



MESTRADO EM ENGENHARIA DE SEGURANÇA E HIGIENE OCUPACIONAIS

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre
Engenharia de Segurança e Higiene Ocupacionais
Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

GESTÃO DO RISCO OCUPACIONAL NO CIIMAR

Renata Isabel Lourenço Soares

Orientador: Professora Jaqueline Castelo Branco

Coorientador: Professora Joana Alexandra Silva Duarte

2025



Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

Rua Dr. Roberto Frias, s/n 4200-465 Porto PORTUGAL

VoIP/SIP: feup@fe.up.pt **ISN:** 3599*654

 **Telefone:** +351 22 508 14 00

 **URL:** <http://www.fe.up.pt>  **Correio Eletrónico:** feup@fe.up.pt

AGRADECIMENTOS

A concretização desta dissertação representa o resultado de um percurso exigente, mas profundamente gratificante, que só foi possível graças ao apoio, dedicação e incentivo de várias pessoas e instituições. A todas elas, expresso o meu mais sincero agradecimento.

Em primeiro lugar, quero agradecer à minha orientadora e à coorientadora pela orientação científica, pela paciência e pela disponibilidade demonstrada ao longo de todo este trabalho. O rigor, a exigência e os valiosos conselhos transmitidos foram fundamentais para o desenvolvimento desta investigação, mas, acima de tudo, contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço de forma muito especial a todos os colegas e colaboradores do Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental (CIIMAR). A vossa disponibilidade, entajuda e espírito de colaboração foram essenciais para que cada etapa deste trabalho fosse possível. Agradeço as conversas trocadas no laboratório, as explicações sempre dadas com boa vontade, e a forma como todos estiveram sempre prontos a ajudar, mesmo nos momentos mais exigentes. Trabalhar neste ambiente de partilha e apoio mútuo foi, sem dúvida, uma das experiências mais enriquecedoras deste percurso.

À minha família, deixo o meu mais profundo agradecimento. Aos meus pais, pela paciência e incentivo que sempre me deram, mesmo quando o tempo e o cansaço pareciam não chegar. À minha irmã, por me acompanhar com uma paciência infinita, por compreender as minhas ausências e por estar sempre presente nos momentos mais difíceis. Sem o teu apoio, carinho e boa disposição, este caminho teria sido bem mais difícil.

Por fim, um agradecimento aos meus amigos, que, mesmo à distância, nunca deixaram de apoiar, compreender e celebrar cada conquista. A todos os que, de alguma forma, contribuíram para que este trabalho se tornasse realidade, o meu sincero e sentido obrigada.

Reconhecimento de Ferramentas de IA: A autora reconhece o uso de ferramentas de IA (Chatgpt - <https://chatgpt.com/>) como apoio na melhoria de redação em português (clareza, gramática, estilo e organização textual), sem alteração do conteúdo científico, da metodologia, da análise ou das conclusões. Foi utilizada nos seguintes capítulos: Resumo/Abstract, Introdução, Enquadramento Normativo, Revisão do Estado da Arte, Objetivos, Materiais e Métodos e Conclusões/Perspetivas Futuras. Todas as ideias, resultados, interpretações e referências são da responsabilidade da autora, que procedeu à revisão e validação integral do texto.

RESUMO

Introdução

Apesar da limitada disponibilidade de estatísticas específicas para o setor da investigação científica em Portugal, os dados nacionais disponíveis evidenciam que as atividades de natureza científica e técnica não estão isentas de acidentes de trabalho e doenças profissionais. Em 2023, o setor das atividades de consultoria, científicas e técnicas registou uma taxa de incidência superior a 1.100 acidentes por 100.000 trabalhadores, com ocorrência de acidentes mortais e uma tendência crescente desde 2020, demonstrando a relevância do risco ocupacional mesmo em contextos tecnicamente controlados.

Os centros de investigação científica englobam um conjunto diversificado de atividades que, pela sua natureza e especificidade, comportam riscos ocupacionais significativos. As tarefas realizadas nos laboratórios de investigação envolvem, com frequência, a manipulação de agentes químicos, biológicos e físicos, bem como a operação de equipamentos tecnicamente complexos. Não obstante a crescente consciencialização sobre a importância da segurança nestes contextos, verifica-se ainda uma escassez de estudos dedicados à avaliação sistemática dos riscos profissionais neste setor, particularmente em Portugal.

Objetivos

A presente dissertação teve como principal objetivo implementar um processo de gestão de risco de acidente associados às diferentes linhas de trabalho num centro de investigação português (CIIMAR), procurando contribuir para uma gestão mais eficaz dos riscos.

Materiais e Métodos

O estudo seguiu as diretrizes da norma ISO 31000:2018, iniciando com a caracterização detalhada dos processos, subprocessos e tarefas desenvolvidas nos laboratórios de investigação do CIIMAR. A recolha de dados integrou observação direta das atividades, consulta de documentação técnica e entrevistas informais com os profissionais, permitindo identificar sistematicamente os perigos associados a cada operação. Posteriormente, foi realizada a análise e avaliação do risco através da aplicação dos métodos William T. Fine, NTP 330, MIAR e HIRADC, sendo o William T. Fine e o NTP 330 selecionados por serem amplamente utilizados em avaliações de risco ocupacional, o MIAR para se analisar a sua aplicabilidade neste contexto e o HIRADC devido ao seu aparecimento nos artigos selecionados. Toda a informação recolhida foi organizada numa matriz integradora, que uniformizou o processo de avaliação, reduziu a subjetividade inerente ao avaliador e permitiu propor medidas de tratamento do risco alinhadas com as necessidades identificadas.

Resultados e Discussão

A aplicação dos quatro métodos de avaliação de risco permitiu identificar diferenças marcadas na forma como os perigos e riscos são classificados. O método William T. Fine classificou a maioria das tarefas como de risco baixo, enquanto o NTP 330 concentrou grande parte das situações nos níveis de intervenção III e IV. O MIAR distinguiu três níveis de risco e de priorização embora a maioria das situações tenha sido classificada nos níveis inferiores. Por sua vez, o HIRADC mostrou a maior capacidade discriminativa, destacando-se pela identificação simultânea de riscos médios, altos e extremos. Apesar destas diferenças, verificou-se convergência na identificação dos perigos predominantes e das tarefas mais críticas, confirmando a complementaridade dos métodos na análise do risco em ambientes laboratoriais. Os perigos mais frequentes foram de natureza física e térmica, associados ao contacto com superfícies quentes e frias, piso molhado, manipulação de vidro, uso de autoclaves e azoto líquido. Estes perigos traduziram-se em riscos e consequentemente em consequências como queimaduras, cortes, entorses, perfurações e eletrocussão. A análise conjunta dos métodos permitiu identificar subprocessos e tarefas mais críticas e revelou lacunas pontuais nas medidas preventivas.

Conclusões

Os resultados demonstraram que, embora a maioria dos riscos identificados se situe em níveis baixos e médios, subsistem tarefas com perigos significativos, nomeadamente associados a superfícies quentes e criogénicas, contacto com água e eletricidade, manipulação de vidro e acesso a materiais em altura. A comparação entre métodos revelou diferenças importantes na sensibilidade e capacidade de discriminação, destacando o HIRADC pela sua precisão na relação entre tarefas e riscos específicos. A investigação confirma a importância de uma abordagem integrada e alinhada com a ISO 31000:2018,

evidenciando que a gestão eficaz do risco exige não apenas medidas preventivas isoladas, mas também normalização documental, formação contínua e revisão sistemática de procedimentos. A ferramenta desenvolvida contribui, assim, para reforçar a cultura de segurança do CIIMAR e constitui uma base sólida para futuras melhorias nos sistemas de prevenção, e também um ponto de partida para outros centros de investigação, contribuindo desta forma para o aumento de estudos neste âmbito. Como perspetiva de trabalhos futuros, destaca-se a aplicação da metodologia a outros contextos laboratoriais e também, a possibilidade de aplicar esta matriz noutros contextos de trabalho, nomeadamente, trabalhos de campo /amostragens.

Palavras-chave – Risco ocupacional; Perigo ocupacional; Gestão de risco ocupacional; Avaliação de risco ocupacional

ABSTRACT

Introduction

Despite the limited availability of statistics specifically addressing the scientific research sector in Portugal, the existing national data indicate that scientific and technical activities are not exempt from occupational accidents and diseases. In 2023, the sector of consultancy, scientific, and technical activities recorded an incidence rate exceeding 1,100 accidents per 100,000 workers, including fatal accidents and showing an increasing trend since 2020. These figures highlight the relevance of occupational risk even in technically controlled environments.

Scientific research centres encompass a wide range of activities which, due to their nature and specificity, involve significant occupational risks. Tasks carried out in research laboratories frequently include the handling of chemical, biological, and physical agents, as well as the operation of technically complex equipment. Despite the growing awareness of the importance of safety in these settings, there remains a scarcity of studies dedicated to the systematic assessment of occupational risks in this sector, particularly in Portugal.

Objectives

The main objective of this dissertation was to implement an accident risk management process associated with the different lines of work in a Portuguese research centre (CIIMAR), with the aim of contributing to more effective risk management.

Materials and Methods

The study followed the guidelines of ISO 31000:2018, starting with a detailed characterization of the processes, subprocesses, and tasks carried out in the CIIMAR research laboratories. Data collection included direct observation of activities, consultation of technical documentation, and informal interviews with professionals, enabling the systematic identification of hazards associated with each operation.

Subsequently, risk analysis and evaluation were conducted through the application of the William T. Fine, NTP 330, MIAR, and HIRADC methods. William T. Fine and NTP 330 were selected due to their widespread use in occupational risk assessments, MIAR was applied to analyse its suitability in this context, and HIRADC was included due to its occurrence in the selected articles. All collected information was organised into an integrative matrix, which standardised the assessment process, reduced the evaluator's inherent subjectivity, and enabled the proposal of risk treatment measures aligned with the identified needs.

Results and discussion

The application of the four risk assessment methods revealed marked differences in the way hazards and risks are classified. The William T. Fine method classified most tasks as low risk, whereas NTP 330 concentrated a large proportion of situations at intervention levels III and IV. MIAR distinguished three levels of risk and prioritisation, although most situations were classified at the lower levels. In turn, HIRADC demonstrated the greatest discriminative capacity, standing out for its simultaneous identification of medium, high, and extreme risks. Despite these differences, convergence was observed in the identification of the predominant hazards and the most critical tasks, confirming the complementarity of the methods in laboratory risk analysis. The most frequent hazards were of a physical and thermal nature, associated with contact with hot and cold surfaces, wet floors, glass handling, the use of autoclaves, and liquid nitrogen. These hazards translated into risks and, consequently, into outcomes such as burns, cuts, sprains, puncture wounds, and electrocution. The combined analysis of the methods enabled the identification of the most critical subprocesses and tasks and revealed specific gaps in preventive measures.

Conclusions

The results showed that, although most of the identified risks fall within low and medium levels, tasks involving significant hazards remain, particularly those associated with hot and cryogenic surfaces, contact with water and electricity, glass handling, and access to materials at height. The comparison between methods revealed important differences in sensitivity and discriminative capacity, with HIRADC standing out for its precision in linking tasks to specific risks.

This research confirms the importance of an integrated approach aligned with ISO 31000:2018, demonstrating that effective risk management requires not only isolated preventive measures but also

documentary standardisation, continuous training, and systematic review of procedures. The developed tool thus contributes to strengthening CIIMAR's safety culture and provides a solid basis for future improvements in prevention systems, while also serving as a starting point for other research centres, thereby contributing to an increase in studies in this field.

As a perspective for future work, the application of the methodology to other laboratory contexts is highlighted, as well as the possibility of applying this matrix to other work settings, namely fieldwork and sampling activities.

