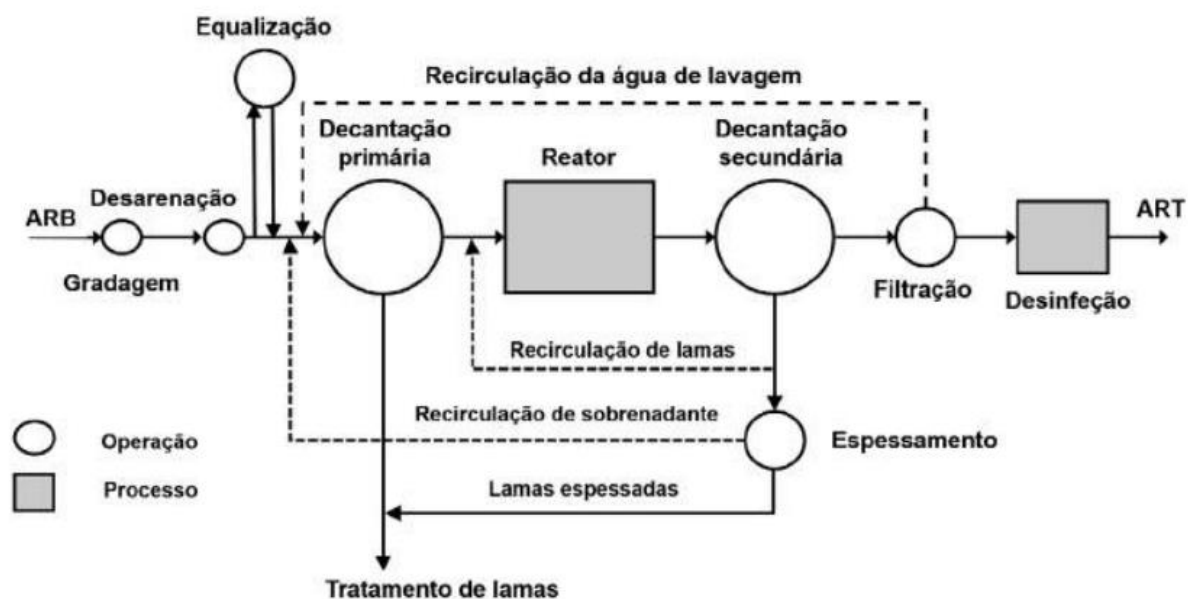


Figura 5 Esquema geral do processo de tratamento de águas residuais numa ETAR com tratamento preliminar, primário, secundário e terciário. ARB-Águas Residuais Brutas; ART-Águas Residuais Tratadas (59).

A decantação é um procedimento que permite a separação das partículas em suspensão nas águas residuais, fazendo uso da ação da gravidade, isto é, predominantemente pelo processo de sedimentação, mas também pelo de flotação. Ao contrário do que acontece no processo de sedimentação, em que as partículas a remover se depositam na parte inferior, na flotação, as partículas ao apresentarem menor densidade «flutuam», este processo pode ser destinado à remoção de sólidos e também líquidos, podendo ser alcançado pela introdução de ar, como na remoção de óleos e gorduras. A decantação primária dá origem às lamas primárias e também a produtos da flotação, sendo que essas lamas contêm uma elevada quantidade de matéria orgânica, podendo ocorrer inclusive a sedimentação de microrganismos, quando mais densos do que a água. A decantação secundária faz parte do tratamento secundário e, destina-se à separação dos flocos formados, nomeadamente no processo biológico, formando as lamas secundárias ou também designadas de lamas biológicas, tendo estas como constituinte predominante

microrganismos (matéria orgânica). A flotação pode ser utilizada em diferentes níveis, como tratamento preliminar (remoção de óleos e gorduras), secundário (separação de flocos biológicos) e no tratamento de fase sólida (espessamento das lamas) (59,60).

Outro mecanismo que permite remover sólidos em suspensão é a filtração. Permite ainda remover microrganismos e outros componentes das águas residuais, pode atuar na eliminação de precipitados, como auxiliar da desinfecção, ou preparação para microfiltração e ultrafiltração, podendo ser também empregue na desidratação de lamas e na desodorização. A remoção de poluentes por membranas é outro dos mecanismos disponíveis, que inclui micro, ultra e nanofiltração e osmose inversa (59,60). Além das citadas, outras metodologias podem ser utilizadas no tratamento de águas residuais.

Alguns dos métodos supramencionados não são necessariamente realizados, mas um procedimento essencial é a desinfecção, isto é, a eliminação ou redução até níveis aceitáveis de microrganismos, independentemente do destino da água tratada. A desinfecção pode ser realizada por diferentes métodos que podem ser distinguidos em métodos físicos, como radiação UV (ultravioleta)/gama, ultrassons, e temperatura, ou por filtração e processos de membrana, ou métodos químicos como o uso de hipoclorito, cloro e ozono, entre outros (50,59).

O tratamento biológico é um tratamento promissor devido ao baixo custo e maior estabilização de resíduos. Um dos tratamentos biológicos eficazes para o tratamento de águas residuais é a fitorremediação, que faz uso de plantas como agentes de purificação das águas, outros existem como a utilização de microrganismos para digestão e degradação de matéria orgânica e inorgânica presente na água, que são amplamente utilizados. O tratamento com microrganismos tem, por exemplo, a capacidade de converter matéria orgânica em biogás (metano), nomeadamente através da digestão anaeróbia, isto é, na ausência de oxigénio (61).

Existem outros passos que fazem uso de reagentes químicos com diferentes intuitos, designadamente a coagulação química, o condicionamento químico de lamas, a neutralização de pH, a desinfecção, precipitação de metais pesados, entre outros (59,60).

Naturalmente, quanto mais eficientes forem os processos utilizados numa estação de tratamento de água, melhor será a qualidade da água obtida. Existem locais em que estes processos são elementares ou até inexistentes, tendo portanto maior prevalência de patologias decorrentes dos contaminantes presentes na água (52).

Além dos que foram citados como sendo os mais comuns, outros processos de tratamento de água são utilizados como por exemplo a absorção com carvão ativado(9,62,63).

No entanto, no que diz respeito à remoção de endotoxinas da água, nem todos são eficazes, existindo até estudos que referem que alguns deles têm até a desvantagem de conduzir ao seu aumento, como a desinfecção por provocar a morte bacteriana e assim a libertação destas toxinas.

No estudo de Simazaki *et al.* (2018) (30), concluem que processos de coagulação química, sedimentação, filtração rápida com areia e filtração com membrana são capazes de diminuir de forma eficaz o nível de endotoxinas na água, quer as presentes na forma livre, quer as agregadas a outras partículas/ células. Por outro lado, observou diminuições limitadas de endotoxinas livres e diminuições moderadas de agregadas, por cloração e ozonização. Acrescentam que a filtração bacteriana com carvão ativado, aumenta significativamente a atividade das endotoxinas durante o processo de purificação da água.

Assim, processos como cloração provocam a morte microbiana e, desta forma, podem simplesmente levar a um aumento do nível das endotoxinas. Assim é necessário um passo auxiliar, sendo que o realizado numa estação de tratamento de água em Pequim, segundo o estudo de Zhang *et al.* (2013) (64), foi deixar sedimentar agregados maiores de endotoxina, endotoxinas ligadas a bactérias e endotoxinas ligadas a partículas, com o propósito de diminuir a atividade das endotoxinas na água após a cloração.

É de referir também que os procedimentos realizados para o tratamento das águas, podem libertar partículas que se tornam transportadas pelo ar e que contém tanto microrganismos quanto os seus componentes, incluindo endotoxinas. Estas partículas podem ser prejudiciais tanto para os trabalhadores das estações de tratamento de água, quanto para as populações vizinhas, já que podem atingir longas distâncias (65).

Assim, foi realizada uma revisão sistemática da literatura, com o objetivo principal de melhor perceber a presença de endotoxinas nas estações de tratamento de águas residuais e, conseqüentemente, os riscos dessa exposição para os seus trabalhadores. Nomeadamente na medida do possível determinar a gama de valores de endotoxinas encontrados nas ETAR, os locais/tarefas de maior exposição e averiguar se estão descritos sintomas reportados pelos trabalhadores, potencialmente associados a essa exposição ou até não especificamente associados.

## 2. Metodologia

Para dar resposta aos objetivos propostos, foi colocada a questão de investigação: Qual a gama de valores de endotoxinas a que estão expostos os trabalhadores de ETAR, onde ou em que circunstâncias a exposição é maior e quais as consequências que pode representar para a saúde?

Tendo em conta que a principal via de exposição é por inalação, a pesquisa diz respeito a endotoxinas na matriz ar.

De seguida, será descrito o processo realizado para esta revisão.

### 2.1. Recolha de dados

A recolha de dados foi realizada na base de dados PubMed, recorrendo à ferramenta de pesquisa avançada e com a introdução dos seguintes termos de pesquisa: «*endotoxin in wastewater treatment plant*» e «*exposure*», o que relevou um total de 42 publicações. A pesquisa foi efetuada no dia 29 de maio de 2020.

### 2.2. Seleção dos estudos

Dos 42 artigos apresentados na pesquisa, foram excluídos 20, de acordo com os critérios primários de exclusão definidos, nomeadamente não abordarem as questões relevantes para esta revisão (n=10), não estarem escritos em língua inglesa ou portuguesa (n=6) e também por não serem artigos de investigação originais (n=4). Assim, na totalidade foram analisados mais detalhadamente 22 artigos resultantes da pesquisa na PubMed (Fig. 6).

Todos os artigos incluídos respeitaram os critérios:

- ter discutido a presença de endotoxinas em ETAR; e,
- referir valores de quantificação de endotoxinas em ETAR; e/ou
- apresentar locais/tarefas de maior exposição; e/ou
- referir sintomatologia associada aos trabalhadores, diretamente causada pela exposição a endotoxinas e até sem associação específica.

Não necessariamente todos estes critérios presentes no mesmo artigo, mas com a necessidade de ser referente a ETAR e endotoxinas e, como tal este funcionou como critério de exclusão. Artigos foram também excluídos com base no propósito do seu estudo, nomeadamente os que avaliam diferentes metodologias e não fazem a determinação das endotoxinas ou da sua influência nos trabalhadores.

Uma vez que na pesquisa inicial foram também encontrados 4 artigos de revisão (9,50,66,67), foi feita uma análise das suas referências de modo a selecionar artigos que pudessem ser utilizados e que não tivessem surgido na pesquisa inicial. Desta forma, e aplicando os critérios supracitados, dois desses artigos foram descartados por não acrescentarem informação relevante e dos restantes, foram selecionados 7 artigos que foram incluídos(68–74), adicionalmente aos resultados da pesquisa da

PubMed. Sendo que, de 22 artigos válidos para a revisão, foram encontrados estudos repetidos (n=6) e outros aos quais não foi possível o acesso (n=9).

Desta forma, foram incluídos na revisão, na totalidade 29 artigos (Fig. 6).

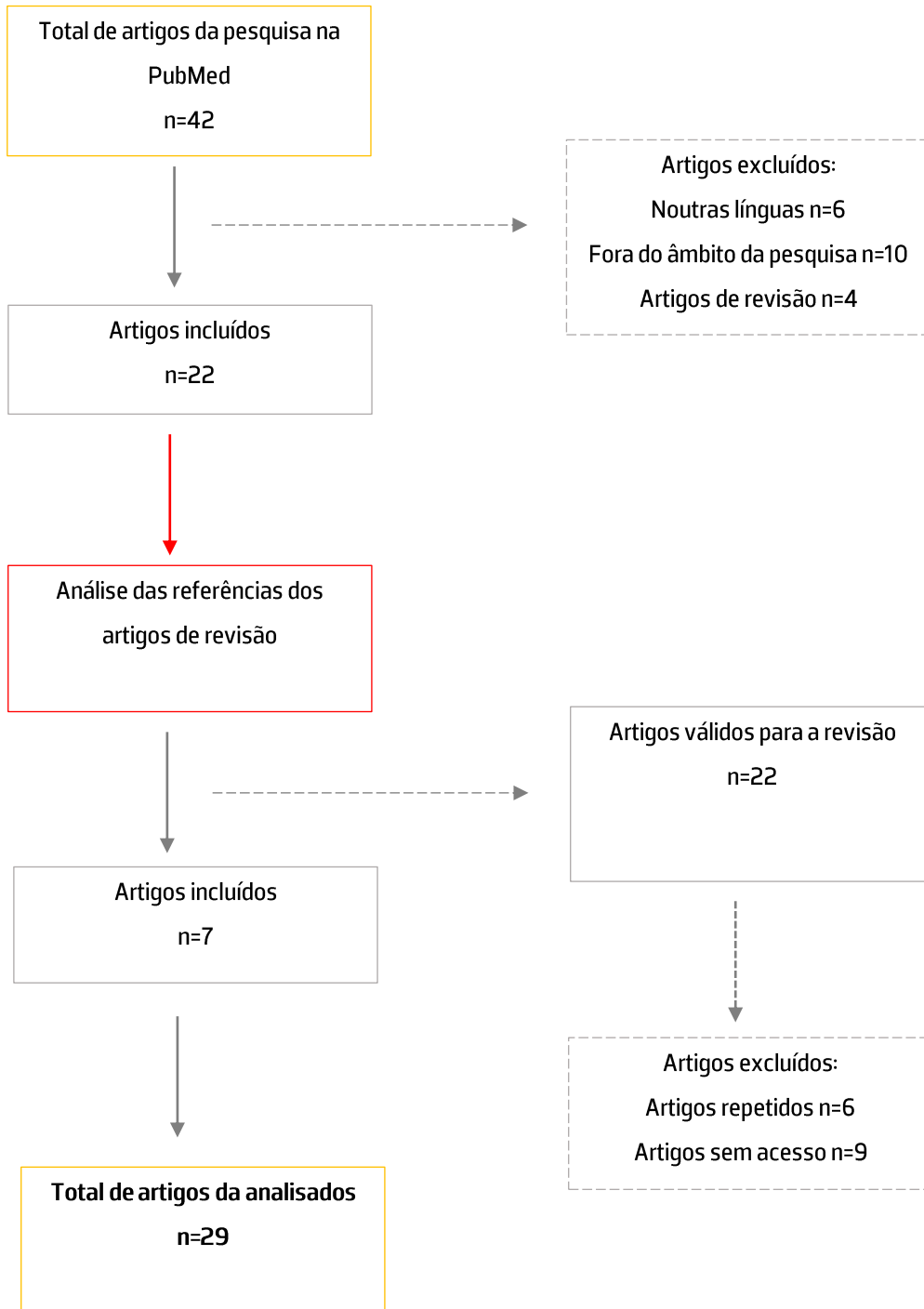


Figura 6 Esquema da revisão sistemática.

