

# SHO 2018

International Symposium on  
Occupational Safety  
and Hygiene Guimarães  
Portugal

## TECHNICAL RECORD

### Title

International Symposium on Occupational Safety and Hygiene: Proceedings Book of the SHO2018

### Authors/Editors

Arezes, P., Baptista, J.S., Barroso, M.P., Carneiro, P., Cordeiro, P., Costa, N., Melo, R., Miguel, A.S., Perestrelo, G.

### Publisher

Portuguese Society of Occupational Safety and Hygiene (SPOSHO)

### Press Company

Norprint Artes Gráficas

### Date

March 2018

### Cover Design and Pagination

Manuela Fernandes

### ISBN

978-989-98203-8-8

### Legal Deposit

370216/14

### Edition

300 copies

## FICHA TÉCNICA

### Título

International Symposium on Occupational Safety and Hygiene: Proceedings Book of the SHO2018

### Autores/Editores

Arezes, P., Baptista, J.S., Barroso, M.P., Carneiro, P., Cordeiro, P., Costa, N., Melo, R., Miguel, A.S., Perestrelo, G.

### Editora

Sociedade Portuguesa de Segurança e Higiene Ocupacionais (SPOSHO)

### Impressão e Acabamentos

Norprint Artes Gráficas

### Data

Março de 2018

### Design da capa e edição

Manuela Fernandes

### ISBN

978-989-98203-8-8

### Depósito Legal

370216/14

### Tiragem

300 exemplares

This edition is published by the Portuguese Society of Occupational Safety and Hygiene - SPOSHO, 2018.

**Portuguese National Library Cataloguing in Publication Data**

International Symposium on Occupational Safety and Hygiene: Proceedings Book of the SHO2018  
edited by Arezes, P., Baptista, J.S., Barroso, M.P., Carneiro, P., Cordeiro, P., Costa, N., Melo, R., Miguel, A.S., Perestrelo, G.  
Includes biographical references and index.  
ISBN 978-989-98203-8-8

1. Safety. 2. Hygiene. 3. Industrial. 4. Ergonomics. 5. Occupational.  
Publisher: Sociedade Portuguesa de Segurança e Higiene Ocupacionais (SPOSHO)  
Occupational Safety Hygiene SHO Series  
Book in 1 volume, 220 pages

This book contains information obtained from authentic sources.

Reasonable efforts have been made to publish reliable data information, but the authors, as well as the publisher, cannot assume responsibility for the validity of all materials or for the consequences of their use.

Neither this book nor any part may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or physical, including photocopying, microfilming, and recording, or by any information storage or retrieval system, without prior permission in writing from the SPOSHO Direction Board.

All rights reserved. Authorization to photocopy items for internal or personal use may be granted by SPOSHO.

**Trademark Notice:** Product or corporate names may be trademarks or registered trademarks, and are used only for identification and explanation, without intent to infringe.

**SPOSHO**

DPS, Campus de Azurém

4800 – 058 Guimarães, Portugal

Visit SPOSHO website at: <http://www.sposho.pt>

© 2018 by SPOSHO

ISBN 978-989-98203-8-8

# Exposição a Agentes Biológicos: um Estudo de Caso em Autocarros Portugueses

## Exposure to Biological Agents: A case study in Portuguese Buses

Joana Santos

School of Health, Polytechnic Institute of Porto

### ABSTRACT

Buses are used by thousands of people in all cities. Passengers are faced with a microenvironment, which may have an impact on their human health. The present study aimed at evaluating and analysing of exposure to biological agents in collective road transport, through the quantification and identification of bacterial and fungal species inside buses. The study carried out in 41 bus trips from January to May 2017. The collection of pure bacterial and pure fungal colonies and their respective isolation was performed by plaque scoring technique, and DNA extraction was performed to identify the species, followed by the PCR technique and sequencing. The 7 identified bacterial species were *Staphylococcus argenteus*, *Bacillus siamensis*, *Exiguobacterium undae*, *Psychrobacter faecalis/pulmonis*, *Exiguobacterium mexicanum*, *Bacillus paralicheniformis*, *Exiguobacterium aquaticum*. The 6 identified fungal species were *Epicoccum nigrum*, *Cladoporium haloterans*, *Cryptococcus diffluens*, *Cladoporium tenuissimum*, *Alternaria infectoria* and *Alternaria tenuissima* / *Alternaria alternata*. Prevention measures such as maintenance of the air-conditioning and ventilation system, use of more efficient cleaning products are intended to ensure safety and comfort for all occupants.