Keywords: Occupational risk; Occupational hazard; Occupational risk management; Occupational risk assessment

SIGLAS

ACT – Autoridade para as Condições do Trabalho

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

APA – Agência Portuguesa do Ambiente

CAE – Classificação das Atividades Económicas

CIIMAR – Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental

CNP - *Cyanobacterial Natural Products*

COSHH – *Control of Substances Hazardous to Health*

CSB - Câmara de Segurança Biológica

DGS – Direção Geral da Saúde

DPRP – Departamento de Proteção Contra Riscos Profissionais

ECHA – *European Chemicals Agency*

EPC – Equipamentos de Proteção Coletiva

EPI – Equipamentos de Proteção Individual

EU-OSHA – *European Agency for Safety and Health at Work*

FMEA– *Failure Mode and Effects Analysis*

GEP – Gabinete de Estratégia e Planeamento

HAZOP– *Hazard and Operability Study*

HIRADC – *Hazard Identification, Risk Assessment and Determining Control*

HPLC – *High Performance Liquid Chromatography* (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)

HSE – *Health and Safety Executive*

ISO – *International Organization for Standardization*

LC-MS – *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas)

LEGE-CC – *Blue Biotechnology and Ecotoxicology Culture Collection* (Coleção de Culturas de Biotecnologia Azul e Ecotoxicologia)

MIAR – Avaliação Integrada de Riscos Ocupacionais e Ambientais

NIOSH – *National Institute for Occupational Safety and Health*

NR – Nível de Risco

NTP 330 – Norma Técnica de Prevenção 330

OiRA – *Online Interactive Risk Assessment*

OSHA – *Occupational Safety and Health Administration*

OSHMS – *Occupational Safety and Health Management System*

PAE – *Phthalate Acid Esters*

PRISMA – *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*

QMRA – Avaliação Quantitativa do Risco Microbiológico

SST – Segurança e Saúde no Trabalho

UV – Ultravioleta

WTF – William T. Fine

ÍNDICE

1	Introdução	1
2	ENQUADRAMENTO TEÓRICO.....	5
2.1	Apresentação do CIIMAR.....	5
2.2	Enquadramento legal, normativo e técnico	7
2.3	Conhecimento científico	10
2.3.1	Metodologia de pesquisa de informação	10
2.3.2	Resultados da pesquisa	12
2.3.3	Discussão dos resultados	12
2.3.4	Objetivos da Dissertação	19
3	MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1	Metodologia para a gestão do risco de acidente no CIIMAR	21
3.2	Identificação de processos, subprocessos e tarefas	23
3.3	Identificação de perigos	80
3.3.1	Biotecnologia Marinha	81
3.3.1.1	Isolamento de compostos	81
3.3.1.2	Ensaio biológicos	83
3.3.1.3	Ensaio microbiológicos.....	83
3.3.1.4	Expressão heteróloga.....	83
3.3.2	Biologia, Aquacultura e Qualidade da Nutrição.....	83
3.3.2.1	Interações hospedeiro-patogénico	83
3.3.2.2	Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares	84
3.3.3	Alterações globais e Serviços dos Ecossistemas	84
3.3.3.1	Ensaio com lapas.....	84
3.3.3.2	Crescimento de biomassa de algas	84
3.4	Identificação de riscos.....	85
3.4.1	Biotecnologia Marinha	85
3.4.1.1	Isolamento de compostos	85
3.4.1.2	Ensaio biológicos	85
3.4.1.3	Ensaio microbiológicos.....	85

3.4.1.4	Expressão heteróloga.....	85
3.4.2	Biologia, Aquacultura e Qualidade da Nutrição.....	88
3.4.2.1	Interações hospedeiro-patogénico	88
3.4.2.2	Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares	88
3.4.3	Alterações globais e Serviços dos Ecossistemas	88
3.4.3.1	Ensaio com lapas.....	88
3.4.3.2	Crescimento de biomassa de algas	88
3.5	Análise e avaliação de riscos	89
4	RESULTADOS.....	90
4.1	Resultados – Processos, subprocessos e tarefas	90
4.2	Resultados – Perigos identificados.....	91
4.3	Resultados – Riscos e consequências identificados	92
4.4	Análise e avaliação do risco	93
4.4.1	Resultados com o método WTF.....	93
4.4.2	Resultados com o método NTP 330	96
4.4.3	Resultados com o método MIAR.....	98
4.4.4	Resultados com o método HIRADC.....	100
4.4.5	Comparação dos resultados dos quatro métodos.....	103
4.5	Tratamento do risco.....	110
5	DISCUSSÃO.....	113
5.1.1	Limitações.....	123
6	CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS	124
6.1	Conclusões.....	124
6.1.1	Perspetivas Futuras	125
7	BIBLIOGRAFIA.....	126
8	APENDICES.....	I
Anexos		II

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Nº de acidentes de trabalho (2019 a 2023)	1
Figura 2 - Nº de Doenças Profissionais (2019 a 2023).....	2
Figura 3- Edifício CIIMAR.....	5
Figura 4- Aquacultura	5
Figura 5- Produção de algas	6
Figura 6- Produção de cianobactérias	6
Figura 7- Resumo da pesquisa.....	12
Figura 8 - Distribuição geográfica dos artigos selecionados.....	13
Figura 9 - Riscos identificados (biológicos, químicos, físicos, ergonómicos)	16
Figura 10 - Categorias dos métodos aplicados	17
Figura 11- Metodologia adotada para avaliação do risco.....	22
Figura 12 - Linhas de investigação.....	23
Figura 13- Processos inseridos nas linhas de investigação	24
Figura 14- Subprocessos do processo - Isolamento de compostos.....	25
Figura 15- Recolha de amostras biológicas.....	26
Figura 16- Transporte das amostras	26
Figura 17- Autoclavagem de material	27
Figura 18 - Transferência de meios de cultura	27
Figura 19 - Separação de células e filamentos	28
Figura 20 - Colocação de amostras em azoto líquido.....	28
Figura 21- Aquecer o frasco de vidro com meio agar	29
Figura 22 - Retirar o material da autoclave.....	29
Figura 23- Aceder aos balões de cultivo	30
Figura 24 - Aceder aos nalgenes	30
Figura 25 - Utilização do bico de bunsen para o cultivo em nalgenes	31
Figura 26 - Transporte dos balões de cultivo e nalgenes até a sala do biotério.....	31
Figura 27 - Acesso as prateleiras.....	31
Figura 28 – Colocar amostras na arca ultracongeladora.....	32
Figura 29 – Colocação das amostras no liofilizador	32
Figura 30 – Encaixe das peças do liofilizador.....	33

Figura 31 - Utilização do rotavapor.....	33
Figura 32 - Acesso aos solventes orgânicos	34
Figura 33 - Verificação dos frascos com solventes que se encontram no nível superior do HPLC	35
Figura 34 -Lavagem de material de vidro	35
Figura 35 - Subprocessos do processo - Ensaio biológicos	36
Figura 36 - Retirar as amostras do azoto líquido.....	36
Figura 37- Aspirar o meio através de uma pipeta de vidro.....	37
Figura 38 - Subprocessos do processo - Isolamento de microrganismos	38
Figura 39 - Aceder ao material de laboratório em altura.....	39
Figura 40- Autoclavar material e os meios de cultura.....	39
Figura 41 - Verter o meio de cultivo quente para as placas de petri.....	40
Figura 42 - Transporte de frascos de vidro para a incubadora	41
Figura 43 - Piso molhado	41
Figura 44 - Retirar a colónia de interesse	42
Figura 45 - Colocar amostras da arca ultracongeladora	42
Figura 46 - Lavagem de material de vidro	43
Figura 47 - Subprocessos do processo - Ensaio microbiológicos	43
Figura 48 - Aquecimento no micro-ondas do gel	44
Figura49- Visualização do gel através das radiações UV.....	44
Figura 50 - Corte do gel.....	44
Figura 51 - Autoclavagem de material	45
Figura 52- Plaqueamento.....	45
Figura 53- Retirar a bactéria da arca ultracongeladora.....	46
Figura 54- Colocação da bactéria e meio no eppendorf com o plasmídeo	46
Figura 55 - Colocação dos tubos de eppendorf na estufa com agitação	47
Figura 56- Pipetar o antibiótico para as placas de petri.....	48
Figura 57- Espalhamento da bactéria nas placas de petri	49
Figura 58 - Colony screening	49
Figura 59 - Subprocessos do processo- Expressão heteróloga	51
Figura 60 - Exposição a radiação UV.....	51

Figura 61 - Realização do corte com um bisturi.....	51
Figura 62 - Plaqueamento com utilização do bico de bunsen	52
Figura 63 -Utilização do sonicador	53
Figura 64 – Armazenamento de amostras	53
Figura 65- Subprocessos do processo - Interações hospedeiro-patogénico	54
Figura 66 - Corte dos tubos de PVC com um serrote.....	55
Figura 67 - Moldagem de tubos de PVC com um soprador	55
Figura 68 - Colocação de cola em tubos de PVC.....	55
Figura 69 - Utilização de furadora	56
Figura 70 - Fixação dos tubos PVC.....	56
Figura 71 - Colocação de tomadas e ligação a quadros elétricos	56
Figura 72 - Transporte dos peixes para a quarentena	57
Figura 73 - Transporte dos peixes da quarentena para a sala do ensaio	57
Figura 74 - Aceder a material de laboratório.....	58
Figura 75 - Acesso ao piso superior	58
Figura 76 - Zona de passagem.....	59
Figura 77 - Autoclavagem de material	59
Figura 78 - Colocação do meio para a bactéria de interesse crescer	59
Figura 79 - Troca do bisel da agulha	60
Figura 80 – Gavagem	60
Figura 81 - Preparação da seringa com heparina.....	61
Figura 82 - Recolha de amostras de sangue	61
Figura 83 – Realização da recolha de tecidos	62
Figura 84 - Utilização de bico de bunsen durante a amostragem.....	62
Figura 85 - Colocação das amostras no azoto líquido	62
Figura 86 - Colocação das amostras na arca ultracongeladora.....	63
Figura 87 - Lavagem de material de laboratório	63
Figura 88 - Subprocessos do processo- Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares	64
Figura 89 - Transporte de peixes para a quarentena.....	65
Figura 90 - Transporte para a sala de ensaios.....	65
Figura 91 - Resistência elétrica num tanque de aquacultura	66

Figura 92 - Colocação de heparina nas seringas.....	66
Figura 93 - Transporte dos peixes para a sala de amostragem	66
Figura 94 - Recolha de tecidos	67
Figura 95 - Recolha de sangue	67
Figura 96 - Recolha com a presença de bico de bunsen	67
Figura 97 - Colocação das amostras em azoto líquido	68
Figura 98 - Colocação de amostras na arca ultracongeladora	68
Figura 99 - Colocar e retirar o peixe congelado	69
Figura 100 - Cortar pedaços de peixe.....	69
Figura 101 - Triturar e homogeneizar pedaços de peixes.....	69
Figura 102 - Acesso ao piso superior	70
Figura 103 - Piso Superior.....	70
Figura 104 - Subprocessos do processo - Ensaios com lapas.....	71
Figura 105 - Recolha das lapas.....	72
Figura 106 - Realização do corte longitudinal.....	73
Figura 107 - Colocação das sondas multiparamétricas nos sistemas.....	74
Figura 108 - Utilização de formaldeído.....	76
Figura 109 - Subprocessos do processo - Crescimento de biomassa de algas.....	76
Figura 110 - Autoclavagem de material	77
Figura 111 - Abertura da CSB e colocação de material dentro	77
Figura 112 - Transporte dos balões de cultivo até ao biotério	78
Figura 113 - Colocação do sistema de circulação de água nos balões de cultivo.....	78
Figura 114 - Remoção dos balões de cultivo e transporte até ao laboratório	79
Figura 115 - Verter o conteúdo dos balões.....	79
Figura 116 - Transferir conteúdo para o balão de cultivo novo.....	79
Figura 117 - Limpeza de material.....	80
Figura 118 - Processos, subprocessos, tarefas e riscos.....	90
Figura 119 - Categorias e Nº de perigos.....	91
Figura 120 - Categorias e Nº das consequência.....	93
Figura 121 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Biotecnologia Marinha – Método WTF	94

Figura 122 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Biologia, Aquacultura e Qualidade da Nutrição – Método WTF	95
Figura 123 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Alterações globais e Serviços dos Ecossistemas – Método WTF	95
Figura 124 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Biotecnologia Marinha – Método NTP 330.....	97
Figura 125 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Biologia, Aquacultura e Qualidade da Nutrição – Método NTP 330	97
Figura 126 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Alterações globais e Serviços dos Ecossistemas – Método NTP 330.....	98
Figura 127 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Biotecnologia Marinha – Método MIAR.....	99
Figura 128 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Biologia, Aquacultura e Qualidade da Nutrição – Método MIAR.....	99
Figura 129 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Alterações globais e Serviços dos Ecossistemas – Método MIAR	100
Figura 130 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Biotecnologia Marinha – Método HIRADC	101
Figura 131 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Biologia, Aquacultura e Qualidade da Nutrição – Método HIRADC	102
Figura 132 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Alterações globais e Serviços dos Ecossistemas – Método HIRADC	102
Figura 133 - Comparação dos NR dos quatro métodos.....	104
Figura 134 - NR identificados nos processos - Método WTF.....	105
Figura 135 - NR identificados nos processos - Método NTP 330.....	106
Figura 136 - NR identificados nos processos - Método NTP 330.....	108
Figura 137 - NR identificados nos processos - Método HIRADC	109