### **3. Resultados**

De seguida serão apresentados os resultados obtidos da análise mais detalhada dos artigos resultantes da pesquisa. Os artigos são datados desde 1983 até 2019.

Alguns dos artigos incluídos, referem que as recolhas de ar foram feitas através de amostras estacionárias, isto é, as amostras foram recolhidas em locais pré-determinados, sendo a recolha realizada num ponto fixo. Por outro lado, outros fazem-na através de amostras pessoais, isto significa que as amostras são colhidas com amostradores colocados nos trabalhadores, sendo, desta forma, representativas das tarefas por estes realizadas e da exposição efetiva do indivíduo. Estão ainda presentes estudos que apresentam ambas.

Outros mencionam também amostras recolhidas no interior ou exterior, referentes às zonas interiores e exteriores das ETAR.

**Tabela 1** Resumo da informação obtida na revisão sistemática.

Valores de endotoxinas (min-máx)	Técnica de amostragem	Média das medições (UE/m <sup>3</sup> )	Áreas/tarefas de maior exposição	Sintomas mais frequentes associados e não especificamente relacionados à exposição a endotoxinas	País do estudo	Referência
-----	-----	-----	-----	<p><u>Sintomas não associados:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>· Problemas cutâneos</li> <li>· Diarreia</li> <li>· Outros sintomas gastrointestinais</li> </ul> <p>Mais frequentes nos trabalhadores do que no grupo controlo</p>	Suécia	Lundholm e Rylander, 1983 (69)
-----	-----	-----	-----	<p><u>Sintomas não associados:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>· Dor de cabeça</li> <li>· Tontura</li> <li>· Dor de garganta</li> <li>· Irritação cutânea</li> <li>· Diarreia</li> </ul>	Estado de Nova Iorque, Estados Unidos da América	Scarlett-Kranz <i>et al.</i> , 1987 (73)
-----	-----	-----	-----	<p><u>Sintomas não associados:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>· Fadiga</li> <li>· Sintomas cutâneos</li> <li>· Irritação na garganta</li> <li>· Produção de expectoração</li> <li>· Indigestão</li> <li>· Bronquite crónica</li> <li>· Sintomas semelhantes à gripe</li> <li>· Tosse</li> </ul> <p>Trabalhadores da área da fervura da lama (secagem) reportaram intermitente doença aguda caracterizada por tosse, febre e dor de garganta.</p> <p>Trabalhadores da área da inceneração da lama, tendem a ter perda da função pulmonar.</p>	Canadá	Nethercott e Holness, 1988 (72)

Valores de endotoxinas (min-máx)	Técnica de amostragem	Média das medições (UE/m <sup>3</sup> )	Áreas/tarefas de maior exposição	Sintomas mais frequentes associados e não especificamente relacionados à exposição a endotoxinas	País do estudo	Referência
<0.04-350 ng/m <sup>3</sup> ≈0.4-3500 UE/m <sup>3</sup>	-----	≈1400 no local de maior exposição	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Tratamento da lama (≈92-3500 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>· Entrada de águas residuais (≈1000-1400 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>· Bacia de arejamento interior (≈170-1100 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>· Biofiltro (≈48-710 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>· Monitorização (≈36-550 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>· Bombeamento de águas residuais (≈0-300 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>· Bacia de sedimentação interior (≈10-190 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>· Sala de controlo (≈0-130 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>· Exteriores (≈0-30 UE/m<sup>3</sup>)</li> </ul>	<p><u>Sintomas não associados:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>· Febre</li> <li>· Calafrios</li> <li>· Irritação nasal e de olhos</li> <li>· Dor de cabeça</li> <li>· Fadiga</li> <li>· Sintomas gastrointestinais</li> </ul>	Finlândia	Laitinen <i>et al.</i> , 1994 (75)
0-300 ng/m <sup>3</sup> ≈0-3000 UE/m <sup>3</sup>	-----	-----	-----	<p>A exposição a endotoxinas não foi especificamente associada a nenhum sintoma, mas trabalhadores expostos reportaram maioritariamente:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>· Irritação no nariz</li> <li>· Náusea</li> <li>· Fata de ar</li> </ul>	Noruega	Melbostad <i>et al.</i> , 1994 (68)
-----	-----	-----	-----	<p><u>Sintomas não associados:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>· Dor de cabeça</li> <li>· Fadiga</li> <li>· Espirros</li> </ul> <p>Operadores, trabalhos de monitorização que trabalham em todas as áreas e aqueles que trabalham na área da desidratação da lama por filtro prensa e no sistema de colheita (considerados mais expostos a doenças infecciosas), tiveram maior prevalência de todos os grupos de sintomas (respiratórios, sistémicos, gastrointestinais e cutâneos)</p>	Ohio, Estados Unidos da América	Khuder <i>et al.</i> , 1998 (71)
-----	-----	-----	-----	<p><u>Sintomas não associados:</u></p> <p>Maior prevalência de asma nos trabalhadores de ETAR comparado com os de referência</p>	Suécia	Friis <i>et al.</i> , 1999 (70)

Valores de endotoxinas (min-máx)	Técnica de amostragem	Média das medições (UE/m <sup>3</sup> )	Áreas/tarefas de maior exposição	Sintomas mais frequentes associados e não especificamente relacionados à exposição a endotoxinas	País do estudo	Referência
3.8-32170 ng/m <sup>3</sup> ≈38-321700 UE/m <sup>3</sup>	Amostras estacionárias	-----	Proximidade do manuseio de lama e durante procedimentos de limpeza (≈20-321700 UE/ m <sup>3</sup> )	<p><u>Sintomas associados:</u></p> <p>Sintomas relacionados às vias respiratórias e gastrointestinais têm como causa mais provável as endotoxinas, que serão:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>· Diarreia</li> <li>· Irritação no nariz e garganta</li> <li>· Tosse com muco</li> <li>· Tosse seca</li> </ul> <p><u>Sintomas não associados:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>· Cansaço</li> <li>· Dor nas articulações</li> <li>· Dores de cabeça</li> </ul>	Suécia	Rylander, 1999 (76)
0.3-143.2 UE/m <sup>3</sup>	Amostras pessoais	9.5	Na exposição ambiental, na área de desidratação da lama por filtro prensa (44.3-172.7 UE/m <sup>3</sup> )	<p><u>Sintomas não associados:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>· Sintomas das vias aéreas superiores</li> <li>· Sintomas neurológicos</li> <li>· Sintomas semelhantes à gripe</li> <li>· Sintomas das vias aéreas inferiores</li> </ul>	Holanda	Douwes <i>et al</i> , 2001 (77)
0.2-172.7 UE/m <sup>3</sup>	Amostras estacionárias	85.6 (em áreas de desidratação lama); 3.4 na restante exposição ambiental				
0.21-27.2 ng/m <sup>3</sup> ≈2.1-272 UE/m <sup>3</sup>	Amostras pessoais	-----	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Tarefas de reparação com águas residuais brutas</li> <li>· Durante a reparação da bacia de sedimentação exterior</li> </ul>	-----	Suécia	Thorn <i>et al</i> , 2002 (78)

Valores de endotoxinas (min-máx)	Técnica de amostragem	Média das medições (UE/m <sup>3</sup> )	Áreas/tarefas de maior exposição	Sintomas mais frequentes associados e não especificamente relacionados à exposição a endotoxinas	País do estudo	Referência
0-185 ng/m <sup>3</sup> ≈0-1850 UE/m <sup>3</sup>	Amostras estacionárias	-----	<ul style="list-style-type: none"> <li>Grade de partículas</li> <li>Parede de centrifugação</li> <li>Sala de reação de flocculação (todos estes locais são do interior da ETAR)</li> </ul>			
0.104-5.2 ng/m <sup>3</sup> ≈1.04-52 UE/m <sup>3</sup>	Amostras estacionárias		<ul style="list-style-type: none"> <li>Bombeamento de água residual bruta (≈52 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>Numa das bacias de arejamento (≈52 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>Bacia de grade (≈50.2 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>Uma outra bacia de arejamento (≈21 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>Área de desidratação da lama (≈21 UE/m<sup>3</sup>)</li> </ul>	-----	Polónia	Prazmo <i>et al</i> , 2003 (79)
0.1-233 ng/m <sup>3</sup> ≈1-2330 UE/m <sup>3</sup>	-----	≈203	<ul style="list-style-type: none"> <li>Trabalhadores de tratamento de lama (≈12.1-2330 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>Tratamento mecânico (≈3-2050 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>Controlo de operação (≈1-1984 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>Tratamento biológico (≈10.7-1343 UE/m<sup>3</sup>)</li> </ul>	<p><u>Sintomas não associados:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Dor nas articulações e músculo</li> <li>Fadiga crónica</li> <li>Irritação no nariz</li> <li>Rinite alérgica</li> <li>Irritação nos olhos</li> <li>Irritação na garganta</li> </ul>	Polónia	Krajewski <i>et al</i> , 2004 (80)
-----	-----	-----	<ul style="list-style-type: none"> <li>Trabalhadores que fazem reparações numa das estações analisadas (≈1160 e ≈1850 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>Sala de flocculação (≈42-175 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>Espessamento da lama (≈99-108 UE/m<sup>3</sup>)</li> </ul>	<p><u>Sintomas não associados:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Sintomas respiratórios</li> <li>Gastrointestinais</li> <li>Dores nas articulações</li> <li>Cansaço incomum</li> <li>Pneumonite tóxica</li> </ul> <p>Especialmente dor nas articulações, diarreia, cansaço incomum e nariz congestionado foram os mais comuns entre operadores</p>	Suécia	Thorn e Beijer, 2004 (81)
1.7-158 UE/m <sup>3</sup>	Amostras pessoais no interiores	52.6 (verão); 29.7 (inverno)	Atividades de limpeza de tanques tiveram maior exposição (acima de 500 UE/m <sup>3</sup> )	-----	Suíça	Oppliger <i>et al</i> , 2005 (82)

Valores de endotoxinas (min-máx)	Técnica de amostragem	Média das medições (UE/m <sup>3</sup> )	Áreas/tarefas de maior exposição	Sintomas mais frequentes associados e não especificamente relacionados à exposição a endotoxinas	País do estudo	Referência
1.4-103 UE/m <sup>3</sup>	Amostras pessoais no exteriores	29.8 (verão); 8.8 (inverno)				
0.6-2093 UE/m <sup>3</sup>	Amostras pessoais	27	-----	<p>Pareceu existir maior prevalência de sintomas em trabalhadores expostos a quantidades superiores a 50 UE/m<sup>3</sup> e de sintomas semelhantes a gripe parecidos com síndrome de choque tóxico em trabalhadores expostos a níveis superiores a 200 UE/m<sup>3</sup></p> <p><u>Sintomas não associados:</u></p> <p>Operadores: Diarreia, semelhantes à gripe parecido com síndrome do choque tóxico, dor de cabeça e nariz congestionado</p> <p>Trabalho administrativo: Nariz congestionado, diarreia, espirros, cansaço não usual, sintomas semelhantes à gripe parecido com choque tóxico</p> <p>Operadores e técnicos: Diarreia</p> <p>Tarefas de limpeza tiveram maior prevalência de: Sintomas respiratórios inferiores e cutâneos Houve também um maior rácio de prevalência destes sintomas em limpezas que utilizam o efluente e ainda sintomas semelhantes a gripe e sistémicos; trabalhadores que lidam com lama bruta e que usualmente consomem alimentos ou bebidas durante o trabalho foram associados a sintomas semelhantes a gripe e sistémicos</p>	Holanda	Smit <i>et al.</i> , 2005 (83)
294.4-891.1 UE/m <sup>3</sup>	Amostras no exterior (próximo de bacias de arejamento)	627	-----	-----	Arizona, Estados Unidos	Brooks <i>et al.</i> , 2006 (84)