**KEYWORDS:** fungi, bacterial contamination, air quality, transport

### 1. INTRODUÇÃO

Os transportes rodoviários coletivos, como os autocarros, são veículos de transporte público utilizados em massa por inúmeras pessoas em todo o mundo. A utilização de transportes públicos tem crescido nas áreas urbanas, devido a fatores como o preço acessível, a abrangência de várias rotas e o aumento da comodidade, contribuindo para o crescimento da economia do país (Ruiz et al., 2017). Contudo, os condutores de transportes públicos e os respetivos passageiros encontram-se expostos a um microambiente que pode conter concentrações significativas de agentes biológicos, como bactérias e fungos, sendo essencial apostar nas avaliações, verificando a exposição real e elaborando medidas de melhoria, de forma a salvaguardar a saúde humana (Pang e Mu., 2007). Jo e Lee (2008) referem que a exposição a elevadas concentrações de bioaerossóis encontra-se associada a patologias como a asma, rinite e pneumonite de hipersensibilidade. Concomitantemente, os autocarros têm sido apontados como fontes de alérgenos em pacientes com doenças atópicas (Wang et al., 2013). Considerando as características específicas deste tipo de ambientes, este estudo teve como principais objetivos analisar e identificar as espécies bacterianas e fúngicas presentes no ar e nas superfícies de autocarros com percursos urbanos e propor medidas que reduzam o risco de exposição dos ocupantes a estes agentes.

### 2. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo incluiu um total de 20 autocarros que realizam diferentes trajetos no Grande Porto, desde o centro à periferia, perfazendo um total de 41 viagens – 21 de ida e 20 de volta. As amostragens decorreram durante os meses de janeiro a maio de 2017, obtendo-se um número final de 61 isolados de bactérias, dos quais 51 pertenciam ao ar e 10 às superfícies. Quanto aos fungos, obtiveram-se 68 isolados, dos quais 66 pertenciam ao ar e 2 pertenciam às superfícies. As amostragens foram

realizadas em autocarros que partiam da garagem rumo à primeira paragem e, por isso, tinham sido higienizados durante a noite para estarem prontos a iniciar o seu trajeto normal durante o dia. Realizaram-se recolhas de amostras de superfícies ainda na garagem antes da entrada de passageiros e no final da viagem, de forma a avaliar a influência dos ocupantes na contaminação das superfícies. Por outro lado, as amostras de ar foram recolhidas sempre na presença de ocupantes, realizando uma amostragem no início da viagem de ida, outra no final da mesma viagem, e por conseguinte, uma amostragem no início da viagem de volta e outra no final da mesma viagem, de modo a avaliar a influência do número de ocupantes na contaminação do ar. Para realizar a colheita das amostras de ar recorreu-se ao amostrador MAS-100 da Merck. Estas amostras foram realizadas em pontos de amostragem específicos dos autocarros de acordo com as características do espaço, de forma a não comprometer o normal funcionamento do veículo e o transporte dos indivíduos. O volume de ar amostrado foi 250 L em todas as viagens. Para a recolha de amostras das superfícies foram realizados esfregaços com uma zaragatoa estéril. A recolha de amostras de superfícies foi realizada nos varões verticais junto às portas de entrada e saída de passageiros e ainda no corrimão lateral em frente à porta de saída e nos bancos dos últimos lugares. As amostras foram depois transportadas para o laboratório e incubadas durante 7 dias a 25°C, no caso dos fungos e a 37°C durante 48 h, no caso das bactérias. Após a contagem das colónias mistas das placas, selecionaram-se as colónias mais frequentes) e procedeu-se ao seu isolamento através do Método de Riscado em placa. Para a realização da extração do ADN das bactérias e dos fungos, utilizou-se o *E.Z.N.A Bacterial DNA Kit*, e seguiram-se as etapas do protocolo automatizado. De forma a identificar as espécies, recorreu-se à Técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), após a extração do ADN das bactérias e dos fungos, seguida de sequenciação.

### 3. RESULTADOS

Foram identificadas um total de 7 espécies de bactérias e 6 espécies de fungos presentes no ar e superfícies dos autocarros estudados, como é possível observar na Tabela 1.