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Exemplo da matriz de perigos identificados	82
Tabela 2 - Exemplo de matriz de risco	86
Tabela 3 - Exemplo de organização de Processo, subprocesso e tarefa de acordo com a matriz de avaliação do risco	90
Tabela 4 - Classificação dos riscos - WTF	94
Tabela 5 - Classificação dos riscos - NTP 330	96
Tabela 6 - Classificação dos riscos - MIAR	98
Tabela 7 - Classificação dos riscos - HIRADC	101
Tabela 8 - Exemplos do tratamento do risco realizado.....	112
Tabela 9 - Níveis da consequência	II
Tabela 10 - Níveis da exposição.....	III
Tabela 11 - Níveis da probabilidade.....	III
Tabela 12 - Níveis de Risco.....	IV
Tabela 13 - Custo e Grau de Correção	IV
Tabela 14 -Nível de Deficiência.....	VI
Tabela 15 - Nível de Exposição.....	VI
Tabela 16 -Cálculo do Nível de Probabilidade.....	VII
Tabela 17- Nível de Probabilidade	VII
Tabela 18- Nível de Severidade.....	VIII
Tabela 19- Nível de Risco	VIII
Tabela 20-Nível de Controle	IX
Tabela 21 - Nível da Gravidade.....	X
Tabela 22- Nível da extensão do impacto.....	X
Tabela 23 - Nível da Frequência.....	XI
Tabela 24- Nível de Risco	XI
Tabela 25- Nível de Desempenho dos sistemas de prevenção e controle	XI
Tabela 26 - Nível de critérios de priorização da intervenção	XII
Tabela 27- Níveis de priorização.....	XII
Tabela 28 -Níveis de Probabilidade.....	XIII

Tabela 29- Níveis de gravidade.....	XIV
Tabela 30- Nível de Risco	XIV
Tabela 31 - Perigos identificados para cada subprocesso.....	XV

1 INTRODUÇÃO

Os centros de investigação científica, juntamente com os laboratórios que os integram, constituem ambientes de elevada especialização, onde os trabalhadores desempenham funções técnicas complexas e frequentemente estão em contacto com agentes químicos, biológicos, físicos e com equipamentos sofisticados (Nasrallah et al., 2022; Papadopoli et al., 2020). Embora a modernização tecnológica tenha trazido ganhos evidentes em termos de eficiência e inovação, é igualmente verdade que esta evolução introduz desafios substanciais no domínio da Segurança e Saúde no Trabalho (SST) (Fatemi et al., 2022; Giménez et al., 2024).

Por um lado, a automação de procedimentos tem contribuído para reduzir certos riscos físicos e ergonómicos por outro, emergem riscos associados à crescente complexidade dos sistemas, ao manuseamento de substâncias perigosas e à intensificação cognitiva imposta pelas tarefas. Assim, à semelhança do que acontece em setores tradicionalmente associados a elevados riscos, como o industrial, os laboratórios de centros de investigação mantêm um perfil de risco significativo, exigindo abordagens específicas e rigorosas de gestão do risco ocupacional (Albiger et al., 2018; Kantaş Yılmaz & Karakus S, 2024).

Em Portugal, a ausência de dados estatísticos específicos sobre acidentes de trabalho e doenças profissionais no setor da investigação torna difícil avaliar a real dimensão do problema. Ainda assim, os dados mais recentes do Gabinete de Estratégia e Planeamento (GEP) e da Segurança Social permitem alguma aproximação, nomeadamente em 2023, no setor das atividades de consultoria, científicas, técnicas e similares (CAE M), onde se inserem muitos contextos laboratoriais. Neste contexto, foram registados 2.924 acidentes de trabalho, com uma taxa de incidência de 1138,8 por 100 000 trabalhadores, incluindo dois acidentes mortais (GEP, 2025). É possível também verificar que, desde o ano 2020 até ao 2023, último ano com dados disponíveis, existe um crescimento dos acidentes de trabalho relativos a este CAE (Figura 1) (GEP, 2025).

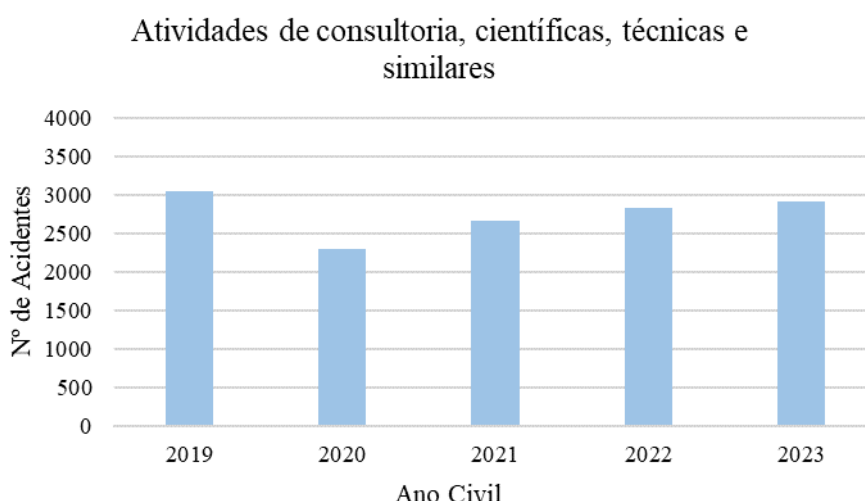


Figura 1 - Nº de acidentes de trabalho (2019 a 2023)
Fonte: (GEP, 2025)

Quanto às doenças profissionais, foram certificadas 58 com incapacidade e 44 sem incapacidade neste setor, no ano 2023. Na Figura 2, está apresentado o nº de doenças profissionais desde o ano 2019 a 2023 (DPRP, 2025). Estes dados confirmam que, mesmo em ambientes considerados tecnicamente controlados, existem riscos reais e frequentes, tanto ao nível físico como organizacional.

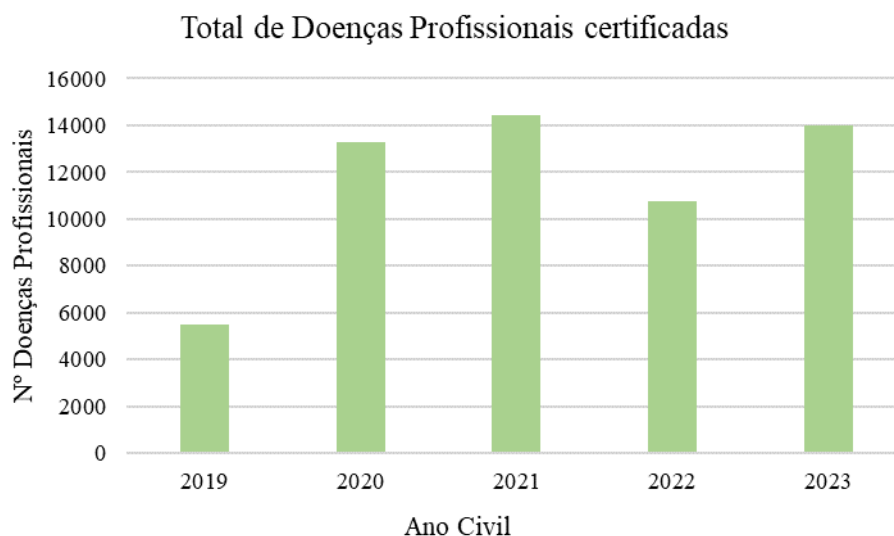


Figura 2 - Nº de Doenças Profissionais (2019 a 2023)
Fonte: (DPRP, 2025)

Ao nível dos artigos analisados, os estudos realizados em ambientes laboratoriais e hospitalares revelam que a incidência de acidentes e doenças profissionais permanece elevada (Tait et al., 2018). Para além dos riscos mais evidentes, como a exposição a agentes químicos e lesões por movimentos repetitivos, são também identificados riscos psicossociais, derivados da sobrecarga de trabalho, do stress académico e das exigências constantes do ambiente laboral (Ahmed et al., 2024).

No Líbano, Nasrallah et al., (2022) relataram que 45% dos trabalhadores de laboratório sofreram acidentes, sendo a exposição a produtos químicos responsável por 73,7%, sobretudo por inalação de vapores. Em Itália, Papadopoli et al., (2020) identificaram que, apesar de elevada formação académica, persistem lacunas significativas no conhecimento sobre substâncias cancerígenas, coexistindo comportamentos inseguros, como comer nos laboratórios ou a utilização incompleta de Equipamento de Proteção Individual (EPI).

No Quénia, Tait et al., (2018) evidenciaram que 80% dos profissionais em laboratórios médicos estavam expostos a agentes bacterianos, enquanto quase metade trabalhava com produtos químicos não rotulados ou com equipamentos sem condições adequadas de segurança.

Para além destes estudos, em ambientes laboratoriais, na Indonésia, foram identificados riscos associados a cabos elétricos desorganizados, armazenamento inadequado de substâncias químicas perigosas, ausência de kits de primeiros socorros e práticas laboratoriais sem procedimentos operacionais normalizados (Athqiya et al., 2019; Yusuf et al., 2019; Kurniawati et al., 2020).

A gestão do risco assume um papel essencial na promoção da segurança e saúde no trabalho, constituindo a base de uma atuação preventiva capaz de reduzir a ocorrência de acidentes e doenças profissionais. Para

além da sua importância prática na proteção dos trabalhadores e na eficiência das organizações, trata-se também de uma exigência legal. Em Portugal, a Lei n.º 102/2009, de 10 de setembro, que define o regime jurídico da promoção da segurança e saúde no trabalho, estabelece que as entidades empregadoras têm o dever de proceder à avaliação dos riscos profissionais, de forma a identificar perigos e implementar medidas de prevenção e proteção adequadas que garantam condições de trabalho seguras (Lei n.º 102/2009, de 10 de setembro).

Neste contexto, a adoção de normas internacionais de SST e de sistemas de gestão, como as normas ISO 31000:2018 e ISO 45001:2019, tem sido uma estratégia amplamente utilizada para mitigar os riscos profissionais (ISO 31000:2018, 2018; ISO 45001:2019, 2019). Para além de normas internacionais, diversos autores têm vindo a propor metodologias inovadoras, como a implementação de sistemas de avaliação baseados em *checklists* de normas internacionais, aplicando uma matriz semi-quantitativa para riscos químicos e ambientais (Fatemi et al., 2022) , ou a combinação de métodos híbridos, como o *Fine-Kinney* (Güney & Kahraman, 2022). Ainda, Athqiya et al., (2019), Kurniawati et al., (2020) e (Yusuf et al., 2019) demonstraram a aplicabilidade prática do método *Hazard Identification, Risk Assessment and Determining Control* (HIRADC), sublinhando a sua simplicidade e eficácia para contextos laboratoriais com recursos limitados.

A análise conjunta destes dados evidencia que os riscos mais relevantes em laboratórios incluem a exposição a agentes químicos e biológicos e a utilização de instrumentos perfurantes. Enquanto os fatores como a deficiência no uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPI), a falta de formação contínua e a precariedade das condições laborais amplificam significativamente o risco de acidentes e doenças profissionais (Hamilton et al., 2018; El Hajjaji et al., 2020;)

Neste cenário, a implementação de estratégias eficazes de prevenção é imperativa. A utilização consistente de EPI, a oferta de formação contínua, a manutenção regular dos equipamentos, a melhoria das condições ergonómicas dos postos de trabalho e a criação de protocolos de resposta a emergências devem ser pilares fundamentais de qualquer programa de segurança em ambientes laboratoriais. Mais do que a aplicação isolada de boas práticas, a promoção de uma cultura de segurança sólida e transversal a toda a organização é essencial para assegurar a proteção da saúde dos trabalhadores.

Assim, apesar dos avanços registados na área da SST, a gestão do risco em ambientes laboratoriais de investigação científica continua a representar um desafio relevante. A complexidade das atividades, a diversidade de agentes químicos e biológicos manipulados e a natureza experimental do trabalho tornam estes contextos particularmente suscetíveis a falhas na identificação e controlo dos riscos. Adicionalmente, observa-se uma escassez de metodologias adaptadas ao contexto real do processo produtivo dos laboratórios, capazes de traduzir os princípios das normas internacionais, em ferramentas práticas e eficazes para a gestão do risco nestas organizações.