Valores de endotoxinas (min-máx)	Técnica de amostragem	Média das medições (UE/m <sup>3</sup> )	Áreas/tarefas de maior exposição	Sintomas mais frequentes associados e não especificamente relacionados à exposição a endotoxinas	País do estudo	Referência
4-887 UE/m <sup>3</sup>	Amostras pessoais	804 (onde atinge valores mais elevados)	A água utilizada é o fator que tem maior influência na exposição (nomeadamente a água de efluente) durante a limpeza, assim como o objeto a ser limpo (filtro prensa). <sup>a</sup>	-----	-----	Visser <i>et al</i> , 2006 (85)
4-868 UE/m <sup>3</sup>	Amostras estacionárias	187 (onde atinge valores mais elevados)	<u>Amostras pessoais:</u> Limpeza de filtro prensa com água da torneira e pressão elevada  <u>Amostras estacionárias:</u> Limpeza de prensa de correia com efluente e pressão baixa			
0.59-39742.18 UE/m <sup>3</sup>	Amostras pessoais	91	· Atividades de inspeção, colheita de lama e desidratação da lama (39742 UE/m <sup>3</sup> ) · Tarefas de colheita de amostras, limpeza, operações na sala de areia e de digestão (acima de 500 UE/m <sup>3</sup> )	<u>Sintomas não associados:</u>  · Problemas de sinusite · Cansaço · Dor de cabeça · Dor nas articulações · Irritação no nariz  Estatisticamente trabalhadores de ETAR tiveram probabilidades mais altas de todos os sintomas (respiratórios, oculares e de irritação, neurológicos e gastrointestinais)	Iowa, Estados Unidos	Lee <i>et al</i> , 2007 (86)
0.2-2093 UE/m <sup>3</sup>	Amostras pessoais (turno completo)	27	· No abastecimento de águas residuais e remoção de sólidos (1.8-1397 UE/m <sup>3</sup> ) · Desidratação da lama (0.2-458 UE/m <sup>3</sup> )	-----	Holanda	Spaan <i>et al</i> , 2008 (87)
0.2-1397 UE/m <sup>3</sup>	Amostras estacionárias	33	· Operadores (0.2-2093 UE/m <sup>3</sup> ) · Trabalhadores da lama (1.4-1506 UE/m <sup>3</sup> )			

<sup>a</sup> Compara diferentes métodos de limpeza e objetos a ser limpos.

Valores de endotoxinas (min-máx)	Técnica de amostragem	Média das medições (UE/m <sup>3</sup> )	Áreas/tarefas de maior exposição	Sintomas mais frequentes associados e não especificamente relacionados à exposição a endotoxinas	País do estudo	Referência
2.2-2135 UE/m <sup>3</sup>	Medições baseadas nas tarefas (Amostra pessoal na realização das tarefas)	64	<ul style="list-style-type: none"> <li>Desidratação da lama (2.2-2135 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>Processos de tratamento de águas residuais (2.2-1317 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>Abastecimento de águas residuais e remoção de sólidos (15.6-1100 UE/m<sup>3</sup>)</li> </ul>			
-----	-----	320 nas ETAR com secagem da lama e 75 nas que não o fazem	Trabalhadores que manuseiam a secagem da lama estão mais expostos a endotoxinas e pó	<p><u>Sintomas associados:</u></p> <p>Trabalhadores que manuseiam a secagem da lama tiveram maior prevalência de todos os sintomas, sobretudo</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Irritação no nariz</li> <li>Tosse</li> <li>Cansaço incomum</li> </ul> <p><u>Sintomas não associados:</u></p> <p>Trabalhadores de manuseio da secagem da lama também tiveram outros sintomas como</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tosse</li> <li>Sintomas semelhantes a asma</li> </ul>	Noruega	Heldal <i>et al.</i> , 2010 (74)
34.6-69.4 UE/m <sup>3</sup> <sup>b</sup>	Amostras recolhidas exterior no	-----	-----	-----	Idaho, Estados Unidos	Dungan, 2011 (88)
0.8-741 UE/m <sup>3</sup>	Amostras estacionárias	-----	-----	-----	Mumbai, Índia	Gangamma <i>et al.</i> , 2011 (65)
1-3160 UE/m <sup>3</sup>	Amostras pessoais	28	-----	-----	-----	Heldal <i>et al.</i> , 2013 (89)
0.68-214 UE/m <sup>3</sup>	Amostras pessoais	38.8	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tratamento de lama (0.68-214 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>Tratamento biológico (18.5-207 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>Tratamento mecânico (4.04-116 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>Áreas de controlo de operação (1.85-85 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>Trabalho administrativo (1.26-23.3 UE/m<sup>3</sup>)</li> </ul>	<p><u>Sintomas associados:</u></p> <p>Diminuição da função pulmonar</p>	Polónia	Cyprowski <i>et al.</i> , 2015 (90)

<sup>b</sup> Referente a diferentes metodologias na amostragens

Valores de endotoxinas (min-máx)	Técnica de amostragem	Média das medições (UE/m <sup>3</sup> )	Áreas/tarefas de maior exposição	Sintomas mais frequentes associados e não especificamente relacionados à exposição a endotoxinas	País do estudo	Referência
1.2-6.5 UE/m <sup>3</sup>	Amostras estacionárias	-----	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Unidade de compostagem (<i>Bagging station</i>) (6.5 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>· Unidade de pré-tratamento (3.9 UE/m<sup>3</sup>)</li> <li>· Local de saída das águas residuais (3.8 UE/m<sup>3</sup>)</li> </ul>	-----	Dinamarca	Uhrbrand <i>et al.</i> , 2017 (91)
0.2-5.3 UE/m <sup>3</sup>	Amostras estacionárias	-----	-----	-----	-----	Boucher <i>et al.</i> , 2018 (92)
4-1039 UE/m <sup>3</sup>	Amostras pessoais	-----	-----	-----	Alemanha	Rieger <i>et al.</i> , 2018 (93)
0.21-19.3 ng/m <sup>3</sup> ≈2.1-193 UE/m <sup>3</sup>	Amostras pessoais	≈50.3	-----	<u>Sintomas não associados:</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>· Fadiga</li> <li>· Irritação nos olhos</li> <li>· Irritação na garganta</li> <li>· Irritação no nariz</li> <li>· Dores musculares e/ou das articulações</li> <li>· Tosse seca</li> </ul>	-----	Cyprowski <i>et al.</i> , 2019 (94)
4-262 UE/m <sup>3</sup>	Amostras pessoais	-----	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Operações de limpeza</li> <li>· Tarefas de manuseio de águas residuais</li> </ul>	<u>Sintomas associados:</u> Diminuição da função pulmonar  <u>Sintomas não associados:</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>· Sintomas respiratórios, em particular tosse</li> <li>· Náusea</li> <li>· Febre</li> <li>· Sintomas de gripe</li> <li>· Cansaço</li> <li>· Dificuldades de concentração</li> <li>· Esquecimento</li> </ul>	Noruega	Heldal <i>et al.</i> , 2019 (95)

### 3.1. Valores de exposição a endotoxinas na matriz ar

No que diz respeito à presença das endotoxinas nas ETAR, uma breve análise dos dados permite concluir que, apesar de em alguns casos os valores serem díspares, efetivamente os trabalhadores estão diariamente expostos a estes componentes.

As unidades de medida dos níveis de endotoxinas diferem em alguns casos. De modo a facilitar a comparação dos dados foi feita a conversão à mesma unidade, tendo em mente que 1 ng de endotoxinas corresponde aproximadamente a 10 UE (78,83), é importante referir que está sujeita a erro já que as endotoxinas podem ter atividades diferentes de acordo com a sua fonte.

Analisando os valores, pode verificar-se que, nos artigos que apresentam medições das endotoxinas transportadas pelo ar em ETAR, existem nalguns casos valores extremamente dissemelhantes.

Os valores mais baixos descritos são de amostras estacionárias, 0.2-5.3 UE/m<sup>3</sup> (92) e 1.2-6.5 UE/m<sup>3</sup> (91).

De seguida, temos valores de aproximadamente 1.04-52 UE/m<sup>3</sup>, em amostras estacionárias (79) e 34.6-69.4 UE/m<sup>3</sup> em amostras de zonas exteriores da ETAR, no entanto este último compara diferentes formas de amostragem, não sendo portanto a gama de medições mas resultado de 2 metodologias diferentes (88).

Outros estudos mencionam 1.7 a 158 UE/m<sup>3</sup> para amostras no interior da ETAR e 1.4-103 UE/m<sup>3</sup> no exterior (82), 0.3-143.2 UE/m<sup>3</sup> em amostras pessoais e 0.2-172 UE/m<sup>3</sup> em amostras estacionárias (77), cerca de 2.1-193 UE/m<sup>3</sup> em amostras pessoais (94), 0.68-214 UE/m<sup>3</sup> em amostras pessoais (90), 4-262 UE/m<sup>3</sup> também em amostras pessoais (95) e aproximadamente 2.1-272 UE/m<sup>3</sup> (em amostras pessoais) (78). O segundo estudo, no que diz respeito a amostras pessoais (0.3-143.2 UE/m<sup>3</sup>), não refere os locais de maior exposição (77). E ainda um dos estudos refere que atividades como limpeza de tanques têm exposição superior a 500 UE/m<sup>3</sup> (82).

Acrescido a estes, outros valores são referidos como 0.8-741 UE/m<sup>3</sup> em amostras estacionárias(65),4-887 UE/m<sup>3</sup> em amostras pessoais e 4-868 UE/m<sup>3</sup> em amostras estacionárias, sendo que aqui foram avaliados diferentes métodos de limpeza (85).Um outro refere que em locais próximos das bacias de arejamento foram obtidos valores de 294.4-891 UE/m<sup>3</sup>, sendo que está localizada no exterior da ETAR (84).

Por fim, entre os valores máximos mais elevados reportados temos 4-1039 UE/m<sup>3</sup> em amostras pessoais (93), aproximadamente 0-1850 UE/m<sup>3</sup> em amostras estacionárias (78) e 0.6-2093 UE/m<sup>3</sup> também em amostras pessoais(83). Um outro obteve valores de 0.2-2093 UE/m<sup>3</sup> para amostras pessoais, 0.2-1397 UE/m<sup>3</sup> para amostras estacionárias e 2.2-2135 UE/m<sup>3</sup> para amostras pessoais baseadas nas tarefas (87). São ainda apresentados valores de sensivelmente 0.1-2330 UE/m<sup>3</sup> (80),aproximadamente 0-3000 UE/m<sup>3</sup> (68), 1-3160 UE/m<sup>3</sup> em amostras pessoais (89) e cerca de 0.4 até 3500 UE/m<sup>3</sup> (75). Sendo que a gama de valores que atingiram máximos mais elevados foram de

0.59–39742.18 UE/m<sup>3</sup> em amostras pessoais (86) e cerca de 38–321700 UE/m<sup>3</sup> em amostras estacionárias (76).

O estudo que apresenta valores de aproximadamente 0.4–3500 UE/m<sup>3</sup>, refere que as amostras foram recolhidas na proximidade dos processos realizados nas ETAR, pelo que serão amostras estacionárias (75).

Um outro estudo, apesar de não apresentar a gama de valores de todas as medições, apresenta os que serão os locais com maior exposição. Neste caso, o local mais contaminado obteve uma gama de valores de aproximadamente 1160–1850 UE/m<sup>3</sup> (81).

Com vista a perceber se os estudos que apresentam valores máximos mais elevados de exposição dizem respeito apenas a momentos ocasionais ou se, normalmente os trabalhadores estão sujeitos a valores elevados e ainda para tentar perceber se a média das medições é próxima entre estudos, foi feita a recolha da média das medições das endotoxinas na matriz ar. No entanto, nem todos os estudos a tinham presente, pelo que as conclusões retiradas a partir destes valores tornam-se limitadas.

Ainda assim, o segundo estudo com valores mais elevados (0.59–39742.18 UE/m<sup>3</sup>), refere que a média foi de 91 UE/m<sup>3</sup>, sendo, portanto, bastante inferior ao máximo obtido. Este menciona que em 76 amostras, 64.5% excederam os 50 UE/m<sup>3</sup> e 18 excederam até os 500 UE/m<sup>3</sup> (86).

Outro com valores de 1–3160 UE/m<sup>3</sup>, afirma que a média foi de 28 UE/m<sup>3</sup>, mais uma vez, a média tem um valor muito inferior ao máximo medido (89).

Aquele que apresenta valores de aproximadamente 0.4–3500 UE/m<sup>3</sup>, tem uma média de 1400 UE/m<sup>3</sup> no local onde verifica maior exposição, isto é, no tratamento da lama (75).

Um outro com uma gama de aproximadamente 1–2330 UE/m<sup>3</sup>, apresenta a média de sensivelmente 203 UE/m<sup>3</sup>, sendo ainda valores elevados, mas bastante inferiores ao valor máximo medido (80).