Tabela 1 – Identificação das espécies

Bactérias	Fungos
<i>Staphylococcus argenteus</i>	<i>Epicoccum nigrum</i>
<i>Bacillus siamensis</i>	<i>Cladosporium halotolerans</i>
<i>Exiguobacterium undae</i>	<i>Cryptococcus diffluens</i>
<i>Psychrobacter faecalis/pulmonis</i>	<i>Cladosporium tenuissimum</i> ,
<i>Exiguobacterium mexicanum</i>	<i>Alternaria infectoria</i>
<i>Bacillus paralicheniformis</i>	<i>Alternaria tenuissima</i> / <i>Alternaria alternata</i>
<i>Exiguobacterium aquaticum</i>	

### 4. DISCUSSÃO

Relativamente às espécies de bactérias identificadas, os dados inerentes a infeções por *Staphylococcus argenteus* são limitados, contudo foi realizado um estudo na Austrália cujo resultado demonstrou que este microrganismo está predominantemente associado a infeções cutâneas e de tecidos moles (Chantratita *et al.*, 2016). A espécie *Bacillus siamensis* caracteriza-se como uma bactéria Gram (+) de origem ambiental e com ação fitopatogénica, não apresentando por isso risco potencial para saúde humana (Sumpavapol *et al.*, 2010). *Exiguobacterium undae* tem origem ambiental e está associado a estudos que analisaram amostras de água doce proveniente de lagoas (Frühling *et al.*, 2002). A espécie *Psychrobacter faecalis* foi encontrada num estudo que isolou este microrganismo a partir de bioaerossóis presentes num quarto contaminado com fezes de pombos, sugerindo a associação entre as fezes deste animal com o desenvolvimento desta espécie. A espécie *Psychrobacter pulmonis* foi encontrada e isolada a partir de estudos realizados em pulmões de cordeiro (Deschaght, 2012). A espécie *Exiguobacterium mexicanum* tem origem ambiental e está associado a cistos de camarão presentes em águas salobras (Lopez-Cortés, 2006). A espécie *Bacillus paralicheniformis* tem origem ambiental/alimentar, ou seja, não clínica. Esta bactéria Gram (+) anaeróbia, móvel e volátil formadora de endósporos foi isolada a partir de pasta fermentada de soja, segundo Dunlap *et al.* (2015). *Exiguobacterium aquaticum* é uma bactéria Gram (+), em forma de haste curta, que apresenta a cor amarelada, tem origem ambiental e foi isolada a partir de uma amostra de água recolhida em *Tikkar Tal Lake, Haryana* e submetida a uma análise taxonómica polifásica detalhada, de acordo Raichand *et al.* (2012).

No que diz respeito aos fungos identificados, a espécie *Epicoccum nigrum* tem distribuição mundial. Num estudo de Noble *et al.* (1997), através de amostras recolhidas do ar interior e amostras de materiais de construção, foi verificado que o fungo *E. Nigrum* colonizava os seios nasais de quatro pacientes, causando a designada sinusite fúngica alérgica. *Cladosporium halotolerans* é considerado comum no interior nas habitações. O número de estudos e de bases de dados relativos a *C. halotolerans* são escassos, visto que só recentemente este foi separado de *Cladosporium sphaerospermum* (Yang *et al.*, 2016). A espécie *Cryptococcus diffluens* é um fungo ambiental que provoca lesões na pele, que podem ser resistentes a antibióticos, dificultando o tratamento dos pacientes. A espécie *Cladosporium tenuissimum* tem origem ambiental, sendo considerada patogénica para plantas. *Alternaria infectoria* tem origem ambiental e afeta, principalmente, as colheitas de trigo. No entanto, este fungo também é considerado patogénico para o ser humano, podendo causar infeção subcutânea e sistémica (Halaby *et al.* 2001). A espécie *Alternaria tenuissima* pode afetar a pele de pacientes imunocomprometidos, produzindo metabolitos tóxicos que podem colocar em risco o ser humano. Pastor e Guarro (2008) referem que *A. alternata* foi identificada como agente causal em seis casos de lesões oculares, tendo também sido isolada em quatro casos de sinusite causada por fungos. Estes autores mencionam que embora a incidência de *Alternaria spp.* como agente causal de onicomiose seja reduzida, *A. alternata* foi isolada em 11 pacientes.

### 5. CONCLUSÕES

Os autocarros públicos são parte integrante do dia de muitos indivíduos, constituindo, certamente, um microambiente potencial para a exposição individual a microrganismos, como bactérias e fungos, potencialmente patogénicos, constituintes tanto do ar como das superfícies. Neste estudo foram identificadas espécies com origem humana, contudo, foram também detetadas espécies ambientais com relevância do ponto de vista da saúde pública. O arejamento natural dos espaços, através da abertura de janelas, a higienização das superfícies com produtos desinfetantes que apresentem um tempo de atuação mais prolongado e a formação/sensibilização de profissionais e ocupantes poderão representar ações que minimizem a exposição a agentes biológicos nos transportes rodoviários de passageiros.

### 6. AGRADECIMENTOS

R.S. Oliveira reconhece o apoio da Fundação para Ciência e Tecnologia (FCT) através da bolsa de pesquisa SFRH / BPD / 85008/2012, Fundo Social Europeu (FSE) e Programa Operacional do Capital Humano (POCH). M.F. Carvalho agradece o apoio do programa FCT, FSE e Programa Operacional do Potencial Humano (POPH) ao investigador.