Deste modo, esta dissertação procurou analisar e sistematizar os riscos ocupacionais presentes em ambientes laboratoriais de investigação, com o objetivo de identificar perigos e riscos, analisar e avaliar os mesmos e implementar medidas de tratamento do risco adequadas, contribuindo para o desenvolvimento de um sistema de gestão do risco ocupacional num centro de investigação. Assim, este estudo apresenta a seguinte estrutura:

1. Introdução;

-
2. Contexto do local de aplicação;
 3. Enquadramento legal, normativo e técnico;
 4. Conhecimento Científico;
 5. Materiais e métodos;
 - 5.1. Caracterização dos processos e subprocessos;
 - 5.2. Identificação de Perigos;
 - 5.3. Identificação de Riscos e Consequências;
 - 5.4. Análise e Avaliação do risco;
 - 5.5. Tratamento do Risco;
 6. Conclusões

2 ENQUADRAMENTO TEÓRICO

2.1 Apresentação do CIIMAR

Esta dissertação terá como âmbito de aplicação o Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental (CIIMAR). O CIIMAR é um centro de investigação privado sem fins lucrativos, localizado no Terminal de Cruzeiros do Porto de Leixões, em Matosinhos, Portugal - (Figura 3) - que promove uma abordagem integrada do oceano e das zonas costeiras, visando compreender a dinâmica biológica, física e química destes ambientes e o impacto das atividades naturais e humanas (CIIMAR, 2025).



Figura 3- Edifício CIIMAR
Fonte: (CIIMAR, 2024b)

O CIIMAR conta com uma equipa internacional e multidisciplinar de mais de 600 investigadores, dos quais mais de 220 são doutorados. Esta equipa é responsável por um programa de investigação e inovação que resulta em mais de 550 artigos científicos por ano.

Relativamente às atividades desenvolvidas, estas são executadas no âmbito das seguintes linhas temáticas (CIIMAR, 2025):

- 1) Biologia, aquacultura e qualidade do pescado (Figura 4);
- 2) Alterações globais e serviço dos ecossistemas (Figura 5);
- 3) Biotecnologia marinha (Figura 6).



Figura 4- Aquacultura
Fonte: (CIIMAR, 2024b)



Figura 5- Produção de algas
Fonte: (CIIMAR, 2021)



Figura 6- Produção de cianobactérias
Fonte:(CIIMAR, 2024a)

O CIIMAR ainda colabora com a área industrial, nomeadamente na produção de rações para aquacultura, conservas de peixe, qualidade do peixe, vacinas para peixes, indústria de microalgas e macroalgas, e proteção ambiental em áreas portuárias (CIIMAR, 2025).

Apresenta vários grupos de investigação e, por isso, existem sempre diferentes atividades e tarefas a decorrer. Deste modo, ao nível da segurança no trabalho, é necessário ter em conta este fator e também o facto de utilizarem diferentes produtos e materiais (CIIMAR, 2025).

Os laboratórios de investigação são locais de trabalho essenciais para o avanço científico; no entanto, são dos locais que apresentam mais perigos e riscos para o trabalhador. Entre os principais riscos, destacam-se os riscos químicos, através da inalação de vapores, o contacto com a pele ou a ingestão accidental destas substâncias que podem levar ao aparecimento de problemas graves para a saúde dos trabalhadores.

Neste centro de investigação, para além de se trabalhar com vários produtos químicos, também se manuseiam agentes biológicos e, por isso, também estão presentes os riscos biológicos, através da manipulação de materiais biológicos, animais infetados com agentes nocivos ou, ainda, trabalhos com estes agentes nocivos, nomeadamente bactérias, fungos e parasitas (CIIMAR, 2025)

A aplicação e realização de diversos protocolos, implicam a utilização de vários equipamentos, que, por vezes, produzem ruído, radiações ionizantes, calor e frio extremo, estando também os trabalhadores expostos a riscos físicos.

Por fim, referir riscos ergonómicos, sendo que os trabalhadores deste local de trabalho passam muito tempo na mesma posição, com posturas inadequadas e realizam movimentos repetitivos durante o seu dia de trabalho.

Esta dissertação surge para este centro de investigação, devido ao facto de não existir um processo de gestão de risco implementado.

2.2 Enquadramento legal, normativo e técnico

A gestão dos riscos ocupacionais em laboratórios exige uma articulação consistente entre o enquadramento legal, os referenciais normativos e os instrumentos técnicos de apoio à prevenção. Mais do que conhecer estes referenciais, importa compreender de que forma podem ser aplicados de modo integrado nas diferentes fases do processo de gestão do risco, conforme o modelo proposto na ISO 31000:2018 (ISO 31000:2018, 2018). Este processo é especialmente relevante nos laboratórios de investigação, onde a diversidade de agentes físicos, químicos e biológicos, a complexidade dos procedimentos experimentais e o manuseamento de substâncias perigosas potenciam uma exposição acrescida.

O processo inicia-se com o estabelecimento do contexto, etapa que define as bases internas e externas sobre as quais o sistema de gestão do risco será construído. Em Portugal, este enquadramento é determinado essencialmente pela Lei n.º 102/2009, de 10 de setembro, que estabelece o regime jurídico da promoção da segurança e saúde no trabalho (Lei n.º 102/2009 de 10 de setembro, 2009). Esta lei consagra a obrigatoriedade de realizar uma avaliação contínua e sistemática dos riscos profissionais, integrando-a nas políticas e práticas das organizações. Ao exigir que a prevenção se baseie em critérios técnicos e científicos, o diploma cria um enquadramento que reforça a coerência entre os objetivos da instituição e as suas responsabilidades legais em matéria de segurança e saúde no trabalho.

Ainda na fase de estabelecimento do contexto, o Código do Trabalho, Lei n.º 7/2009, de 12 de fevereiro, atribui ao empregador a responsabilidade de garantir condições de trabalho seguras e saudáveis, introduzindo uma dimensão organizacional essencial, como a definição clara de responsabilidades hierárquicas e funcionais na prevenção (Lei n.º 7/2009 de 12 de fevereiro, 2009). Esta definição assegura que a cultura de segurança se estende a todos os níveis da organização e que o processo de gestão do risco é sustentado por uma estrutura de comunicação eficaz, sendo um dos princípios previstos pela ISO 31000:2018 (ISO 31000:2018, 2018).

A esta base legal somam-se os referenciais técnicos nacionais que contribuem para caracterizar o contexto interno e externo das atividades laboratoriais. As normas e circulares técnicas da Direção-Geral da Saúde (DGS) são fundamentais na definição de boas práticas de biossegurança e na gestão do risco químico, estabelecendo limites de exposição e orientações para a manipulação de agentes biológicos (DGS, 2025). A Agência Portuguesa do Ambiente (APA) fornece orientações sobre a gestão e destino final de resíduos

laboratoriais perigosos, assegurando que o contexto preventivo integra também a vertente ambiental (APA, 2024, 2025)

Definido o contexto, o processo avança para a avaliação do risco, que inclui as subfases de identificação, análise e avaliação. A identificação consiste no reconhecimento dos perigos e das suas fontes, sendo apoiada por instrumentos que permitem detetar sistematicamente situações potencialmente perigosas. Nesta fase, as *checklists* elaboradas pela Autoridade para as Condições do Trabalho (ACT) revelam-se particularmente úteis, pois traduzem requisitos legais e boas práticas em itens de observação concreta, facilitando a identificação de perigos físicos, químicos, biológicos e ergonómicos (ACT, 2023). A sua aplicação sistemática em ambiente laboratorial assegura que nenhum aspeto relevante é omitido e que o processo de identificação é conduzido de forma estruturada e verificável.

A análise do risco procura compreender a natureza e magnitude dos perigos identificados, determinando a probabilidade de ocorrência e a severidade das suas consequências. É aqui que diplomas como o Decreto-Lei n.º 347/1993, que estabelece as condições mínimas de segurança e saúde nos locais de trabalho (Decreto-Lei n.º 347/93 de 1 de outubro, 1993), e o Decreto-Lei n.º 330/1993, relativo à movimentação manual de cargas (Decreto-Lei n.º 330/93 de 25 de setembro, 1993), assumem especial relevância. Estes instrumentos oferecem critérios técnicos objetivos, como parâmetros de ventilação, iluminação, temperatura, ruído e limites de carga, que permitem estimar, com maior precisão, a probabilidade e a gravidade de determinados riscos físicos e ergonómicos. Assim, ambos contribuem diretamente para uma análise do risco mais objetiva e quantitativamente fundamentada.

Nesta mesma fase, a ISO 31010:2019 fornece um conjunto diversificado de métodos que orientam a forma de análise e avaliação, desde técnicas qualitativas, como listas de verificação e análise preliminar de perigos, até métodos quantitativos complexos, como *Failure Mode and Effects Analysis* (FMEA) ou *Hazard and Operability Study* (HAZOP) (NI 31010:2019, 2019). A sua aplicação assegura que a avaliação é proporcional ao nível de risco e aos recursos disponíveis, influenciando diretamente a forma como os perigos são identificados, analisados e priorizados nos laboratórios.

A ISO 45001:2019 introduz ainda a importância da participação ativa dos trabalhadores na identificação e análise de riscos, reforçando a consulta e comunicação interna (ISO 45001:2019, 2019). O envolvimento direto dos técnicos e investigadores, que conhecem as particularidades das tarefas e dos equipamentos, constitui um contributo diferenciador na fiabilidade da informação recolhida. Neste contexto, a aplicação das normas assume um papel importante na gestão do risco dos laboratórios analisados, ao articular ferramentas técnicas com o conhecimento prático dos trabalhadores, promovendo uma abordagem mais integrada e colaborativa.

Os referenciais internacionais, como os guias da *European Agency for Safety and Health at Work* (EU-OSHA) e da *Health and Safety Executive* (HSE) do Reino Unido, reforçam esta fase ao disponibilizarem metodologias de análise aplicáveis ao contexto laboratorial, como o modelo *Control of Substances Hazardous to Health* (COSHH) (EU-OSHA, 2021; HSE, 2025). Estas orientações representam uma mais-valia ao permitirem que as organizações portuguesas alinhem as suas práticas de análise de risco com padrões europeus e internacionais, melhorando a comparabilidade e a consistência dos resultados.

Após a identificação e análise, segue-se a subfase de avaliação do risco, que consiste em comparar os resultados obtidos com critérios de aceitabilidade previamente definidos pela organização. Aqui, as técnicas descritas na ISO 31010:2019, como as matrizes de risco, permitem hierarquizar os perigos e determinar quais exigem medidas imediatas. Esta abordagem assegura que as decisões preventivas são baseadas em critérios objetivos e transparentes (NI 31010:2019, 2019)

A fase seguinte, o tratamento do risco, corresponde à seleção e implementação das medidas destinadas a reduzir ou eliminar os riscos identificados. Embora a ISO 31000:2018 não apresente uma hierarquia específica de controlo das medidas, o processo deve apoiar-se no princípio da hierarquia de controlo do risco, amplamente reconhecido na área da SST e formalizado na ISO 45001:2019. Esta hierarquia privilegia, por ordem de eficácia, a eliminação do perigo, a substituição por alternativas menos perigosas, a adoção de medidas de engenharia e organizacionais e, apenas em última instância, o uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPI). Este princípio encontra ainda respaldo na Lei n.º 102/2009, que impõe ao empregador que priorize medidas de prevenção na origem do risco, e no Decreto-Lei n.º 348/93, que define os requisitos técnicos e normativos para a escolha, utilização e manutenção de EPI, garantindo que, quando a proteção individual é inevitável, os equipamentos cumprem padrões de certificação europeus (Decreto-Lei n.º 348/93 de 1 de outubro, 1993; ISO 31000:2018, 2018; ISO 45001:2019, 2019).

As *checklists* e folhetos técnicos da ACT, como o dedicado ao risco químico (ACT, 2023), são igualmente valiosos nesta fase, ao oferecerem orientações práticas para a seleção de medidas de controlo e para a verificação da sua eficácia. No plano internacional, documentos como o *Code of Practice on Safety in the Use of Chemicals at Work* (ILO, 1993), o *NIOSH Pocket Guide to Chemical Hazards* (NIOSH, 2020) e a norma OSHA 29 CFR 1910.1450, específica para laboratórios (OSHA, 2023) e constituem referências técnicas de elevada aplicabilidade. Estes instrumentos fornecem parâmetros de exposição, recomendações sobre ventilação, formação e procedimentos de emergência, apoiando a implementação de medidas corretivas ajustadas à realidade laboratorial.