Por sua vez, um outro estudo incluído com gama de 0.6–2093 UE/m<sup>3</sup>, refere uma média das medições de 27 UE/m<sup>3</sup> (83).

Outro com 0.2–2093 UE/m<sup>3</sup> em amostras pessoais tem uma média de 27 UE/m<sup>3</sup>, com 0.2–1397 UE/m<sup>3</sup> nas amostras estacionárias com uma média de 33 UE/m<sup>3</sup> e com 2.2–2135 UE/m<sup>3</sup> nas medições pessoais baseadas nas tarefas refere uma média de 64 UE/m<sup>3</sup> (87).

Aquele que apresenta medições no exterior da ETAR, próximo das bacias de arejamento, 294.4–891 UE/m<sup>3</sup>, refere a média de 627 UE/m<sup>3</sup>, apresentando portanto valores elevados de exposição (84).

De seguida, aquele que apresenta 4–887 UE/m<sup>3</sup> nas amostras pessoais e 4–868 UE/m<sup>3</sup> nas estacionárias, menciona que a média foi 804 UE/m<sup>3</sup> nas amostras pessoais nos locais de maior exposição, isto é, na limpeza de filtro prensa com água da torneira e pressão elevada; e 187 UE/m<sup>3</sup> nas amostras estacionárias com limpeza de prensa de correia com efluente a baixa pressão (local de maior exposição nestas amostras), de realçar que estuda métodos e objetos a ser limpos (85).

Aqueles com gama de valores mais baixos que apresentam a média, incluem aproximadamente 2.1-193 UE/m<sup>3</sup> com média de 50.3 UE/m<sup>3</sup> (94); 0.3-143.3 UE/m<sup>3</sup> nas amostras pessoais com média de 9.5 UE/m<sup>3</sup> e 0.2-172.7 UE/m<sup>3</sup>, com média de 85.6 UE/m<sup>3</sup> nos locais de desidratação da lama e 3.4 UE/m<sup>3</sup> nos restantes locais das medições estacionárias (77). Um outro com 1.7-158 UE/m<sup>3</sup> no interior das ETAR com média de 52.6 UE/m<sup>3</sup> no verão e 29.8 UE/m<sup>3</sup> no inverno; 1.4-103 UE/m<sup>3</sup> no exterior das ETAR com média de 29.8 UE/m<sup>3</sup> no verão e 88 UE/m<sup>3</sup> no inverno (82).

Finalmente, o que apresenta aproximadamente 1.04-52 UE/m<sup>3</sup> refere uma média de 2 UE/m<sup>3</sup> (79).

Um dos artigos selecionados para a revisão sistemática, não apresenta gama de valores de exposição, mas refere que a média foi de 320 UE/m<sup>3</sup> nas ETAR com secagem de lama e 75 UE/m<sup>3</sup> nas que não o fazem (74).

Outra abordagem realizada para tentar relacionar valores das medições foi através do país onde as ETAR estão localizadas.

O estudo que apresenta valores mais elevados (3.8-32170 UE/m<sup>3</sup>) foi realizado na Suécia (76), outro que também menciona o mesmo país tem um máximo de 1850 UE/m<sup>3</sup> nas amostras pessoais (78).

Outros estudos oriundos da Polónia, apresentam valores bastante díspares entre si: 1.04-52 UE/m<sup>3</sup> num deles (79), 1-2330 UE/m<sup>3</sup> (80) e 0.68-214 num outro (90).

Os estudos feitos na Noruega indicam valores de 0-3000 UE/m<sup>3</sup> (68) e 4-262 UE/m<sup>3</sup> (95), e estudos na Holanda, reportam gamas de 0.2-143.2 UE/m<sup>3</sup> (77), 0.6-2093 UE/m<sup>3</sup> (83) e 0.2-2135 UE/m<sup>3</sup> (87), sendo que este último nas amostras pessoais atinge também um pico de 2093 UE/m<sup>3</sup>.

### **3.2. Áreas/tarefas de maior exposição**

No que se refere às áreas/tarefas de maior exposição, os mais referidos foram processos relacionados à lama, como: colheita, remoção da lama, bacia de arejamento, desidratação da lama, é também referido tratamento da lama no geral e proximidade do manuseamento da lama (74-77,79-81,86,87,90).

O mais citado de seguida, diz respeito a processos de limpeza (76,82,85,86,95), sendo que um destes estudos apenas avalia a exposição durante a limpeza.

Tarefas de reparações (78,81), unidade de pré-tratamento (91), sala de floculação (78,81), tratamento biológico (80,90), locais de entrada (75,87) e saída de águas residuais (91), assim como bombeamento dessa água (75,79), processo de remoção de sólidos (87), tratamento mecânico (80,90), grade de partículas e biofiltro são outros também citados (75,78). Assim como outras referências mais gerais como sendo os operadores dos mais expostos (87).

Assim como existem diferenças nas medições da exposição a endotoxinas na matriz ar, os valores obtidos naquelas que são tidas como áreas/tarefas de maior exposição são naturalmente também diversas.

Daqueles que têm mencionado os valores obtidos nas áreas/tarefas por eles consideradas de maior exposição, os valores mais elevados foram obtidos na proximidade do manuseamento da lama e durante procedimentos de limpeza (aproximadamente 20 até 321700 UE/m<sup>3</sup>)(76). Seguido de atividades de inspeção, colheita e de lama e desidratação de lama com 39742 UE/m<sup>3</sup> (86). Tratamento de lama de aproximadamente 92-3500 UE/m<sup>3</sup>, entrada de águas residuais 1000-1400 UE/m<sup>3</sup> e bacia de arejamento interior com 170-1100 UE/m<sup>3</sup> (75). Num outro estudo, desidratação da lama com 2.2-2135 UE/m<sup>3</sup>, operadores 0.2-2093 UE/m<sup>3</sup>, trabalhadores da lama 1.4-1506 UE/m<sup>3</sup>, abastecimento de águas residuais 1.8-1397 UE/m<sup>3</sup>, processos de tratamento de águas residuais com 202-1317 UE/m<sup>3</sup> e abastecimento de águas residuais e remoção de sólidos, 15.6-1100 UE/m<sup>3</sup> (87). Não obstante, foram também mencionados trabalhadores que realizam reparações com aproximadamente 1160-1850 UE/m<sup>3</sup> (81). Um outro com cerca de 12.1-2330 UE/m<sup>3</sup> nos trabalhadores de tratamento da lama, 3-2050 UE/m<sup>3</sup> nos de tratamento mecânico, de controlo de operação obtiveram 1-1984 UE/m<sup>3</sup> e de tratamento biológico 10.7-1343 UE/m<sup>3</sup> (80). Sendo ainda referido que atividades de limpeza de tanques obtiveram valores de exposição acima de 500 UE/m<sup>3</sup> (82) e num outro tarefas de colheita de amostras, limpeza, operações na sala de areia e de digestão com valores também acima de 500 UE/m<sup>3</sup> (86).

Por sua vez, dos estudos que apresentam valores, os obtidos nos locais/tarefas de menor exposição, foram obtidos na ETAR que menciona que realiza processos encapsulados, inclusive com 3.8 UE/m<sup>3</sup> no local de saída de águas residuais (91). Outros referem trabalhos administrativos (1.26-23.3 UE/m<sup>3</sup>) (90), área de desidratação da lama e numa bacia de arejamento com cerca de 21 UE/m<sup>3</sup> (79) e aproximadamente 0-30 UE/m<sup>3</sup> no exterior (75).

### **3.3. Sintomatologia dos trabalhadores de ETAR**

A grande maioria dos estudos, recolhe informações acerca das alterações na saúde dos trabalhadores, através de questionário (68,69,80,81,83,86,90,94,95,70-77), anotando assim os sintomas mais prevalentes. Além disso, em alguns casos foi também realizado o exame de espirometria para avaliar a função pulmonar (72,90,93,95).

Parte dos estudos que mencionam os sintomas, sugerem como agente causal as endotoxinas, mas outros defendem que serão resultado da exposição a diferentes agentes ou não possuem informação suficiente para os relacionar apenas a estas toxinas em detrimento de outros compostos.

Assim, como consequência da exposição a endotoxinas está referida a diminuição da função pulmonar, sendo que num dos estudos está indicada sob a forma de obstrução crónica aguda (90,95). Em oposição um dos estudos que faz parte da revisão sistemática e que analisa a função pulmonar refere que não obtiveram diferenças (76) e um outro menciona que não foi possível retirar conclusões (93).

Outros sintomas descritos são das vias respiratórias, nomeadamente, irritação no nariz (68,74,76), irritação na garganta (76), tosse (74,76) e falta de ar (68). Foram apresentados também sintomas gastrointestinais, nomeadamente diarreia (76). E outros como cansaço incomum (74) e náusea (68).

Smit *et al.* (2005) (83), referem ainda que aparenta existir maior prevalência de sintomas em trabalhadores expostos a quantidades de endotoxinas no ar superiores a 50 UE/m<sup>3</sup> e, sintomas semelhantes ao síndrome de choque tóxico quando expostos a níveis superiores a 200 UE/m<sup>3</sup>, no entanto não referem que são consequência única dessa exposição.

Heldal *et al.* (2010) (74), que tem presente que trabalhadores que manuseiam a secagem da lama tiveram maior prevalência de todos os sintomas, sobretudo irritação no nariz, tosse e cansaço incomum, concluem que estarão associados à exposição de endotoxinas e/ou pó.

A maioria não conclui acerca dos sintomas associados à exposição a estas toxinas e, além disso aqueles mencionados como associados, são também sintomas não especificamente relacionados.

Aqueles que mencionaram sintomas mas sem associação específica à exposição a endotoxinas, referem em grande maioria, sintomas das vias respiratórias (70,71,86,94,95,72–75,77,80,81,83), incluindo irritação e dor na garganta (72,73,80,94), irritação no nariz (75,80,86,94), nariz congestionado (81,83), tosse (72,74,94,95), foram reportados também outros como sinusite (86), pneumonite tóxica (81), rinite alérgica (80), bronquite crónica e produção de expectoração (72), semelhante a asma (74) e maior prevalência de asma (70), espirros (71), perda da função pulmonar (72), ainda sintomas mais gerais como semelhantes a gripe (72,77,83), sendo referido num deles sintomas semelhantes a gripe parecido com choque tóxico (83).

De seguida, os mais frequentemente mencionados são sintomas gastrointestinais (69,71–73,75,81,83,86), naqueles que especificam, é vulgarmente referida a diarreia (69,73,81,83), sendo mencionado também a indigestão (72).

Dores nas articulações são também reportadas (76,80,81,86,94), sendo incluído em dois deles as dores musculares (80,94).

Sintomas de cansaço (76,81,83,86,95), dor de cabeça (71,73,75,76,83,86), ainda tonturas (73) e dificuldades de concentração e esquecimento (95) são citados.

São indicados também sintomas cutâneos (69,71–73,83).

Acrescido a estes temos febre (72,75,95) e outros sintomas como náusea (95), irritação nos olhos (80,94), sistémicos (71,83), sintomas neurológicos (77) e calafrios (75).

Deste feito, os sintomas em comum mencionados como associados ou não especificamente relacionados à exposição às toxinas em discussão, foram os respiratórios, especificamente tosse, irritação no nariz e garganta. Sendo referido nos sintomas não associados, a perda de função pulmonar, mas em maior quantidade nos que associam à exposição. Sintomas gastrointestinais, nomeadamente diarreia também são mencionados, mas apenas num dos artigos refere como causa mais provável as

endotoxinas. Tendo ainda em comum náuseas e cansaço, embora menos citados nos sintomas associados a estas toxinas.

Finalmente, apenas é referido dores musculares e das articulações, febre, sintomas cutâneos, irritação nos olhos, dificuldade de concentração e esquecimento, sintomas sistêmicos, sinusite, rinite alérgica, fadiga, indigestão, calafrios, tonturas, asma e sintomas semelhantes nos que determinam os sintomas sem os associar a endotoxinas.

Melbostad *et al.* (1994) (68), não associam a exposição a endotoxinas a nenhum sintoma especificamente, mas afirma que os trabalhadores expostos têm maior prevalência de alguns sintomas, como irritação no nariz e falta de ar.

#### 4. Discussão

Existe uma lacuna no que diz respeito a limites de exposição a nível mundial, nomeadamente de endotoxinas mas também de outros agentes biológicos, existindo apesar disso, algumas organizações e autores que propõem alguns valores (96). A falta de limites de exposição é muitas vezes associada à carência de protocolos de referência para a amostragem e análise (7).

Apesar disso, a exposição a endotoxinas no setor de tratamento de águas residuais é evidentemente real e tem vindo a aumentar a preocupação a esse respeito (9). Contudo, conclusões acertadas acerca dos seus efeitos na saúde dos trabalhadores expostos são ainda desconhecidas.

É muitas vezes referido nos artigos seleccionados o limite de exposição de  $50 \text{ UE}/\text{m}^3$  mencionado por 2 autores, Heederik e Douwes (97), como sendo o limite estabelecido pelo Conselho Holandês da Saúde (DECO) em 1997, outros referem este mesmo valor proposto também pelo DECO, em 2003 (65,78,79,82,85,86,88,91). Em 2010 este Conselho alterou para  $90 \text{ UE}/\text{m}^3$  (98) o limite de exposição para 8 horas de trabalho em 2010 (90,93).