## 7. REFERÊNCIAS

- Chantratita N, Wikraiphat C, Tandhavanant S et al (2016). Comparison of community-onset *Staphylococcus argenteus* and *Staphylococcus aureus* sepsis in Thailand: a prospective multicentre observational study. *Clin Microbiol Infect*, 35, 1017-1022. DOI: 10.1016/j.cmi.2016.01.008.
- Deschaght, P., Janssens, M., Vanechoutte, M., Wauters, G. (2012). *Psychrobacter* isolates of human origin, other than *Psychrobacter phenylpyruvicus*, are predominantly *Psychrobacter faecalis* and *Psychrobacter pulmonis*, with emended description of *P. faecalis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62, 671-674. DOI: 10.1099/ijs.0.032631-0
- Dunlap, C.,A., Kwon, S., W., Rooney, A., P., Kim, S.,J. (2015). *Bacillus paralicheniformis* sp. nov., isolated from fermented soybean paste. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* , 65, 3487–3492. DOI: 10.1099/ijsem.0.000441.
- Frühling A, Schumann P, Hippe H, Sträubler B, Stackebrandt E. (2002). *Exiguobacterium undae* sp. nov. and *Exiguobacterium antarcticum* sp., *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52, 1171-1176. DOI: 10.1099/00207713-52-4-1171.
- Halaby, T., Boots, H., Vermeulen, A., van der Ven, A., Beguin, H., van Hooff, H., & Jacobs, J. (2001). Phaeohyphomycosis caused by *Alternaria infectoria* in a renal transplant recipient. *Journal of clinical microbiology*, 39, 1952-1955. DOI: 10.1128/JCM.39.5.1952–1955.2001.
- Jo, W. K., & Lee, J. H. (2008). Airborne fungal and bacterial levels associated with the use of automobile air conditioners or heaters, room air conditioners, and humidifiers. *Archives of environmental & occupational health*, 63, 101-107. DOI: 10.3200/AEOH.63.3.101-107.
- López-Cortés, A., Schumann, P., Pukall, R., Stackebrandt, E., (2006). *E. Exiguobacterium mexicanum* sp. nov. and *Exiguobacterium artemiae* sp. nov., isolated from the brine shrimp *Artemia franciscana*. *Systematic and Applied Microbiology* , 29, 183-190. DOI: 10.1016/j.syapm.2005.09.007
- Noble, J. A., Crow, S. A., Ahearn, D. G., & Kuhn, F. A. (1997). Allergic fungal sinusitis in the southeastern USA: involvement of a new agent *Epicoccum nigrum* Ehrenb. ex Schlecht. *Journal of medical and veterinary mycology*, 35, 405-409. PMID: 9467107.
- Pang, X., & Mu, Y. (2007). Characteristics of carbonyl compounds in public vehicles of Beijing city: concentrations, sources, and personal exposures. *Atmospheric Environment*, 41, 1819-1824. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2006.10.057
- Pastor, F. J., & Guarro, J. (2008). *Alternaria* infections: laboratory diagnosis and relevant clinical features. *Clinical Microbiology and Infection*, 14, 734-746. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2008.02024.x
- Raichand, R., Pareek, S., Singh, N.,K., Mayilraj, S. (2012): *Exiguobacterium aquaticum* sp. nov., a member of the genus *Exiguobacterium*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62, 2150–2155. DOI: 10.1099/ijs.0.035790-0.
- Ruiz, M., Segui-Pons, J. M., & Mateu-LLadó, J. (2017). Improving Bus Service Levels and social equity through bus frequency modelling. *Journal of Transport Geography*, 58, 220-233.
- Sumpavapol Punnanee P., Tongyonk Linna L., Tanasupawat Sombon S., Chokesajjawatee Nipa N., Luxananil Plearnpis P., Visessanguan Wonnop W. (2010) *Bacillus siamensis* sp. nov., isolated from salted crab (poo-khem) in Thailand. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*, 60, 2364–2370. DOI: 10.1099/ijs.0.018879-0.
- Wang, Y. F., Tsai, C. H., Huang, Y. T., Chao, H. R., Tsou, T. C., Kuo, Y. M., Wang, L. C. & Chen, S. H. (2013). Size distribution of airborne fungi in vehicles under various driving conditions. *Archives of environmental & occupational health*, 68, 95-100. DOI: 10.1080/19338244.2011.650798
- Yang, J. W., Lien, S., Chou, Y. C., & Kirschner, R. (2016). *Cladosporium halotolerans*, a new record of an indoor fungus in Taiwan. *Fungal Science*, 31, 1-6.