A etapa de monitorização e análise crítica assegura que as medidas implementadas permanecem adequadas e eficazes. Tanto a Lei n.º 102/2009, de 10 de setembro, como a ISO 45001:2019 preveem revisões periódicas, auditorias internas e ações corretivas como parte integrante do ciclo de melhoria contínua (Lei n.º 102/2009 de 10 de setembro, 2009; ISO 45001:2019, 2019). Nesta fase, as *checklists* da ACT funcionam como ferramentas de autoavaliação que permitem detetar desvios, identificar não conformidades e monitorizar o cumprimento das medidas de controlo (ACT, 2023).

As orientações da DGS, nomeadamente no domínio da vigilância da saúde e do controlo de agentes biológicos, contribuem para avaliar a exposição real dos trabalhadores e a eficácia das medidas implementadas, complementando a monitorização técnica com dados clínicos e epidemiológicos (DGS, 2025). Adicionalmente, as diretrizes da EU-OSHA e da *Health and Safety Executive* (HSE) reforçam esta fase ao disponibilizarem indicadores de desempenho, métodos de análise de resultados e mecanismos de *feedback* que facilitam a melhoria contínua e a aprendizagem organizacional (EU-OSHA, 2021; HSE, 2025)

O processo culmina com a fase de registo e reporte, que assegura a rastreabilidade, a transparência e a credibilidade de todo o sistema de gestão do risco. A ISO 9001:2015, centrada na gestão da qualidade,

fornece o enquadramento para a documentação e o controlo de registos, garantindo que toda a informação relacionada com riscos, medidas preventivas e auditorias é mantida de forma sistemática e atualizada (NP ISO 9001:2015, 2015)

Em Portugal, existem inquéritos que permitem registar e analisar dados sobre acidentes, incidentes e avaliações de risco, promovendo a comunicação entre empregadores, trabalhadores e entidades competentes (ACT, 2025). A nível europeu, a ferramenta *Online Interactive Risk Assessment (OiRA)*, desenvolvida pela EU-OSHA, orienta as organizações na avaliação e reporte dos riscos através de interfaces digitais adaptáveis ao setor de investigação (EU-OSHA, 2025). Também as bases de dados da *European Chemicals Agency (ECHA)*, no âmbito do regulamento REACH, contribuem para a rastreabilidade das substâncias químicas e para o cumprimento das obrigações de comunicação e registo (ECHA, 2023).

A APA complementa esta vertente ao exigir a documentação e rastreabilidade dos resíduos perigosos laboratoriais, integrando a componente ambiental na gestão global do risco (APA, 2025). A adoção destes sistemas digitais e plataformas de reporte reforça a transparência, facilita o acesso à informação e promove a partilha de boas práticas entre entidades, contribuindo para uma cultura de prevenção mais eficaz e colaborativa.

A sistematização de registos, incluindo avaliações de risco, planos de ação, auditorias e relatórios de incidentes, constitui uma mais-valia estratégica, uma vez que transforma dados operacionais em conhecimento organizacional. Esta informação, quando devidamente tratada, alimenta a melhoria contínua e sustenta a tomada de decisão baseada em evidência, princípio central da ISO 31000:2018 (ISO 31000:2018, 2018).

2.3 Conhecimento científico

2.3.1 Metodologia de pesquisa de informação

A metodologia do estudo baseou-se, numa revisão da literatura, utilizando o método *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA)* (Page et al., 2021), com o objetivo de analisar a evidência científica disponível relativa aos processos de gestão de riscos em laboratórios.

O primeiro passo da pesquisa consistiu na identificação das principais bases de dados a consultar. Deste modo, foram selecionadas aquelas associadas à área da engenharia ou das ciências multidisciplinares: *SCOPUS*, *Web of Science* e *ScienceDirect*.

Foram ainda definidas as palavras-chave e respetivas combinações: *Risk*; *Hazard*; *Risk Assessment*; *Risk Management*; *Risk Identification*; *Risk Analysis*; *Risk Prevention*; *Laboratory*; *Microbiology*; *Cyanobacteria*; *Aquaculture*; *Biotechnology*:

1. *Risk AND (Assessment OR Management OR Identification OR Analysis OR Prevention) AND (Laboratory) AND (Microbiology)*
2. *Risk AND (Assessment OR Management OR Identification OR Analysis OR Prevention) AND (Laboratory) AND (Cyanobacteria)*

-
3. Risk AND (Assessment OR Management OR Identification OR Analysis OR Prevention) AND (Laboratory) AND (Aquaculture)
 4. Risk AND (Assessment OR Management OR Identification OR Analysis OR Prevention) AND (Laboratory) AND (Biotechnology)
 5. Hazard AND (Assessment OR Management OR Identification OR Analysis OR Prevention) AND (Laboratory) AND (Microbiology)
 6. Hazard AND (Assessment OR Management OR Identification OR Analysis OR Prevention) AND (Laboratory) AND (Cyanobacteria)
 7. Hazard AND (Assessment OR Management OR Identification OR Analysis OR Prevention) AND (Laboratory) AND (Aquaculture)
 8. Hazard AND (Assessment OR Management OR Identification OR Analysis OR Prevention) AND (Laboratory) AND (Biotechnology)
 9. Risk AND (Assessment OR Management OR Identification OR Analysis OR Prevention) AND Laboratory AND Occupational accident;
 10. Hazard AND (Assessment OR Management OR Identification OR Analysis OR Prevention) AND Laboratory AND Occupational accident.

De seguida, os seguintes critérios de exclusão considerados foram aplicados:

1. Data – documentos publicados num período de 8 anos (2018-2025);
2. Tipo de documento – *articles* e *articles in press*;
3. Fonte – revistas científicas (*journals* e *trade publications*);
4. Língua – inglês;

Sempre que possível, as palavras-chave foram pesquisadas nos campos “Título”, “Resumo” e “Palavras-chave” dos artigos obtidos nos resultados de pesquisa, sendo posteriormente analisados estes campos para avaliar a pertinência e elegibilidade de cada estudo.

A informação principal extraída de cada estudo incluiu: o autor e ano de publicação, título, país ou região, objetivo do estudo, área e atividade, perigo, evento desencadeador, risco (químico, biológico, físico, ergonómico, psicossocial), tarefas ou processo, método (qualitativo; semi-quantitativo; quantitativo), doenças profissionais, acidentes de trabalho, medidas corretivas. Toda a informação foi organizada num documento Excel.

De seguida, os artigos selecionados foram exportados para a plataforma *Mendeley*. O *Mendeley* é um *software* de gestão de referências que facilita a recolha de ficheiros provenientes de diferentes bases de dados numa única biblioteca, além de gerar bibliografias automaticamente. Neste *software* foi possível identificar os artigos duplicados, sendo esses excluídos.

Com base nos artigos selecionados, os mesmos foram analisados tendo em conta critérios de inclusão, nomeadamente: (a) artigos cujo âmbito de aplicação incidisse sobre ambientes laboratoriais (académicos, clínicos, industriais ou de investigação científica); (b) estudos que identificassem riscos associados a este contexto de trabalho; (c) publicações que aplicassem algum método de análise de riscos, de natureza qualitativa, semi-quantitativa ou quantitativa; e (d) estudos que relatassem a ocorrência de acidentes e/ou doenças profissionais relacionadas com atividades laboratoriais.

2.3.2 Resultados da pesquisa

A pesquisa de artigos nas três bases de dados, resultou numa identificação de 9462 artigos, sendo que foram excluídos 5362 artigos após a aplicação do primeiro critério de exclusão (documentos publicados num período de oito anos (2018-2025), 793 artigos foram removidos devido ao tipo de documento (apenas *articles* e *articles in press* foram considerados), 13 artigos foram excluídos devido ao tipo de fonte (apenas artigos publicados em *journals* e *trade publications* foram considerados), 136 foram eliminados por motivos de idioma (apenas artigos escritos em inglês foram considerados) e 3058 foram excluídos por não estarem relacionados com o tema. Ainda, foram removidos 39 artigos duplicados. Deste modo, foram analisados os resumos de 60 artigos, sendo que nove foram excluídos, uma vez que não se enquadravam no tema.

Assim, tendo em conta os duplicados e os artigos que foram excluídos, foram incluídos 51 estudos, estando este processo apresentado na Figura 7.

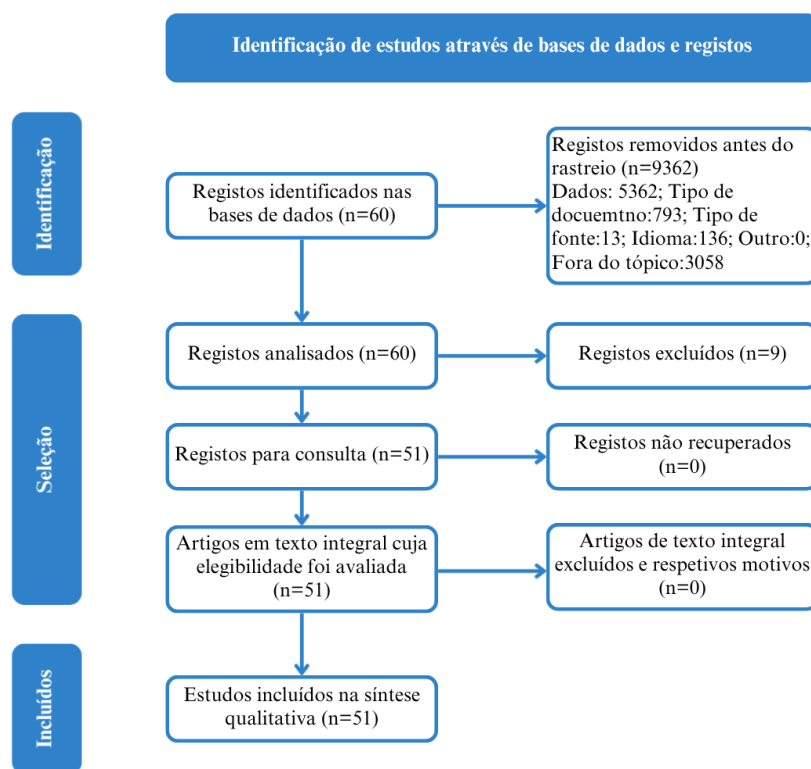


Figura 7- Resumo da pesquisa

2.3.3 Discussão dos resultados

A gestão do risco ocupacional requer uma abordagem sistemática, devidamente fundamentada e ajustada às especificidades do ambiente de trabalho em análise. A norma ISO 31000:2018 reforça a importância de

uma compreensão aprofundada do contexto organizacional, operacional e ambiental antes da implementação de qualquer processo de identificação, avaliação e controlo dos riscos.

No que respeita ao contexto em apreço, os laboratórios, tratam-se, de forma geral, de ambientes altamente especializados, onde se encontram equipamentos técnicos avançados e se manipulam diversos tipos de agentes, nomeadamente químicos, biológicos e físicos.

De acordo com a literatura analisada, em termos de proveniência geográfica, destaca-se a China que é o país com maior número de estudos incluídos, representando aproximadamente 17% da amostra. Os Estados Unidos e a Indonésia seguem-se com cerca de 13% e a Índia com 6%, conforme a Figura 8. Os restantes artigos estão dispersos por países como Brasil, Turquia, Quênia e outros países da Europa, o que demonstra a abrangência internacional da investigação em segurança laboratorial.

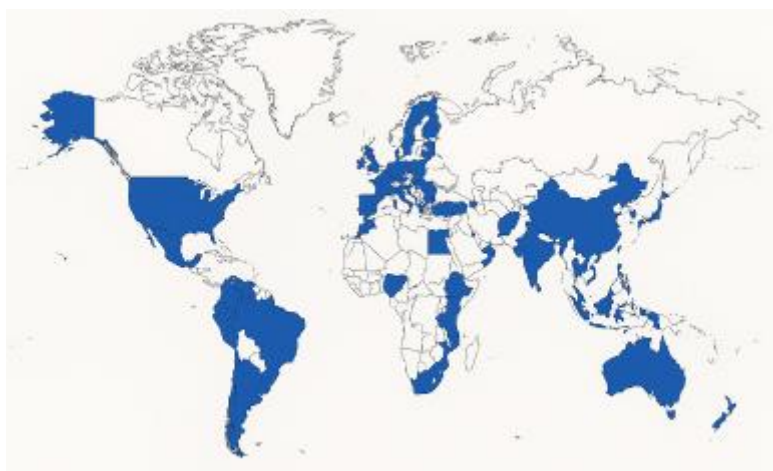


Figura 8 - Distribuição geográfica dos artigos selecionados

Os artigos analisados incluem diferentes contextos laboratoriais, abrangendo laboratórios clínicos, hospitalares, universitários e de investigação científica, refletindo a crescente preocupação com a segurança e a saúde ocupacional em ambientes académicos e de prestação de cuidados de saúde (Munson et al., 2018; Tait et al., 2018; Ackelsberg et al., 2020; Papadopoli et al., 2020; Salazar-Escoboza et al., 2020; Alshammari et al., 2021; Güney & Kahraman, 2022; Nasrallah et al., 2022; Paul et al., 2022; Zhao et al., 2022; Ahmed et al., 2024; Kantaş Yılmaz & Karakus S, 2024). Em menor número, foram também incluídos estudos realizados em laboratórios de tratamento de águas residuais, de biossegurança e de biotecnologia aplicada, evidenciando a diversidade de contextos onde os trabalhadores estão potencialmente expostos a riscos múltiplos e interligados (Hamilton et al., 2018; Dong et al., 2019; Xiao et al., 2019; Amin et al., 2022; Gui et al., 2022; Arnolds et al., 2024; Giménez et al., 2024; Kumar Teotia et al., 2024; X. Zhang et al., 2024). Esta abrangência confirma a natureza transversal dos riscos laboratoriais, cuja identificação e avaliação são essenciais para a implementação eficaz de medidas de controlo, de acordo com os princípios definidos na norma ISO 31000:2018.