Assim, dos 22 estudos (65,68,84–93,75,94,95,76–80,82,83) que apresentam valores das medições de endotoxina na matriz ar, em 18 deles (65,68,85–87,89,90,93–95,75–78,80,82–84), o valor máximo medido ultrapassa o limite de  $90 \text{ UE}/\text{m}^3$ , incluindo no estudo que refere apenas a média das amostragens, esse limite é também ultrapassado (74).

No entanto esses valores poderão não ser representativos da exposição ao longo do dia de trabalho e sim, de situações ocasionais, sendo ainda assim difícil de determinar se na grande maioria do tempo de trabalho este limite é ultrapassado.

Por outro lado, o estudo que apresenta os valores mais altos medidos, de aproximadamente  $321700 \text{ UE}/\text{m}^3$  (76), diz respeito a amostras estacionárias e é datado de 1999 pelo que atualmente pode diferir. Este estudo não menciona ainda as áreas analisadas, referindo apenas que foram recolhidas amostras em locais da ETAR visitados regularmente.

Como este, outros valores de estudos mais antigos podem ser na atualidade distintos, por exemplo por melhorias ou alterações nos métodos realizados no tratamento das águas residuais. Inclusive 2 dos estudos com menores valores medidos são de 2018 e 2017 (91,92), pelo que possivelmente as ETAR estão atualmente melhor preparadas para prevenir esta exposição.

Apesar de existirem resultados que poderão não representar a atualidade e, embora na globalidade pareça existir uma diminuição dos valores máximos à medida que os estudos são mais recentes, não é regra, pelo que as diferenças poderão também ser consequência por exemplo dos locais medidos, características das ETAR e ainda possivelmente devido às técnicas de amostragem utilizadas. Seria relevante analisar detalhadamente cada estação de modo a permitir concluir mais acertadamente, além de que permitiria perceber quais as metodologias/abordagens que seriam mais apropriadas, em cada situação, para evitar a exposição não só de endotoxinas, mas de outros compostos nocivos também.

Seria além disso relevante analisar sobretudo as ETAR cujos estudos determinam menores valores de exposição, para verificar se usufruem de alguma metodologia que permita diminuir a exposição, como é referido num deles (91), o facto de ter processos confinados. Neste estudo, que diz respeito a uma ETAR destinada a tratar resíduos hospitalares, além de mencionar que os processos são confinados, refere ainda que as emissões de ar, antes de serem libertadas para a atmosfera, são tratadas por fotoionização, luz ultravioleta e catalise, diminuindo drasticamente o risco de exposição, incluindo para as populações vizinhas. Aquele que tem valores de 0.2-5.3 UE/m<sup>3</sup>(92), apresenta a gama mais baixa de concentração de endotoxinas e analisa 3 ETAR não contendo informação acerca das mesmas nem dos locais escolhidos para a recolha da amostra.

Outro estudo que atinge valores elevados nas medições (máximo de 39742.18 UE/m<sup>3</sup>) (86), apresenta uma média de 91 UE/m<sup>3</sup> em amostras pessoais, o que permite verificar que, a maioria dos valores são muito mais baixos do que o pico de exposição e assim, pode concluir-se que o valor máximo é referente à exposição ocasional, não sendo representativo da exposição diária dos trabalhadores. Foi referido que foi obtido em tarefas de inspeção, colheita de lama e desidratação da lama.

Para a recolha das amostras são adotadas duas metodologias, a recolha de amostras pessoais e as estacionárias. A primeira representa melhor a exposição diária dos trabalhadores, já que é feita ao longo do trabalho dos mesmos que geralmente engloba tarefas em diferentes locais na ETAR. As amostras estacionárias por sua vez são feitas num ponto fixo, em locais pré-determinados, sendo importantes para perceber os locais de maior exposição.

Alguns estudos têm presentes valores obtidos utilizando essas duas metodologias. Cerca de 2.1-272 UE/m<sup>3</sup> e 0-1850 UE/m<sup>3</sup> (78); 4-887 UE/m<sup>3</sup> e 4-868 UE/m<sup>3</sup> (85); 0.3-143.2 UE/m<sup>3</sup> e 0.2-172.7 UE/m<sup>3</sup> (77); 0.2-2093 UE/m<sup>3</sup> e 0.2-1397 UE/m<sup>3</sup> (87), em amostras pessoais e estacionárias respetivamente. No primeiro aqui mencionado(78), as amostras estacionárias atingem um pico bastante mais elevado do que as pessoais, pelo que esse valor não será representativo da exposição diária a que os indivíduos estão sujeitos. No segundo por sua vez (85), os valores mais elevados não são consideravelmente díspares, mas este refere a média das análises dos locais com maior exposição, sendo que é de 804 UE/m<sup>3</sup> nas medições pessoais (na limpeza de filtro prensa com água da torneira e a pressão elevada) e 187 UE/m<sup>3</sup> na estacionária (limpeza da prensa de correia com efluente e a pressão baixa), verificando-se assim que a exposição estacionária obteve geralmente valores mais baixos e que, os indivíduos que realizam aquele tipo de limpeza, sobretudo nas amostras pessoais, estão sujeitos a uma elevada exposição a endotoxinas. O seguinte, (77), obtém valores máximos mais elevados na exposição estacionária, mas novamente não totalmente díspares, sendo que, segundo a média apresentada, estão expostos a 9.5 UE/m<sup>3</sup> nas amostras pessoais, pelo que aquele valor máximo não é representativo e, 85.6 UE/m<sup>3</sup> nas amostras estacionárias em ETAR que realizam secagem da lama e apenas 3.4 UE/m<sup>3</sup> nas que não a realizam. Mostrando assim que este processo é uma potencial fonte de exposição.

Finalmente, a média do restante permite também concluir que os máximos não são valores representativos da exposição ao apresentar uma média de 27 UE/m<sup>3</sup> nas exposições pessoais e 33 UE/m<sup>3</sup> nas estacionárias (87).

É de realçar que um dos estudos aqui citado com valores de 4–887 UE/m<sup>3</sup> e 4–868 UE/m<sup>3</sup>, tem como propósito comparar diferentes metodologias associadas à limpeza e como tal esses valores apenas dizem respeito a tarefas de limpeza (85).

Dungan (2011) (88), com valores de 34.6–69.4 UE/m<sup>3</sup>, compara métodos de amostragem, sendo os valores referidos relativos ao tipo de amostragem e não a gama de valores obtida, sendo também importante referir que as amostras recolhidas aqui são do exterior, pelo que será nestes locais que apresentam concentrações mais baixas de endotoxinas e outros contaminantes, devido à diluição atmosférica. Num outro estudo, com 1.04–52 UE/m<sup>3</sup>, as amostras foram recolhidas em 1999 apenas numa ETAR de tamanho médio, mencionando que foram recolhidas as amostras em 12 locais associados a várias fases do tratamento, que serão amostras estacionárias (79), mas como diz respeito apenas a uma estação, não é possível generalizar, além disso, esses valores são baixos em comparação com a maioria, mas razões que o justifiquem não são apresentadas.

Um dos estudos parte do pressuposto que são conhecidos os locais de maior exposição, referindo que foram aí realizadas análises e comparadas com os locais que assumem de menor exposição. Os valores dos locais de menor exposição foram de 1.4–500 UE/m<sup>3</sup> num dos métodos de amostragem e 0.1–21 UE/m<sup>3</sup> utilizando outro método, ambas em medições pessoais, sendo que não são especificados os locais. Os valores dos locais de maior exposição não são concretamente referidos, sendo apenas mencionado que tarefas como limpeza de tanques têm exposição acima de 500 UE/m<sup>3</sup> (82). Este mesmo estudo compara medições no interior das ETAR e exterior, durante o inverno e verão, sendo que as medições no interior variaram de 1.7–158 UE/m<sup>3</sup> e exteriores 1.4–103 UE/m<sup>3</sup>, tendo as zonas interiores atingido valores mais elevados, como seria de esperar face a diluição atmosférica que ocorre no exterior. No entanto as medições do exterior no verão tiveram uma média próxima à do interior no inverno, 29.8 UE/m<sup>3</sup> e 29.7 UE/m<sup>3</sup>, respetivamente. Comparando estações do ano, o verão teve valores mais elevados (7.1–158 UE/m<sup>3</sup> no interior e 2.3–103 UE/m<sup>3</sup> no exterior durante o verão; 1.7–81 UE/m<sup>3</sup> no interior e 1.4–29 UE/m<sup>3</sup> no exterior durante o inverno), possivelmente devido à temperatura mais propícia para o desenvolvimento microbiano durante o verão. Ainda assim, seria relevante ter presente no artigo os locais analisados especificamente, por exemplo no exterior se serão próximos dos locais de tratamento, ou a favor do vento para onde será mais provável a dispersão dos componentes emitidos pelos tratamentos realizados nas ETAR. Esse tipo de informação está em falta, podendo ser crucial para melhor perceber a relevância, acrescentando ao facto de ter em falta mais resultados das medições obtidas.

Um outro estudo aqui indicado (84), fez apenas medições no exterior da ETAR, especificamente a 2 metros de distância (a favor do vento) de bacias de arejamento obtendo uma gama de valores de 294–891

UE/m<sup>3</sup> com uma média de 627 UE/m<sup>3</sup>, o que representam valores elevados, especialmente para o exterior da ETAR, o que mostra que locais de arejamento são uma potencial fonte de exposição. No entanto, foi analisada apenas uma ETAR, podendo não ser representativa.

É notório que os valores obtidos nos estudos, estão diretamente dependentes dos locais analisados e das tarefas realizadas pelos trabalhadores, entre outros fatores como a própria contaminação das águas residuais, os procedimentos realizados como o tipo de arejamento, se tem presente ou não ventilação, se os locais onde são realizados os tratamentos são no interior ou exterior e/ou se contém alguma metodologia que permita diminuir a exposição (por exemplo encapsulamento) e inclusive diferentes metodologias de recolha e tratamento de amostras podem influenciar as medições obtidas. Não obstante, é de ter em consideração, que a própria exposição varia diariamente devido também aos fatores referidos, pelo que seria importante a análise e comparação das medições realizadas em períodos de tempo mais alargados. Além disso, o grau de exposição humana, pode variar significativamente dependendo do tipo e da capacidade de uma ETAR, assim como do tipo de instalações, atividades realizadas e condições meteorológicas (50).

Além do mais, a comparação das medições obtidas torna-se dificultada pelo facto de terem sido adotadas diferentes metodologias de amostragem, sendo a falta de procedimentos de referência ainda um entrave (99). E como é fácil de compreender a recolha de amostras e o seu tratamento são fatores fundamentais que ditam os resultados obtidos.

A norma do *European Committee of Standardization*, EN 14031:2003, destinada à determinação de endotoxinas no ar na atmosfera do ambiente de trabalho, é inclusivamente criticada por permitir a interpretação individual, que tem como consequência a adoção de diferentes metodologias (27,99).

Analisando os artigos que possuem descrito a média das análises, pode facilmente verificar-se que alguns deles apresentam médias baixas como 2 UE/m<sup>3</sup> (79), 3.4 UE/m<sup>3</sup> (77) e 27 UE/m<sup>3</sup> (83), enquanto outros apresentam valores como 1400 UE/m<sup>3</sup> (75), 804 UE/m<sup>3</sup> (85) e 627 UE/m<sup>3</sup> (84), sendo que, dos 14 artigos que referem a média das análises (74,75,87,89,90,94,77,79,80,82–86), 6 deles apresentam valores superiores a 90 UE/m<sup>3</sup> (74,75,80,84–86). Logo, nessas estações, a exposição para os seus trabalhadores deve ser melhor prevenida.

Tentando relacionar os valores com a localização das ETAR analisadas, verifica-se que 2 estudos realizados na Holanda obtêm valores máximos iguais, nomeadamente 0.6–2093 UE/m<sup>3</sup> (83) e 0.2–2093 UE/m<sup>3</sup> nas amostras pessoais (87). Inclusive analisando as médias apresentadas nestes estudos, têm o mesmo valor de 27 UE/m<sup>3</sup>, portanto possivelmente, realizaram o estudo em ETAR comuns.

Estes foram os únicos com resultados próximos, dentro do mesmo país, o estudo com valor máximo mais elevado por exemplo, foi realizado na Suécia e, um outro do mesmo país, apresenta valores consideravelmente mais baixos (78). Outros realizados na Noruega apresentam máximo de aproximadamente 3000 UE/m<sup>3</sup> (68), sendo datado de 1994, enquanto que Heldal *et al.* (2019) (95),

obtiveram um máximo de 262 UE/ $m^3$ , pelo que eventualmente pode significar que foram realizadas melhorias desde essa data.

Por outro lado, a quantidade de estações analisadas entre estudos é variada, pelo que alguns deles podem não conter resultados que possam ser generalizados. Por exemplo Smit *et al.* (2005)(83), analisam 40 ETAR, de forma semelhante, Spaan *et al.* (2008) (87), analisam 43, mas em contrapartida, outros analisam 3 ETAR (89,92), 2 (77) e até apenas uma estação (79,80,84).