Nos laboratórios clínicos e hospitalares, os resultados indicam uma clara predominância de riscos biológicos, sobretudo aqueles associados ao manuseamento de amostras humanas, à manipulação de microrganismos patogénicos e às falhas nas medidas de contenção primária (Munson et al., 2018; Tait et al., 2018; Ackelsberg et al., 2020; Farnsworth et al., 2020; Kantaş Yılmaz & Karakus S, 2024). O estudo de Ackelsberg et al. (2020) relatou dez casos de exposição ocupacional a *Brucella* em laboratórios hospitalares de Nova Iorque, entre 2015 e 2017, atribuídos à ausência de barreiras de contenção e à

dificuldade na identificação do agente. Em resposta a esses incidentes, Broertjes et al. (2024) documentaram a implementação de um sistema digital de alerta no *software* laboratorial, concebido para reforçar a rastreabilidade das amostras e a comunicação em tempo real entre os técnicos. Esta medida demonstrou-se eficaz na redução do risco de exposição acidental e ilustra a relevância crescente das soluções digitais no apoio à gestão da segurança e da biossegurança laboratorial (Güney & Kahraman, 2022; Zhao et al., 2022; X. Zhang et al., 2024; Brookman et al., 2024).

Já Hamilton et al. (2018) analisaram a presença de outro agente biológico nomeadamente, a *Legionella pneumophila* em sistemas de águas residuais reutilizadas nos Estados Unidos, recorrendo à modelação quantitativa para estimar a probabilidade de infeção em diversos cenários de exposição. Os resultados mostraram que as infeções laboratoriais podem ocorrer tanto por contacto direto com amostras contaminadas como pela inalação de bioaerossóis, sendo que esta última via, revelou-se particularmente crítica em contextos com sistemas de ventilação ineficazes ou mal calibrados (Hamilton et al., 2018; Ghosh et al., 2024). De forma semelhante, Gui et al. (2022), na China, avaliaram o risco microbiológico em laboratórios ligados a estações de tratamento de águas residuais, concluindo que a carga microbiana aerotransportada variava de forma significativa entre as estações do ano e que o risco de infeção era mais elevado durante o verão, quando as temperaturas e a atividade microbiana atingem valores superiores. Ambos os estudos apontam para a necessidade de ajustar as medidas de controlo em função das condições ambientais e do tipo de operação laboratorial, o que é coerente com outros trabalhos desenvolvidos em estações de tratamento de águas residuais (Cimera et al., 2020; Yan et al., 2021; Güney & Kahraman, 2022).

Os resultados apresentados nestes estudos revelaram-se igualmente pertinentes para a realidade do CIIMAR, onde as atividades de investigação envolvem, com frequência, a manipulação de agentes biológicos provenientes de ambientes aquáticos, incluindo bactérias, vírus, fungos e microalgas com potencial patogénico. Embora o grau de risco biológico possa diferir do observado em contextos hospitalares, os princípios de biossegurança identificados por estes autores são amplamente transferíveis para os laboratórios do CIIMAR, sobretudo no que respeita à contenção primária, ao controlo da exposição por aerossóis e à adequação dos sistemas de ventilação. A experiência relatada por Ackelsberg et al. (2020) e Broertjes et al. (2024) evidencia, ainda, o potencial da integração de ferramentas digitais de monitorização e rastreabilidade em sistemas laboratoriais complexos, permitindo uma deteção precoce de incidentes, o registo sistemático de ocorrências e uma comunicação mais eficiente entre equipas.

Do mesmo modo, os estudos de Gui et al. (2022) e Hamilton et al. (2018) oferecem contributos valiosos para a gestão da segurança em laboratórios dedicados à investigação, ao demonstrarem que a variação sazonal e os fatores climáticos influenciam diretamente a proliferação microbiana e o risco de exposição. No contexto do CIIMAR, onde muitos ensaios envolvem organismos aquáticos, amostras ambientais e sistemas experimentais fechados, esta evidência pode ser particularmente útil para otimizar as rotinas de monitorização microbiológica e ajustar preventivamente os parâmetros de ventilação e confinamento.

Nos laboratórios universitários de ensino, a literatura analisada revela uma relação direta entre o nível de formação, a perceção do risco e o comportamento seguro. Estudos conduzidos na Malásia, Indonésia e Índia evidenciam que muitos estudantes desconhecem os perigos associados às atividades experimentais,

o que aumenta a probabilidade de acidentes e de exposição a agentes biológicos e químicos (Athqiya et al., 2019; Santoso et al., 2019; Yusuf et al., 2019; Kurniawati et al., 2020). Este padrão é particularmente relevante para instituições que conciliam a investigação científica com a vertente pedagógica, como o CIIMAR, onde a presença de estagiários e jovens investigadores exige uma atenção especial à formação em segurança e à supervisão em contexto laboratorial. O estudo de Ghosh et al. (2024) evidencia, em laboratórios de ensino na Índia, níveis elevados de bioaerossóis associados à manipulação de culturas microbiológicas, salientando a influência da ventilação e do tempo de exposição na concentração de partículas inaláveis.

Por sua vez, Paul et al. (2022) compararam laboratórios universitários com e sem certificação *Occupational Safety and Health Management System* (OSHMS) e concluíram que a existência de um sistema formal de gestão de SST favorece a adoção de práticas preventivas consistentes, nomeadamente no uso de EPI e na correta armazenagem de substâncias químicas perigosas. Este resultado demonstra o valor acrescentado de políticas institucionais de gestão da segurança nas instituições onde a consolidação de procedimentos formais e a padronização das práticas de segurança entre equipas podem contribuir para um ambiente de trabalho mais controlado e resiliente.

Relativamente aos laboratórios de investigação científica, os riscos tendem a ser mais complexos e diversificados, de acordo com os artigos analisados. Estes apontam para problemas relacionados com o manuseamento de substâncias químicas perigosas, o armazenamento inadequado de reagentes e a eliminação incorreta de resíduos (Cimera et al., 2020; El Hajjaji et al., 2020; Papadopoli et al., 2020; Fatemi et al., 2022; Sari & Satrio, 2022). Os autores do estudo, Papadopoli et al. (2020), em Itália, observaram comportamentos de risco frequentes, como a ausência de EPI, o consumo de alimentos em espaços laboratoriais e o armazenamento conjunto de substâncias incompatíveis. De forma complementar, Fatemi et al. (2022) aplicaram um modelo de avaliação de risco químico e ambiental em laboratórios universitários, através de medições de parâmetros físico-químicos e ambientais e identificaram lacunas nas etapas de identificação de perigos e de verificação da eficácia das medidas de controlo.

Paralelamente, os estudos sobre laboratórios de biossegurança e biotecnologia destacam procedimentos experimentais de maior risco, como centrifugação de culturas, utilização de autoclaves e manipulação de aerossóis pressurizados. No trabalho de Liu et al. (2023) foi quantificada a emissão de partículas contaminadas durante estas operações e os autores apontaram falhas na contenção física e na formação dos trabalhadores. Resultados semelhantes foram reportados por Ou et al. (2024) e Zhang et al. (2023), que identificaram a falta de manutenção de equipamentos sob pressão e a ausência de protocolos padronizados de desinfeção como fatores críticos na prevenção de acidentes. No caso do CIIMAR, onde são conduzidos ensaios *in vitro*, experimentação com microrganismos aquáticos e trabalhos em sistemas fechados, estas conclusões reforçam a necessidade de consolidar práticas baseadas na manutenção preventiva dos equipamentos e na atualização contínua dos procedimentos de limpeza e descontaminação.

De forma integrada, os artigos analisados classificam os riscos laboratoriais em cinco grandes categorias, biológicos, químicos, físicos, ergonómicos e psicossociais (Figura 9) cuja predominância varia consoante tipo de atividade e o ambiente de trabalho.

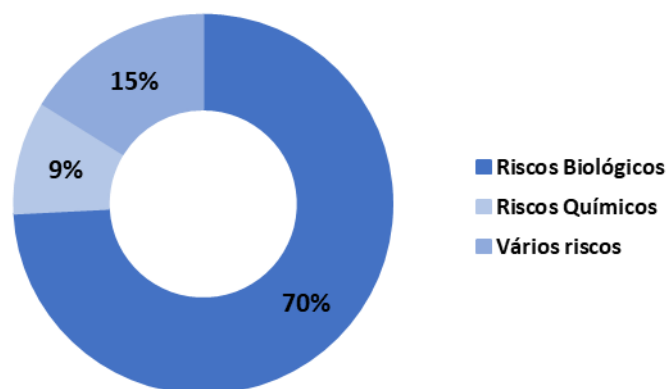


Figura 9 - Riscos identificados (biológicos, químicos, físicos, ergonômicos)

Os riscos biológicos continuam a ser os mais frequentes, incluindo a exposição a agentes como *Brucella*, *Legionella*, *E. coli* e coliformes fecais, sobretudo em ambientes clínicos ou de investigação ambiental (Hamilton et al., 2018; Dong et al., 2019; Ackelsberg et al., 2020; Gui et al., 2022; Muniesa et al., 2022). No caso dos riscos químicos, Feng et al. (2020) identificaram concentrações elevadas de *Phthalate Acid Esters* (PAEs) em laboratórios chineses, relacionando-as com o uso de plásticos e solventes voláteis. Os riscos ergonômicos e físicos, por sua vez, são transversais a todos os contextos laboratoriais. Kantaş Yılmaz & Karakus S, (2024) destacaram posturas inadequadas, movimentos repetitivos e exposição simultânea a reagentes perigosos. Outros autores, como Tait et al. (2018); Lessa et al. (2024); Ulu & BiRgün, (2024), referiram fatores físicos como radiação não ionizante, superfícies quentes e o uso de equipamentos sob pressão. Estes resultados são particularmente relevantes para o CIIMAR, onde muitas atividades envolvem longos períodos de trabalho de bancada, manipulação microscópica e utilização de equipamentos aquecidos ou pressurizados.

A literatura analisada, ainda evidencia que os fatores psicossociais, como a pressão associada à produtividade científica, a carga de trabalho e a falta de comunicação entre equipas, influenciam diretamente a percepção de risco e a adesão às normas de segurança (Salazar-Escoboza et al., 2020; Ahmed et al., 2024).

Além dos fatores de exposição direta, vários estudos identificam elementos que agravam a severidade dos acidentes, incluindo a utilização incorreta ou ausência de EPI, a falta de formação em segurança e a inexistência de programas formais de gestão de riscos. Nasrallah et al. (2022) relataram que 45% dos trabalhadores laboratoriais no Líbano haviam sofrido algum tipo de acidente de trabalho, associando este número elevado a deficiências na ventilação, má organização do espaço e ausência de protocolos operacionais. Em contrapartida, Giménez et al. (2024) em Espanha, demonstraram que a implementação de sistemas de gestão baseados na ISO 45001:2019 e o uso de indicadores de desempenho permitiram reduzir significativamente a incidência de acidentes e melhorar a percepção de risco entre os trabalhadores.

De modo geral, a análise dos estudos demonstra que, independentemente da sua tipologia, os laboratórios partilham vulnerabilidades estruturais e comportamentais que exigem uma abordagem de gestão integrada. O reconhecimento destas semelhanças e a adaptação das boas práticas internacionais à

realidade do CIIMAR constituem, assim, uma oportunidade para consolidar políticas de prevenção mais eficazes e sustentáveis.

Após a identificação e caracterização dos perigos e riscos, torna-se essencial compreender como estes foram avaliados e tratados nos diferentes estudos. De acordo com os artigos incluídos, observa-se uma diversidade significativa de abordagens metodológicas, refletindo as especificidades de cada tipo de laboratório, os recursos disponíveis e os objetivos de investigação definidos. De forma geral, os métodos aplicados nos estudos enquadram-se em três grandes categorias, quantitativos, qualitativos e semi-quantitativos (Figura 10), sendo muitas vezes utilizados de forma complementar, de modo a conjugar rigor analítico com viabilidade prática.

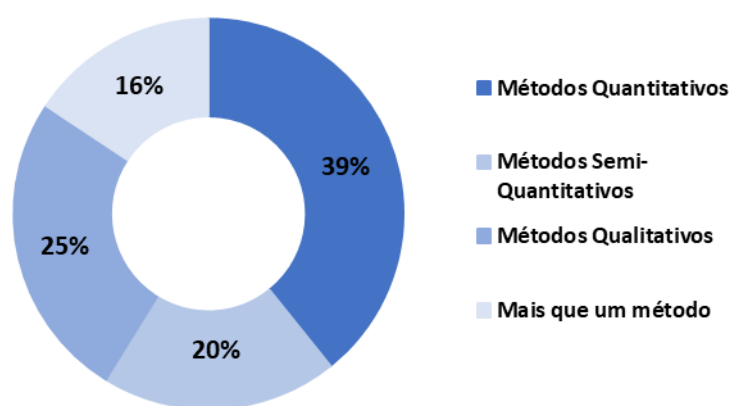


Figura 10 - Categorias dos métodos aplicados

Os métodos quantitativos destacam-se pela sua aplicação em contextos onde é possível a medição direta do risco ou a modelação de cenários de exposição, permitindo uma avaliação objetiva da magnitude do mesmo. Hamilton et al. (2018) recorreram à modelação matemática para estimar a probabilidade de infeção por *Legionella pneumophila* em sistemas de águas residuais reutilizadas, incorporando dados de concentração microbiana e taxa de inalação em diferentes condições ambientais. De modo semelhante, Yan et al., (2021) aplicaram a metodologia de Avaliação Quantitativa do Risco Microbiológico (QMRA) para determinar os níveis de risco associados a bactérias transportadas pelo ar em estações de tratamento de águas residuais, demonstrando que o risco varia sazonalmente e depende do tipo de exposição. Este tipo de método quantitativo é particularmente relevante em laboratórios de microbiologia ambiental e em contextos onde se manipulam grandes volumes de amostras líquidas ou aerossóis.

Outros estudos, de natureza também quantitativa, concentraram-se na análise química de contaminantes presentes no ar interior ou em superfícies laboratoriais. Feng et al. (2020) avaliaram as concentrações de *Phthalate Acid Esters (PAEs)* no ar de laboratórios de investigação na China, utilizando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS), e identificaram níveis de DEHP e DBP acima dos limites recomendados para exposição prolongada. A metodologia quantitativa permitiu não apenas caracterizar o grau de contaminação, mas também propor melhorias no sistema de ventilação e no manuseamento de plásticos e solventes. De igual modo, Fatemi et al. (2022), aplicaram uma avaliação quantitativa de risco químico e ambiental em cinco laboratórios universitários, associando medições de

concentração de substâncias perigosas a índices de risco ocupacional, o que possibilitou classificar as atividades de maior criticidade.

Os métodos qualitativos, por sua vez, foram amplamente utilizados em laboratórios de ensino e investigação, onde o objetivo principal é compreender a percepção de risco, os comportamentos e a cultura de segurança. Estes métodos incluem entrevistas, observações diretas, questionários e listas de verificação, permitindo identificar falhas organizacionais e comportamentais. Nasrallah et al. (2022) aplicaram inquéritos a técnicos e estudantes no Líbano, documentando práticas inseguras recorrentes e a elevada incidência de acidentes, enquanto Papadopoli et al. (2020) utilizaram questionários para comparar a percepção de risco químico entre investigadores e pessoal técnico, verificando discrepâncias significativas entre a percepção e a realidade observada. (Miller et al., 2024) também recorreram a metodologias qualitativas para explorar a influência de fatores psicossociais e culturais na adesão às normas de segurança, concluindo que a sobrecarga de trabalho e a ausência de reconhecimento institucional reduzem a eficácia das medidas de prevenção.

Os métodos semi-quantitativos surgem como uma abordagem intermédia e são frequentemente utilizados em laboratórios hospitalares e académicos, onde é necessário um equilíbrio entre objetividade e aplicabilidade. Estas metodologias baseiam-se geralmente em matrizes de risco que cruzam a probabilidade de ocorrência com a gravidade das consequências, permitindo classificar os riscos em níveis de prioridade. Kantaş Yılmaz & Karakus S, (2024) aplicaram uma matriz tipo-L 5×5 em laboratórios hospitalares na Turquia, combinando fatores ergonómicos e químicos, e identificaram tarefas críticas como a pipetagem manual e a centrifugação de amostras. De modo semelhante, Athqiya et al. (2019); Santoso et al. (2019); Yusuf et al. (2019); Kurniawati et al. (2020) utilizaram o método *Hazard Identification, Risk Assessment and Determining Control (HIRADC)* em laboratórios de ensino na Indonésia e na Malásia, permitindo mapear perigos por tarefa e estabelecer medidas de controlo adequadas. Estes estudos demonstram que o HIRADC é uma ferramenta prática e acessível para laboratórios com recursos limitados, promovendo a sistematização das ações preventivas sem comprometer o rigor da análise.

Em contextos mais especializados, como laboratórios de biossegurança, biotecnologia e investigação clínica avançada, verificou-se a adoção de metodologias combinadas, onde a componente quantitativa (por exemplo, medições de aerossóis e partículas) é complementada por uma análise qualitativa da adequação das práticas de contenção e do comportamento dos trabalhadores. Liu et al. (2023) e Ou et al. (2024) integraram medições experimentais com observações diretas, avaliando não apenas os níveis de risco, mas também a eficácia das práticas de segurança e a necessidade de reforçar a formação.

Em diversos estudos, estas abordagens foram combinadas, permitindo uma análise mais abrangente dos riscos e uma melhor priorização das medidas de controlo. A escolha metodológica revelou-se dependente não apenas dos recursos disponíveis, mas também do grau de formalização da gestão da segurança e do tipo de laboratório. Nos laboratórios clínicos e hospitalares, predominaram os métodos quantitativos e semi-quantitativos, pela necessidade de quantificar agentes biológicos e químicos, enquanto nos laboratórios de ensino prevaleceram as abordagens qualitativas, focadas na formação, na percepção e na

cultura de segurança. Já nos laboratórios de investigação e biotecnologia, verificou-se uma maior diversidade metodológica, combinando medições ambientais, matrizes de risco e auditorias internas.

A análise global dos estudos evidencia que a utilização de metodologias de avaliação de risco, contribui para a consolidação de sistemas de gestão de segurança mais eficazes. Como referido anteriormente, a adoção de um sistema de gestão, complementado por indicadores de desempenho, permitiu uma melhoria significativa na percepção de risco e na implementação de medidas corretivas (Giménez et al., 2024). Por outro lado, Nasrallah et al. (2022) e Papadopoli et al. (2020) mostraram que a ausência de métodos formais de avaliação está associada a uma maior frequência de acidentes e a uma menor capacidade de resposta preventiva. Assim, o uso sistemático de metodologias estruturadas não apenas quantifica o risco, mas também favorece a cultura de segurança e a melhoria contínua.

Assim, os resultados obtidos a partir da análise dos artigos confirmam que os laboratórios continuam a ser ambientes de trabalho complexos, onde coexistem múltiplos agentes de risco que exigem abordagens de gestão integradas e dinâmicas. A predominância dos riscos biológicos em contextos clínicos e hospitalares, dos riscos químicos e ergonômicos em ambientes de investigação e ensino, e a presença simultânea de fatores físicos e psicossociais em praticamente todos os contextos analisados, reforçam a necessidade de uma abordagem global da segurança. A diversidade de métodos utilizados demonstra que não existe uma metodologia universal aplicável a todos os tipos de laboratórios, pelo contrário, a escolha deve ser adaptada à natureza das atividades, ao grau de exposição e aos recursos disponíveis.

A evidência reunida neste conjunto de estudos justifica plenamente a pertinência da presente dissertação, na medida em que revela lacunas significativas na aplicação sistemática de metodologias de avaliação de risco em ambientes laboratoriais de investigação. Verifica-se, ainda, a necessidade de desenvolver ferramentas práticas, rigorosas e adaptáveis ao quotidiano dos centros de investigação científica, que permitam avaliar de forma estruturada os perigos, os eventos desencadeadores e as medidas de controlo, em conformidade com os referenciais internacionais mais reconhecidos, como a ISO 31000 e a ISO 45001. Desta forma, torna-se possível não apenas compreender os riscos existentes, mas também propor soluções metodológicas exequíveis que fortaleçam a cultura de segurança e a prevenção em contextos laboratoriais.

2.3.4 Objetivos da Dissertação

Apesar de já existirem alguns estudos sobre SST em ambientes laboratoriais, permanece essencial aprofundar o conhecimento sobre os riscos ocupacionais específicos associados às atividades desenvolvidas em centros de investigação. A elevada complexidade e diversidade destas atividades exigem a adoção de abordagens sistemáticas de avaliação que permitam identificar perigos, analisar riscos e a definição de medidas preventivas adequadas à realidade destas organizações.

O objetivo geral deste estudo consiste na implementação um processo de Gestão do Risco Ocupacional, associado às atividades desenvolvidas num centro de investigação.

Neste sentido, os objetivos específicos deste estudo são:

-
- Identificar e caracterizar os processos e subprocessos desenvolvidos nas diferentes áreas de um centro de investigação;
 - Identificar os perigos, os eventos desencadeadores e os riscos associados às tarefas realizadas nos contextos de laboratório, campo e escritório;
 - Avaliar e analisar os riscos ocupacionais através da aplicação de métodos, propondo medidas de tratamento e estratégias de monitorização e comunicação.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Metodologia para a gestão do risco de acidente no CIIMAR

A metodologia proposta tem como objetivo estruturar de forma sistemática o processo de gestão e avaliação dos riscos inerentes às atividades laboratoriais desenvolvidas num centro de investigação. Esta abordagem apoia-se nos princípios e diretrizes definidos pela norma ISO 31000:2018, integrando as etapas de caracterização do processo produtivo, identificação de perigos, análise, avaliação e tratamento do risco, complementadas por um sistema contínuo de comunicação e monitorização do desempenho.

A caracterização do processo produtivo constitui o ponto de partida da metodologia, permitindo uma compreensão detalhada das práticas, subprocessos e atividades laboratoriais. Esta fase contempla a descrição das operações, dos equipamentos utilizados, dos agentes manipulados (biológicos, químicos ou físicos), das condições ambientais e das interações entre os trabalhadores e os processos. A compreensão abrangente deste contexto é essencial para garantir que a identificação dos perigos seja completa e representativa da realidade operacional.

A etapa de identificação de perigos tem como finalidade reconhecer, de forma sistemática e participativa, todos os fatores com potencial para comprometer a saúde e a segurança dos trabalhadores. Nesta fase, procede-se à análise das tarefas, dos ambientes e das condições de trabalho, de modo a determinar a origem dos perigos e as circunstâncias suscetíveis de desencadear eventos indesejáveis.

A análise do risco corresponde à aplicação do método de avaliação selecionado e à ponderação dos parâmetros que o constituem. Consideram-se, nesta etapa, a probabilidade de ocorrência e a gravidade das consequências associadas a cada perigo identificado, de acordo com critérios previamente definidos. A combinação destes parâmetros permite determinar o Nível de Risco (NR), o que possibilita hierarquizar os riscos em função da sua relevância e apoiar o processo de tomada de decisão. A escolha do método de análise deve adequar-se ao contexto organizacional, podendo ser qualitativo, semi-quantitativo ou quantitativo, e ajustado aos recursos disponíveis, à natureza das atividades e ao grau de maturidade do sistema de gestão de segurança existente.

A fase de avaliação do risco consiste na comparação dos valores de Nível de Risco (NR) obtidos com os critérios de aceitabilidade definidos pela organização. Este procedimento orienta a priorização dos riscos mais significativos, a identificação de lacunas nas medidas de prevenção e a definição de ações corretivas e de melhoria.