Relativamente às áreas/tarefas de maior exposição, uma ampla variedade é referida, estando também dependentes dos locais analisados, por exemplo está presente um estudo onde são comparadas formas e locais de limpeza pelo que os valores obtidos poderão não refletir os valores mais elevados de exposição dos trabalhadores numa ETAR.

Apesar disso, o mais citado diz respeito a processos e tratamentos relacionados à lama (74–77,79–81,86,87,90), seguido de tarefas de limpeza (76,82,85,86,95) e outros também referidos como locais de entrada e saída de águas residuais (75,79,87,91), sala de floculação(78,81), tratamento biológico (80,90), entre outros.

É sabido que as técnicas utilizadas para o tratamento de águas residuais podem potenciar a aerossolização de substâncias contidas na água (100,101).

Assim, durante o tratamento das águas residuais, diferentes processos contribuem para a formação de aerossóis, principalmente aqueles que provocam movimento na água (tanto por agitação mecânica quanto por gerarem turbulência), nomeadamente processos de arejamento, podendo resultar na libertação de uma variedade de microrganismos, dos seus componentes e outros compostos potencialmente tóxicos. O arejamento pode provocar salpicos e bolhas de água, e aquele que acontece na lama é responsável, muitas vezes, pela produção de grandes quantidades de bioaerossóis. Dado que a quantidade de contaminantes libertados é proporcional ao tamanho das bolhas formadas, o tipo de arejamento utilizado vai ter elevada influência na contaminação do ar, sendo que os processos de arejamento que se realizam na superfície da água têm maior libertação de contaminantes, face aos que se realizam subaquaticamente. O grau de turbulência gerada pelo processo poderá ser uma das medidas a analisar de modo a diminuir esta libertação de compostos presentes na água, outro procedimento poderá passar pela cobertura das regiões onde são realizados este tipo de tratamentos. Além disso, estudos afirmam que o tratamento preliminar, biológico e o espessamento das lamas são os processos que geram maior quantidade de bioaerossóis (50,51,55,101–105).

Assim, as endotoxinas na matriz ar, além de dependerem das técnicas utilizadas estão também naturalmente relacionadas à contaminação da substância a tratar.

Tendo em conta que as lamas são obtidas em diferentes fases do tratamento das águas residuais incluindo os estádios iniciais, como remoção de sólidos, estão amplamente contaminadas por diversos compostos (106,107). Por este motivo, as lamas precisam também de sofrer tratamento e, desta forma é

facilmente compreendido que estas sejam uma potencial fonte de exposição e consequentemente trabalhadores que atuam na proximidade ou que de alguma forma intervêm no tratamento das lamas podem ser altamente expostos a endotoxinas.

Assim pode-se concluir que o tratamento da lama é uma potencial fonte de exposição a endotoxinas.

De seguida, tarefas de limpeza de locais onde circulam e estão presentes as águas residuais contaminadas ou lama, são suscetíveis a ter elevadas concentrações de contaminantes nelas presentes, incluindo endotoxinas, pelo que mais uma vez é facilmente justificável serem tarefas que representam elevada exposição, dependendo também da metodologia da limpeza empregue.

Por outro lado, locais de passagem de águas residuais, estão também sujeitos à exposição de componentes nelas contida.

Adicionalmente aos estudos incluídos na revisão, existem estudos que também concluíram que as zonas de maior exposição, não avaliando o nível de endotoxinas, mas de bactérias, seria os locais de arejamento destinados a aumentar os níveis de oxigénio, além de serem reportadas quantidades igualmente elevadas de formação de aerossóis em locais de desidratação de lamas (55). Yang *et al.* (2019) (108), que analisam bactérias no ar em ETAR, conclui também que os locais de maior formação de aerossóis são nos locais com arejamento, agitação mecânica e locais interiores na ETAR.

Fracchia *et al.* (2006) (109), referem outros locais de produção de aerossóis, nomeadamente as câmaras de entrada das águas residuais, sendo que locais de entrada e saída de águas residuais são também locais mencionados como de elevada exposição pelos artigos resultantes da pesquisa sistemática.

Sánchez-Monedero *et al.* (2008) (110), por sua vez, concluem também que o edifício de pré-tratamento de águas residuais brutas, o reator biológico e a unidade de desidratação da lama são os locais de maior emissão de aerossóis no tratamento das águas residuais, sendo de referir que avalia também os microrganismos na matriz ar, no entanto, os locais de maior formação de aerossóis contendo microrganismos serão idênticos aos que contêm endotoxinas.

Ainda neste tema, Rieger *et al.* (2018) (93), afirmam que num estudo realizado anteriormente, determinaram que a limpeza da câmara de filtro prensa, utilizado para a desidratação da lama, foi o local onde obtiveram valores mais elevados de endotoxinas, em combinação com baixas concentrações de outros contaminantes biológicos e desta forma a análise foi feita maioritariamente nas armadilhas de areia e sobretudo na câmara de filtro prensa. Neste estudo está ainda mencionado que valores baixos ou até sem exposição foram observados em tarefas específicas como de monitorização ou trabalhos administrativos.

Assim, além dos estudos utilizados nesta revisão, outros suportam que o tratamento da lama, nomeadamente a desidratação, são potenciais fontes de exposição.

É de referir que apesar de alguns estudos existir associação da exposição a funções, como por exemplo operadores, pode não ser o mais correto, pelo facto de os trabalhadores poderem realizar diferentes tarefas ao longo do dia de trabalho.

Além do que foi sendo citado, a exposição está também intrinsecamente dependente das ETAR analisadas e das suas características.

Analisando outro parâmetro em estudo, é possível verificar que a grande maioria dos artigos analisados não associa sintomatologia.

É de ressaltar que os sintomas são determinados por questionário, sendo este um método falível e sujeito a erro, ainda mais devido ao facto de os sintomas descritos poderem ter uma variedade de causas, independentes da exposição a endotoxinas. Adicionalmente, utilizando este método, pode tornar-se difícil detetar todos os sintomas e patologias presentes nos trabalhadores e ainda mais associa-los a uma causa específica. Foi em alguns casos também realizado o exame de espirometria que permite tirar conclusões mais acertadas acerca da saúde dos trabalhadores.

Não obstante, os sintomas mais comuns associados à exposição de endotoxinas na matriz ar foram diminuição da função pulmonar (90,95) e sintomas respiratórios (74,76), incluindo irritação no nariz e garganta, tosse e falta de ar. Foram mencionados sintomas gastrointestinais (76), mas apenas num dos estudos e outros como cansaço incomum (74) também foi associado à exposição a endotoxinas.

Além destes, Melbostad *et al.* (1994) (68), mesmo não associando especificamente endotoxinas a nenhum sintoma, reportam maior prevalência de irritação no nariz, náusea e falta de ar.

Considerando que as endotoxinas podem causar a inflamação, a sintomatologia pode ser distinta, mas dado que aqui é analisada a exposição a endotoxinas pela matriz ar é de esperar que sejam afetadas especialmente as vias respiratórias. Deste modo, é facilmente justificável que exista associação de exposição a endotoxinas a diminuição da função pulmonar e sintomas respiratórios (111).

Rylander (2006) (112), menciona a associação a exposição a endotoxinas no ar a diferentes sintomatologias referidas nos artigos da revisão sistemática, nomeadamente pneumonite tóxica ou síndrome do choque tóxico, irritação no nariz e vias respiratórias, inflamação crónica das vias respiratórias. Além de também referir sintomas menos reconhecidos como gastrointestinais, efeitos sistémicos como fadiga e dor nas articulações. Por outro lado, reconhece que há estudos com associação a endotoxinas à diminuição mais rápida da função pulmonar ao longo dos anos.

A síndrome gripal, também designado de pneumonite tóxica é referido noutros estudos também como tendo a origem mais provável a exposição a endotoxinas. Esta síndrome pode englobar dores musculares, fadiga, febre, aperto no peito, sintomas do trato respiratório e indisposição. A exposição a endotoxinas foi também associada à diminuição da capacidade de difusão pulmonar (113), ou seja, mais uma vez vem de encontro ao citado de que as endotoxinas podem interferir com a função pulmonar.

Assim, vários estudos reforçam o indicado pelos artigos incluídos na pesquisa, de que as endotoxinas interferem com a função pulmonar, existindo também outras alterações respiratórias, entre outras como a nível gastrointestinal.

Não obstante, uma diversidade de compostos nas ETAR são passíveis de afetar a saúde dos trabalhadores e não apenas as endotoxinas. Como tal, e dada a inespecificidade dos sintomas e também das metodologias utilizadas para os determinar, a maioria dos estudos que apresenta sintomas, fazem-no tendo em conta que poderá não ser uma causa apenas da exposição a endotoxinas, mas também de outros componentes.

Os principais sintomas mencionados foram os respiratórios, sendo particularizados em alguns dos estudos, como por exemplo irritação no nariz, irritação e dor de garganta, nariz congestionado, tosse entre outros como semelhantes a asma. Os seguintes mais frequentes foram os gastrointestinais, inclusive diarreia. Dor musculares e nas articulações foram também reportados além de outros como cansaço, dor de cabeça, entre outros.

Assim, os sintomas reportados podem ter causas distintas, incluindo podem ser resultado de outras exposições e fatores externos às ETAR.

Apesar disso, Heldal *et al.* (2019) (95), afirmam que os sintomas respiratórios dos trabalhadores podem muitas vezes ser associados à exposição a endotoxinas, enquanto que sintomas neurológicos estão associados à exposição a sulfato de hidrogénio, contudo estudos posteriores seriam necessários para determinar irrefutavelmente as causas dos sintomas.

Além do referido, os sintomas consequentes da exposição a endotoxinas podem ser confundidos por exemplo por gripe e, muitas vezes são de curta duração, pelo que não são associados, podendo portanto não serem valorizados devidamente (9,65).

Por outro lado, como foi mencionado inicialmente, indivíduos expostos a endotoxinas podem desenvolver pré-condicionamento. Esta possibilidade foi abordada por Rieger *et al.* (2018) (93), no entanto não lhes foi possível concluir acerca deste fenómeno defendendo que é necessário repetir o estudo.

Um parâmetro que seria também importante avaliar mais detalhadamente diz respeito a uma possível tendência para a prevalência de sintomas de acordo com o período de trabalho nas ETAR, isto é, se os indivíduos com maior tempo de trabalho têm maior prevalência de sintomas ou possivelmente se desenvolvem «tolerância» à presença de compostos como endotoxinas. Embora seja referido em alguns estudos o período de trabalho, em dois deles não são tiradas associações, nomeadamente no desenvolvimento de sintomas (90,93); outro no entanto, refere que trabalhadores com mais de 20 anos de trabalho declaram mais sintomas respiratórios e cutâneos em comparação com trabalhadores mais inexperientes (0-4 anos de trabalho), tendo este uma amostra significativa de questionários de 460 trabalhadores (83); outro ainda afirma não ter encontrado uma relação significativa entre os sintomas reportados e o número de anos de trabalho (80). Douwes *et al.* (2001) (77), afirmam ainda neste

contexto, que trabalhadores com 5 anos ou menos de experiência em ETAR tiveram baixa prevalência de sintomas, no entanto, eram notavelmente superiores em indivíduos com 5-10 anos de trabalho, mas diminuem após 15 anos de trabalho, não abordando a possibilidade de adquirirem tolerância. Apesar destas afirmações seria relevante abordar melhor este tema, tendo em conta por exemplo as patologias que os trabalhadores possam possuir e, optar por metodologias mais precisas para detetar potenciais alterações na saúde dos trabalhadores.

Não obstante, seria também relevante determinar se os trabalhadores avaliados possuem patologias que possam influenciar os resultados.

## 5. Conclusão

É consensual que as endotoxinas podem representar perigo para a saúde de indivíduos expostos, em especial trabalhadores de locais potencialmente contaminados incluindo as ETAR.

No entanto, valores de exposição, assim como consequências para a saúde dos trabalhadores não foram ainda irrefutavelmente apresentados. Assim, sendo que as diferentes metodologias adotadas parecem ser um entrave, a definição das mais corretas a adotar, desde a recolha de amostra até à quantificação e a sua uniformização seria um passo importante, além de serem necessários estudos mais aprofundados das consequências para a saúde da exposição de endotoxinas na matriz ar.

Os locais de maior exposição nas ETAR, mostraram ser nesta revisão, sobretudo os de tratamento da lama bem como as tarefas de limpeza.

Por outro lado, as endotoxinas parecem estar maioritariamente associadas aos sintomas respiratórios e diminuição da função pulmonar, já que possuem a capacidade de causar inflamação, sobretudo nessa via ao ser inalada, sendo ainda referidos outros sintomas como gastrointestinais.

Não obstante, são necessários métodos mais adequados para analisar potenciais patologias nos trabalhadores, assim como melhor demarcar relação causa-efeito da exposição a endotoxinas seriam fatores essenciais para melhor perceber quais as ações a realizar para a sua prevenção. Por sua vez também é importante definir de forma distinta os locais de maior risco para permitir desenvolver comportamentos e/ou melhorias nas metodologias para prevenir a exposição, idealmente, realizar o estudo para cada instituição individual.

Por outro lado, um acompanhamento dos trabalhadores ao longo de um período alargado de tempo poderia permitir tirar conclusões mais acertadas acerca da influência da exposição a endotoxinas.

Com base nos resultados obtidos, poderão ser realizadas medidas como a definição regras mais rígidas quanto à proteção dos trabalhadores, como utilização de equipamentos individuais, mas também boas práticas de higiene e uma maior divulgação /consciencialização dos trabalhadores quanto à importância das mesmas. Além disso, idealmente, os processos de tratamento das águas residuais deveriam ser confinados de modo a prevenir a libertação de aerossóis para a atmosfera, juntando a isto, métodos de tratamento anteriores à libertação dos compostos voláteis. Eventualmente, automatizar os processos de modo a diminuir a presença de trabalhadores nos locais contaminados, por exemplo nas limpezas. Por sua vez, seria importante na medida do possível, o desenvolvimento de métodos eficazes de remoção de endotoxinas. Além disso, dispositivos que permitissem medir a contaminação, sobretudo do ar, nos diversos locais da ETAR, por exemplo através de biossensores, e que tornassem possível monitorizar e alertar os trabalhadores para a ocorrência de níveis elevados seria uma forma de controlar e conseqüentemente permitiria diminuir a exposição.

Por outro lado, de modo a proteger populações vizinhas, as estações de tratamento deverão idealmente ser distantes destas e, sobretudo quando não é possível, deve ser realizado o tratamento do ar que é libertado, das ETAR para a atmosfera.

Preferencialmente, deveria também existir uma melhor perceção dos potenciais agentes nocivos que estão presentes numa ETAR, a sua caracterização e avaliação dos efeitos nocivos que podem representar em especial para os trabalhadores.

Em suma, foi possível verificar que esta exposição é um acontecimento comum em ETAR e que, existe prevalência de alguns sintomas nos trabalhadores, incluindo os mencionados como associados a endotoxinas, sintomas respiratórios e diminuição da função pulmonar. Além disso, zonas de tratamento da lama foram relatados como representando especial risco de exposição, seguido de procedimentos de limpeza. Apesar disso, conclusões acerca dos valores de exposição não foram possíveis, devido à sua diversidade e pela dificuldade de os relacionar, já que podem ser influenciados por diversos fatores e também pela não uniformização dos métodos de recolha e tratamento de amostras. Desta forma, estudos posteriores tornam-se necessários.

## Referências Bibliográficas

1. Blauwkamp TA, Thair S, Rosen MJ, Blair L, Lindner MS, Vilfan ID, et al. Analytical and clinical validation of a microbial cell-free DNA sequencing test for infectious disease. *Nat Microbiol.* 2019;4(4):663–74.
2. Shintani H. Validation studies for microbial contamination and control of contaminants. *Biocontrol Sci.* 2015;20(3):161–70.
3. Thorne PS, Bartlett KH, Phipps J, Kulhankova K. Evaluation of five extraction protocols for quantification of endotoxin in metalworking fluid aerosol. *Ann Occup Hyg.* 2003;47(1):31–6.
4. Dullah EC, Ongkudon CM. Current trends in endotoxin detection and analysis of endotoxin–protein interactions. *Crit Rev Biotechnol.* 2017;37(2):251–61.
5. Cavailon JM. Exotoxins and endotoxins: Inducers of inflammatory cytokines. *Toxicon* [Internet]. 2017;149:45–53. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.10.016>
6. Rylander R. Endotoxin in the environment – Exposure and effects. *J Endotoxin Res.* 2002;8(4):241–52.
7. Duquenne P, Marchand G, Duchaine C. Measurement of endotoxins in bioaerosols at workplace: A critical review. Vol. 57, *Annals of Occupational Hygiene.* 2012. 137–172 p.
8. O’Toole J, Sinclair M, Jeavons T, Leder K. Alternative water sources and endotoxin. *Water Sci Technol.* 2008;58(3):603–7.
9. Zhang C, Tian F, Zhang M, Zhang Z, Bai M, Guo G, et al. Endotoxin contamination, a potentially important inflammation factor in water and wastewater: A review. *Sci Total Environ* [Internet]. 2019;681:365–78. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.036>
10. Fennrich S, Hennig U, Toliashvili L, Schlensak C, Wendel HP, Stoppelkamp S. More than 70 years of Pyrogen detection: Current state and future perspectives. *ATLA Altern to Lab Anim.* 2016;44:239–53.
11. Magalhães PO, Lopes AM, Mazzola PG, Rangel-yagui C, Penna TC V. Methods of Endotoxin Removal from Biological Preparations: a Review. *Methods of Endotoxin Removal from Biological Preparations: a Review.* *J Pharm Sci* [Internet]. 2007;10(3):1–15. Available from: [https://sites.ualberta.ca/~csp/JPPS10\\_3/MS\\_996/MS\\_996.html](https://sites.ualberta.ca/~csp/JPPS10_3/MS_996/MS_996.html)

12. Wang, Xiaoyuan; Zhang, Chan; Shi, Feng; Hu X. Endotoxins:Lipopolysaccharides of Gram-negative Bacteria. *BioPharm Int.* 2010;24(8):14–7.
13. Adamik B, Zielinski S, Smiechowicz J, Kübler A. Endotoxin Elimination in Patients with Septic Shock: An Observation Study. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2015;63(6):475–83.
14. Singer M, Deutschman CS, Seymour C, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA - J Am Med Assoc.* 2016;315(8):801–10.
15. Anderson WB, Slawson RM, Mayfield CI. A review of drinking-water-associated endotoxin, including potential routes of human exposure. *Can J Microbiol.* 2002;48(7):567–87.
16. Oteros J, Bartusel E, Alessandrini F, Núñez A, Moreno DA, Behrendt H, et al. Artemisia pollen is the main vector for airborne endotoxin. *J Allergy Clin Immunol.* 2018;143(1):369–77.
17. Erridge C, Bennett-Guerrero E, Poxton IR. Structure and function of lipopolysaccharides. *Microbes Infect.* 2002;4(8):837–51.
18. Duchaine C, Thorne PS, Mériaux A, Grimard Y, Whitten P, Cormier Y. Comparison of Endotoxin Exposure Assessment by Bioaerosol Impinger and Filter-Sampling Methods. *Appl Environ Microbiol.* 2001;67(6):2775–80.
19. Su W, Ding X. Methods of Endotoxin Detection. *J Lab Autom.* 2015;20(4):354–64.
20. Brown GC. The endotoxin hypothesis of neurodegeneration. *J Neuroinflammation.* 2019;16(1):180.
21. Hoffman WD, Natanson C. Endotoxin in septic shock. *Anesth Analg.* 1993;77(3):613–24.
22. Reich J, Weyer FA, Tamura H, Nagaoka I, Motschmann H. Low endotoxin recovery—Masking of naturally occurring endotoxin. *Int J Mol Sci.* 2019;20(4):1–15.
23. André P, Laugerette F, Féart C. Metabolic endotoxemia: A potential underlying mechanism of the relationship between dietary fat intake and risk for cognitive impairments in humans? *Nutrients.* 2019;11(8).
24. Li Y, Boraschi D. Endotoxin contamination: A key element in the interpretation of nanosafety studies. *Nanomedicine.* 2016;11(3):269–87.
25. Bidne K, Dickson M, Ross J, Baumgard L, Keating A. Disruption of female reproductive function by endotoxins. *Reproduction.* 2018;155(4):169–81.

26. Rooij MMT, Smit LAM, Erbrink HJ, Hagenaars TJ, Hoek G, Ogink NWM, et al. Endotoxin and particulate matter emitted by livestock farms and respiratory health effects in neighboring residents. *Environ Int* [Internet]. 2019;132(April). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105009>
27. Standardization EC of. *Workplace atmospheres–Determination of airborne endotoxins*. 2003.
28. Mendy A, Wilkerson J, Salo PM, Zeldin DC, Thorne PS. Endotoxin clustering with allergens in house dust and asthma outcomes in a U . S . national study. 2020;1–10.
29. Ying GQ, Zhu FF, Yi Y, Chen JS, Mei JF, Zhang YL, et al. Selecting DNA aptamers for endotoxin separation. *Biotechnol Lett*. 2015;37(8):1601–5.
30. Simazaki D, Hirose M, Hashimoto H, Yamanaka S, Takamura M, Watanabe J, et al. Occurrence and fate of endotoxin activity at drinking water purification plants and healthcare facilities in Japan. *Water Res* [Internet]. 2018;145:1–11. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.08.009>
31. Petsch D, Anspach FB. Endotoxin removal from protein solutions. *J Biotechnol*. 2000;76(2–3):97–119.
32. Kitchens RL, Thompson PA. Modulatory effects of sCD14 and LBP on LPS–host cell interactions. *J Endotoxin Res*. 2005;11(4):225–9.
33. Munford RS. Detoxifying endotoxin: Time, place and person. *J Endotoxin Res*. 2005;11(2):69–84.
34. Holzheimer RG. Antibiotic induced endotoxin release and clinical sepsis: A review. *J Chemother*. 2001;13(SPEC. ISS. 1):159–72.
35. Mignon F, Piagnerelli M, Van Nuffelen M, Vincent JL. Effect of empiric antibiotic treatment on plasma endotoxin activity in septic patients. *Infection*. 2014;42(3):521–8.
36. Utili R, Abernathy CO, Zimmerman HJ. Endotoxin effects on the liver. *Life Sci*. 1977;20(4):553–68.
37. Harm S, Falkenhagen D, Hartmann J. Endotoxin adsorbents in extracorporeal blood purification: Do they fulfill expectations? *Int J Artif Organs*. 2014;37(3):222–32.
38. Buttenschoen K, Radermacher P, Bracht H. Endotoxin elimination in sepsis: Physiology and therapeutic application. *Langenbeck’s Arch Surg*. 2010;395(6):597–605.
39. Deng M, Scott MJ, Loughran P, Gibson G, Sodhi C, Watkins S, et al. Lipopolysaccharide Clearance, Bacterial Clearance, and Systemic Inflammatory Responses Are Regulated by

- Cell Type–Specific Functions of TLR4 during Sepsis. *J Immunol.* 2013;190(10):5152–60.
40. Kim S, Kim H. Dynamic lipopolysaccharide transfer cascade to TLR4–MD–2 complex via LBP and CD14. *BMB Rep.* 2017;50(2):55–7.
  41. Płóciennikowska A, Zdioruk MI, Traczyk G, Świątkowska A, Kwiatkowska K. LPS-induced clustering of CD14 triggers generation of PI(4,5)P2. *J Cell Sci.* 2015;128(22):4096–111.
  42. Schwarz H, Gornicec J, Neuper T, Parigiani MA, Wallner M, Duschl A, et al. Biological activity of masked endotoxin. *Sci Rep [Internet].* 2017;7(February):1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep44750>
  43. Mu D, Miao C, Cheng Y, Li P, Gong J, Zhang W. The on–off action of Forkhead protein O3a in endotoxin tolerance of Kupffer cells depends on the PI3K/AKT pathway. *Int Immunopharmacol.* 2020;82(76):1–9.
  44. Yatim KM, Oberbarnscheidt MH. Endotoxin and AKI: Macrophages protect after preconditioning. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(6):1231–2.
  45. Hato T, Winfree S, Kalakeche R, Dube S, Kumar R, Yoshimoto M, et al. The macrophage mediates the renoprotective effects of endotoxin preconditioning. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(6):1347–62.
  46. Bohannon JK, Hernandez A, Enkhbaatar P, Adams WL, Sherwood ER. The immunobiology of toll-like receptor 4 agonists: From endotoxin tolerance to immunoadjuvants. *Shock.* 2013;40(6):451–62.
  47. Tani T, Shimizu T, Tani M, Shoji H, Endo Y. Anti-endotoxin Properties of Polymyxin B-immobilized Fibers. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1145:321–41.
  48. Monard C. Extracorporeal Blood Purification Therapies for Sepsis. 2019;47(suppl 3):1–14.
  49. Ronco C. Endotoxin removal: History of a mission. *Blood Purif.* 2014;37(SUPPL. 1):5–8.
  50. Korzeniewska E. Emission of bacteria and fungi in the air from wastewater treatment plants – a review. *Front Biosci.* 2011;(5):393–407.
  51. Ren Y, Kong J, Xue J, Shi X, Li H, Qiao J, et al. Effects of ozonation on the activity of endotoxin and its inhalation toxicity in reclaimed water. *Water Res [Internet].* 2019;154:153–61. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.01.051>
  52. Ouf SA, Yehia RS, Ouf AS, Abdul–Rahim RF. Bacterial contamination and health risks of drinking water from the municipal non–government managed water treatment plants. *Environ Monit Assess.* 2018;190(11).
  53. Guizani M, Dhahbi M, Funamizu N. Assessment of endotoxin activity in wastewater

- treatment plants. *J Environ Monit.* 2009;11(7):1421–7.
54. Ohkouchi Y, Tajima S, Nomura M, Itoh S. Comparison of inflammatory responses in human cells caused by lipopolysaccharides from *Escherichia coli* and from indigenous bacteria in aquatic environment. *J Environ Sci Heal – Part A Toxic/Hazardous Subst Environ Eng.* 2012;47(13):1966–74.
  55. Yang T, Han Y, Liu J, Li L. Aerosols from a wastewater treatment plant using oxidation ditch process: Characteristics, source apportionment, and exposure risks. *Environ Pollut* [Internet]. 2019;250:627–38. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.071>
  56. Guizani M, Dhahbi M, Funamizu N. Survey on LPS endotoxin in rejected water from sludge treatment facility. *J Environ Monit.* 2009;11(11):1935–41.
  57. Peirce J, Weiner R, Vesilind P. Wastewater Treatment Environmental Pollution and Control. *Environmental Pollut Control.* 1998;105–23.
  58. Decreto de Lei nº 152/97 de 19 de Junho, que transpõe para a ordem jurídica interna o disposto na Diretiva n.º 91/271/CEE, do Conselho de 21 de Maio de 1991 in *Diário da República* n.º 139/1997, Série I-A [Internet]. Available from: <https://data.dre.pt/eli/dec-lei/152/1997/06/19/p/dre/pt/html>
  59. Monte H, Santos MT, Barreiros AM, Albuquerque A. Tratamento de Águas Residuais – Operações e Processos de Tratamento Físico e Químico [Internet]. 2016. 99–466 p. Available from: [www.ersar.pt](http://www.ersar.pt)
  60. Stefanakis A, Akrotos CS, Tsihrintzis VA. General Aspects of Sludge Management. *Vert Flow Constr Wetl.* 2014;181–9.
  61. Gulzar F, Mahmood Q, Bhatti ZA, Zeb BS, Shaheen S, Hayat T, et al. Industrial wastewater treatment in internal circulation bioreactor followed by wetlands containing emergent plants and algae. *World J Microbiol Biotechnol* [Internet]. 2018;34(8):0. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-018-2496-6>
  62. Rapala J, Lahti K, Räsänen LA, Esala AL, Niemelä SI, Sivonen K. Endotoxins associated with cyanobacteria and their removal during drinking water treatment. *Water Res.* 2002;36(10):2627–35.
  63. Mokhtar G. Microfiltration, Nano-filtration and Reverse Osmosis for the Removal of Toxins (LPS Endotoxins) from Wastewater. *J Membr Sci Technol.* 2012;02(03).
  64. Can Z, Wenjun L, Wen S, Minglu Z, Lingjia Q, Cuiping L, et al. Endotoxin contamination and

- control in surface water sources and a drinking water treatment plant in Beijing, China. *Water Res* [Internet]. 2013;47(11):3591–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2013.04.009>
65. Gangamma S, Patil RS, Mukherji S. Characterization and proinflammatory response of airborne biological particles from wastewater treatment plants. *Environ Sci Technol*. 2011;45(8):3282–7.
  66. Thorn J, Kerekes E. Health effects among employees in sewage treatment plants: A literature survey. *Am J Ind Med*. 2001;40(2):170–9.
  67. Madsen AM, Matthiesen CB. Exposure to aerosols during high-pressure cleaning and relationship with health effects. *Ann Agric Environ Med*. 2013;20(3):420–5.
  68. Melbostad E, Eduard W, Skogstad A, Sandven P, Lassen J, Sørstrand P, et al. Exposure to bacterial aerosols and work-related symptoms in sewage workers. *Am J Ind Med*. 1994;25(1):59–63.
  69. Lundholm M, Rylander R. Work related symptoms among sewage workers. *Br J Ind Med*. 1983;40(3):325–9.
  70. Friis L, Norbäck D, Edling C. Self-reported asthma and respiratory symptoms in sewage workers. *J Occup Health*. 1999;41(2):87–90.
  71. Khuder SA, Arthur T, Bisesi MS, Schaub EA. Prevalence of infectious diseases and associated symptoms in wastewater treatment workers. *Am J Ind Med*. 1998;33(6):571–7.
  72. Nethercott JR, Holiness DL. Health Status of a Group of Sewage Treatment Workers in Toronto, Canada. *Am Ind Hyg Assoc J*. 1988;49(7):346–50.
  73. Scarlett-Kranz JM, Babish JG, Strickland D, Lisk DJ. Health among municipal sewage and water treatment workers. *Toxicol Ind Health*. 1987;3(3):311–9.
  74. Heldal KK, Madsø L, Huser PO, Eduard W. Exposure, symptoms and airway inflammation among sewage workers. *Ann Agric Environ Med*. 2010;17(2):263–8.
  75. Laitinen S, Kangas J, Kotimaa M, Liesivuori J, Sarantila R, Husman K, et al. Workers' exposure to airborne bacteria and endotoxins at industrial wastewater treatment plants. *Am Ind Hyg Assoc J*. 1994;55(11):1055–60.
  76. Rylander R. Health effects among workers in sewage treatment plants. *Occup Environ Med*. 1999;56(5):354–7.
  77. Douwes J, Mannelje A, Heederik D. Work-related symptoms in sewage treatment

- workers. *Ann Agric Environ Med.* 2001;8(1):39–45.
78. Thorn J, Beijer L, Jonsson T, Rylander R. Measurement strategies for the determination of airborne bacterial endotoxin in sewage treatment plants. *Ann Occup Hyg.* 2002;46(6):549–54.
79. Prazmo Z, Krysińska-Traczyk E, Skórska C, Sitkowska J, Cholewa G, Dutkiewicz J. Exposure to bioaerosols in a municipal sewage treatment plant. *Ann Agric Environ Med.* 2003;10(2):241–8.
80. Krajewski JA, Cyprowski M, Szymczak W, Gruchała J. Health complaints from workplace exposure to bioaerosols: A questionnaire study in sewage workers. *Ann Agric Environ Med.* 2004;11(2):199–204.
81. Thorn J, Beijer L. Work-related symptoms and inflammation among sewage plant operatives. *Int J Occup Environ Health.* 2004;10(1):84–9.
82. Oppliger A, Hilfiker S, Duc TV. Influence of seasons and sampling strategy on assessment of bioaerosols in sewage treatment plants in Switzerland. *Ann Occup Hyg.* 2005;49(5):393–400.
83. Smit LAM, Spaan S, Heederik D. Endotoxin exposure and symptoms in wastewater treatment workers. *Am J Ind Med.* 2005;48(1):30–9.
84. Brooks JP, Tanner BD, Gerba CP, Pepper IL. The measurement of aerosolized endotoxin from land application of Class B biosolids in Southeast Arizona. *Can J Microbiol.* 2006;52(2):150–6.
85. Visser MJ, Spaan S, Arts HJJM, Smit LAM, Heederik DJJ. Influence of different cleaning practices on endotoxin exposure at sewage treatment plants. *Ann Occup Hyg.* 2006;50(7):731–6.
86. Lee JA, Thorne PS, Reynolds SJ, O'Shaughnessy PT. Monitoring risks in association with exposure levels among wastewater treatment plant workers. *J Occup Environ Med.* 2007;49(11):1235–48.
87. Spaan S, Smit LAM, Eduard W, Larsson L, Arts HJJM, Wouters IM, et al. Endotoxin exposure in sewage treatment workers: Investigation of exposure variability and comparison of analytical techniques. *Ann Agric Environ Med.* 2008;15(2):251–61.
88. Dungan RS. Airborne endotoxin from indoor and outdoor environments: Effect of sample dilution on the kinetic limulus amoebocyte lysate (lal) assay. *J Occup Environ Hyg.* 2011;8(3):147–53.

89. Heldal KK, Barregard L, Larsson P, Ellingsen DG. Pneumoproteins in sewage workers exposed to sewage dust. *Int Arch Occup Environ Health*. 2013;86(1):65–70.
90. Cyprowski M, Sobala W, Buczyńska A, Szadkowska-Stańczyk I. Endotoxin exposure and changes in short-term pulmonary function among sewage workers. *Int J Occup Med Environ Health*. 2015;28(5):803–11.
91. Uhrbrand K, Schultz AC, Koivisto AJ, Nielsen U, Madsen AM. Assessment of airborne bacteria and noroviruses in air emission from a new highly-advanced hospital wastewater treatment plant. *Water Res* [Internet]. 2017;112:110–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.046>
92. Boucher M, Blais Lecours P, Létourneau V, Veillette M, Duchaine C, Marsolais D. Organic components of airborne dust influence the magnitude and kinetics of dendritic cell activation. *Toxicol Vitro* [Internet]. 2018;50(December 2017):391–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2018.04.011>
93. Rieger MA, Liebers V, Nübling M, Brüning T, Brendel B, Hoffmeyer F, et al. Adaptation to occupational exposure to moderate endotoxin concentrations: A study in sewage treatment plants in Germany. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1116(October):89–109.
94. Cyprowski M, Stobnicka-Kupiec A, Górny RL, Gołofit-Szymczak M, Ptak-Chmielewska A, Ławniczek-Wałczyk A. Across-shift changes in upper airways after exposure to bacterial cell wall components. *Ann Agric Environ Med*. 2019;26(2):236–41.
95. Heldal KK, Austigard ÅD, Svendsen KH, Einarsdottir E, Goffeng LO, Sikkeland LI, et al. Endotoxin and Hydrogen Sulphide Exposure and Effects on the Airways among Waste Water Workers in Sewage Treatment Plants and Sewer Net System. *Ann Work Expo Heal*. 2019;63(4):437–47.
96. Majchrzycka K, Okrasa M, Szulc J. Respiratory Protection Against Hazardous Biological Agents. 2020. 59–75 p.
97. Heederik D, Douwes J. Towards an occupational exposure limit for endotoxins ? *Ann Agric Environ Med*. 1997;4(1):17–9.
98. Health Council of the Netherlands. Endotoxins. No Title.
99. Paba E, Tranfo G, Corsetti F, Marcelloni AM, Iavicoli S. Indoor exposure to airborne endotoxin: A review of the literature on sampling and analysis methods. *Ind Health*. 2013;51(3):237–55.
100. Korzeniewska E, Filipkowska Z, Gotkowska-Płachta A, Janczukowicz W, Rutkowski B.

- Bacteriological pollution of the atmospheric air at the municipal and dairy wastewater treatment plant area and in its surroundings. *Arch Environ Prot.* 2008;34(4):13–23.
101. Han Y, Yang T, Yan X, Li L, Liu J. Effect of aeration mode on aerosol characteristics from the same wastewater treatment plant. *Water Res* [Internet]. 2019;170:115324. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115324>
  102. Bauer H, Fuerhacker M, Zibuschka F, Schmid H, Puxbaum H. Bacteria and fungi in aerosols generated by two different types of wastewater treatment plants. *Water Res.* 2002;36(16):3965–70.
  103. Korzeniewska E, Filipkowska Z, Gotkowska-Płachta A, Janczukowicz W, Dixon B, Czułowska M. Determination of emitted airborne microorganisms from a BIO-PAK wastewater treatment plant. *Water Res.* 2009;43(11):2841–51.
  104. Filipkowska Z, Janczukowicz W, Krzemieniewski M, Pesta J. Microbiological Air Pollution in the Surroundings of the Wastewater Treatment Plant with Activated-Sludge Tanks Aerated by Horizontal Rotors. *Polish J Environ Stud.* 2000;9(4):273–80.
  105. Fernando NL, Fedorak PM. Changes at an activated sludge sewage treatment plant alter the numbers of airborne aerobic microorganisms. *Water Res.* 2005;39(19):4597–608.
  106. Pascual L, Pérez-Luz S, Yáñez MA, Santamaría A, Gibert K, Salgot M, et al. Bioaerosol emission from wastewater treatment plants. *Aerobiologia (Bologna).* 2003;19(3–4):261–70.
  107. Kowalski M, Wolany J, Pastuszka JS, Płaza G, Wlazło A, Ulfig K, et al. Characteristics of airborne bacteria and fungi in some Polish wastewater treatment plants. *Int J Environ Sci Technol.* 2017;14(10):2181–92.
  108. Yang K, Li L, Wang Y, Xue S, Han Y, Liu J. Airborne bacteria in a wastewater treatment plant: Emission characterization, source analysis and health risk assessment. *Water Res* [Internet]. 2019;149:596–606. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.11.027>
  109. Fracchia L, Pietronave S, Rinaldi M, Giovanna Martinotti M. Site-related airborne biological hazard and seasonal variations in two wastewater treatment plants. *Water Res.* 2006;40(10):1985–94.
  110. Sánchez-Monedero MA, Aguilar MI, Fenoll R, Roig A. Effect of the aeration system on the levels of airborne microorganisms generated at wastewater treatment plants. *Water Res.* 2008;42(14):3739–44.

111. Farokhi A, Heederik D, Smit LAM. Respiratory health effects of exposure to low levels of airborne endotoxin - A systematic review. *Environ Heal A Glob Access Sci Source*. 2018;17(1):1–20.
112. Rylander R. Endotoxin and occupational airway disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2006;6(1):62–6. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00130832-200602000-00012>
113. Annadotter H, Cronberg G, Nystrand R, Rylander R. Endotoxins from cyanobacteria and gram-negative bacteria as the cause of an acute influenza-like reaction after inhalation of aerosols. *Ecohealth*. 2005;2(3):209–21.