A etapa de tratamento do risco tem como objetivo selecionar e implementar estratégias de controlo que assegurem a redução dos riscos identificados a níveis considerados aceitáveis. Sempre que possível, deve ser privilegiada a eliminação do perigo na origem ou a substituição por alternativas menos perigosas. Quando tal não for viável, recorrem-se a medidas de engenharia, organizacionais e administrativas que limitem a exposição, complementadas pelo uso adequado de equipamentos de proteção individual. A decisão sobre as ações a adotar deve resultar de uma avaliação criteriosa da sua viabilidade técnica, impacto e eficácia, garantindo que todas as medidas implementadas são devidamente documentadas, monitorizadas e sujeitas a revisão periódica.

Por fim, o processo é sustentado pelas etapas de comunicação e monitorização do risco, que asseguram a disseminação contínua de informação entre todos os intervenientes e a revisão sistemática dos resultados

obtidos. A comunicação promove o envolvimento dos trabalhadores e o alinhamento das equipas, enquanto a monitorização permite avaliar o desempenho das medidas implementadas e fomentar a melhoria contínua do sistema de gestão.

A metodologia de gestão do risco adotada neste trabalho foi concebida em conformidade com o modelo apresentado na Figura 11, que representa graficamente as etapas do processo segundo a norma ISO 31000:2018, adaptadas às especificidades dos laboratórios de investigação científica e às atividades desenvolvidas no CIIMAR.

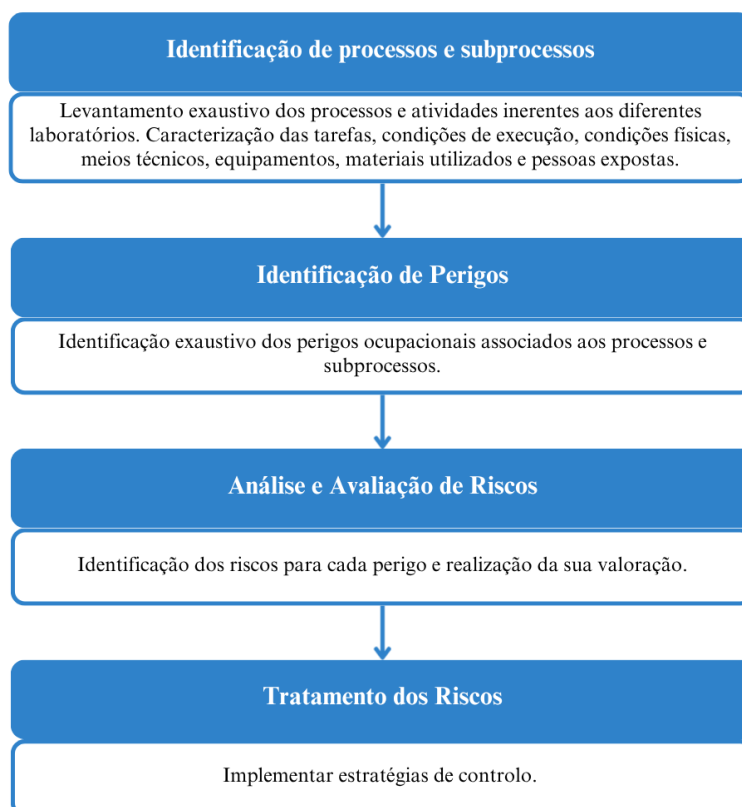


Figura 11- Metodologia adotada para avaliação do risco

De forma geral, o processo de gestão e avaliação do risco desenvolve-se em várias etapas:

- Caracterização dos processos e subprocessos – esta fase consiste em compreender em detalhe as atividades laboratoriais, identificando as operações realizadas, os agentes manipulados, os equipamentos utilizados e as condições ambientais. Esta análise permite enquadrar o contexto em que os riscos surgem e definir os limites do sistema a avaliar.
- Identificação de perigos – nesta etapa procede-se ao reconhecimento sistemático de todos os fatores que possam comprometer a segurança e a saúde dos trabalhadores, tendo por base os processos e subprocessos previamente caracterizados.

-
- Identificação dos riscos associados – após a identificação dos perigos, é feita a relação entre cada um deles e os possíveis efeitos adversos que podem resultar da sua ocorrência, determinando-se as situações e eventos que podem desencadear danos.
 - Análise do risco – corresponde à aplicação do método de avaliação selecionado e à ponderação dos parâmetros definidos, nomeadamente a probabilidade de ocorrência e a gravidade das consequências. A combinação destes fatores permite calcular o NR e compreender de forma mais objetiva a relevância de cada situação.
 - Avaliação do risco – esta etapa permite comparar os níveis de risco obtidos com os critérios de aceitabilidade definidos pela organização, estabelecendo prioridades de intervenção e apoiando a definição das medidas de controlo e mitigação mais adequadas.

3.2 Identificação de processos, subprocessos e tarefas

No contexto de um centro de investigação, a identificação dos processos e subprocessos está diretamente ligada aos diferentes laboratórios, às áreas de atuação e às atividades desenvolvidas em cada um. Estas áreas incluem atividades realizadas em laboratórios, atividades de campo, zonas de armazenamento, salas de cultura, biotério, entre outras.

Compreender o funcionamento e a organização de cada área é essencial para uma caracterização rigorosa das atividades. Deste modo, como referido anteriormente, o CIIMAR apresenta 3 linhas de investigação (Figura 12) e diferentes processos em cada uma.



Figura 12 - Linhas de investigação

Nesta dissertação, foram analisados e avaliados os processos e subprocessos das três linhas de investigação, estando identificados os processos de cada linha na Figura 13.

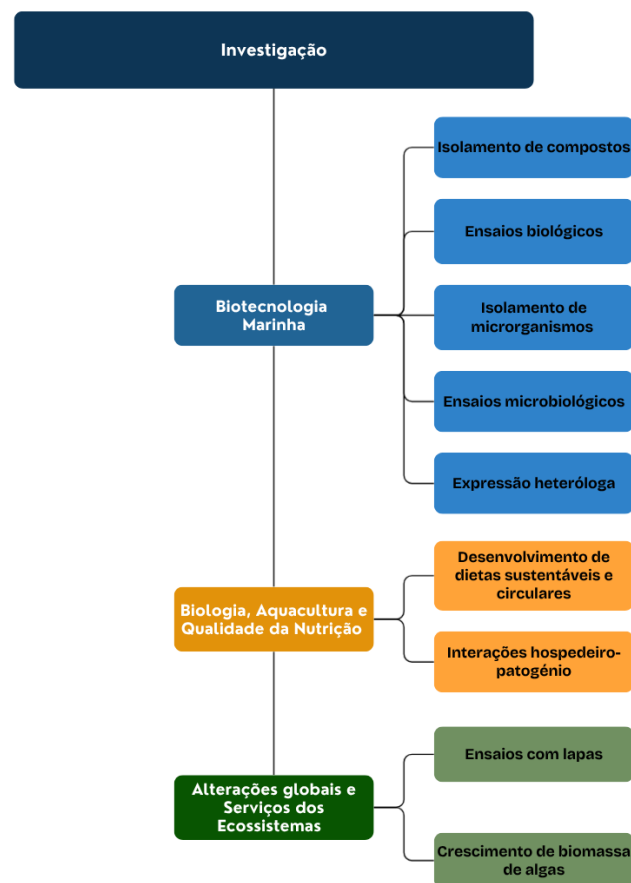


Figura 13- Processos inseridos nas linhas de investigação

A identificação dos processos e subprocessos foi realizada através de observações diretas em diferentes áreas, entrevistas aos técnicos e aos investigadores e também análise de documentos internos, como protocolos. Dentro de cada processo, foram identificados os subprocessos, sendo que em cada um foi analisado o tipo de trabalho realizado, o número de pessoas envolvidas, os equipamentos utilizados, os procedimentos adotados no dia a dia e, ainda, as características relacionadas com SST.

Foi igualmente relevante reconhecer que, no âmbito de um centro de investigação, se verificaram distintas modalidades operacionais, decorrentes da diversidade de áreas científicas, metodologias experimentais e funções desempenhadas pelos trabalhadores, nomeadamente:

- Trabalho integral em laboratório, em que todas as etapas da investigação são realizadas dentro do ambiente laboratorial;
- Trabalho de campo, onde são realizadas amostragens e recolha de dados no exterior;
- Trabalho computacional/ administrativo, baseado na análise de dados, estatística, revisão da literatura, geralmente realizado em ambiente de escritório.

2.6.1. Biotecnologia Marinha

2.6.1.1 Isolamento de compostos

Na Figura 14, estão presentes os subprocessos que foram analisados relativos ao processo de isolamento de compostos.

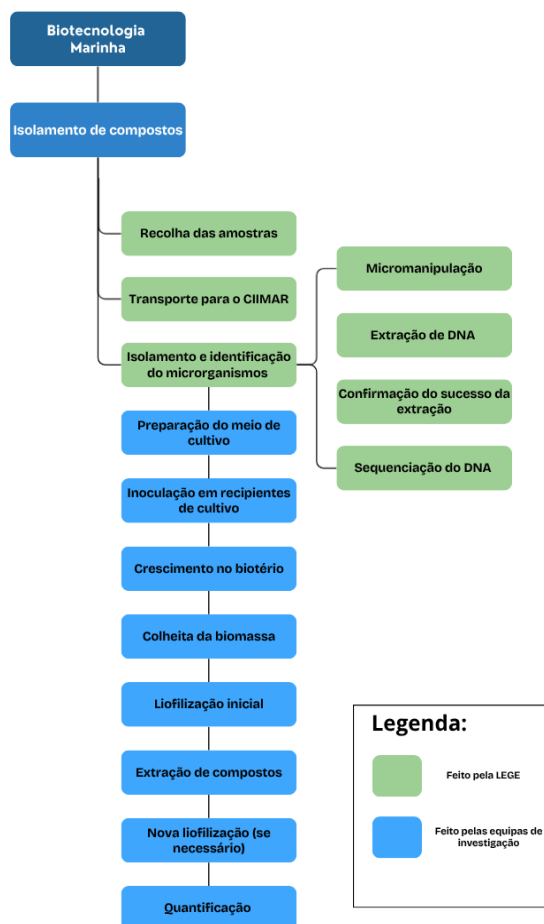


Figura 14- Subprocessos do processo - Isolamento de compostos

1. Recolha das amostras

O processo de isolamento de compostos inicia-se com a recolha de amostras biológicas, que pode ocorrer em diferentes ambientes marinhos ou de água doce, tais como o mar, rios ou zonas costeiras (praias, estuários). A recolha é efetuada utilizando, na maioria dos casos, frascos estéreis devidamente rotulados, (Figura 15). Esta atividade é executada obrigatoriamente por dois trabalhadores, conforme estabelecido nas regras internas. Durante a sua realização, é imperativo o uso de luvas de nitrilo. Além disso, são consideradas as condições meteorológicas, evitando-se a execução em dias de chuva, por representarem um maior risco de queda.



Figura 15- Recolha de amostras biológicas
Fonte: Investigador CIIMAR

2. Transporte para o CIIMAR

As amostras são acondicionadas em arcas de transporte refrigeradas e encaminhadas para as instalações do CIIMAR (Figura 16). Nesta fase, os trabalhadores têm em consideração o peso dentro da arca para que não haja um esforço excessivo.



Figura 16- Transporte das amostras
Fonte: Investigador CIIMAR

3. Isolamento e identificação inicial dos microrganismos

Neste subprocesso, temos a intervenção da *Blue Biotechnology and Ecotoxicology Culture Collection (LEGE-CC)*, que é uma unidade de investigação do CIIMAR dedicada ao estudo de microrganismos aquáticos, com especial enfoque nas cianobactérias e microalgas. As suas atividades englobam o isolamento, cultivo, caracterização morfológica e molecular de estirpes, bem como a avaliação do seu potencial ecotoxicológico e biotecnológico.

Assim, são os técnicos desta coleção que procedem ao isolamento e à identificação inicial dos microrganismos. De forma a iniciar a tarefa de isolamento e identificação de microrganismos, é necessário realizar a esterilização de frascos de 5 L, Figura 17, contendo meios de cultura ou outros materiais líquidos, com o objetivo de eliminar microrganismos e garantir condições assépticas para posterior utilização.

O processo inicia-se com a preparação dos frascos, que são preenchidos até ao volume adequado para evitar transbordos durante a esterilização, e com a verificação de que as tampas estão bem colocadas. Em

seguida, os frascos são colocados na autoclave de forma organizada, assegurando espaço suficiente entre eles para permitir a circulação uniforme do vapor.

Seleciona-se o ciclo de esterilização adequado (normalmente a 121 °C e 1 atm de pressão) e o equipamento é acionado, permanecendo fechado durante todo o processo. Após a conclusão do ciclo, é necessário aguardar a despressurização completa e o arrefecimento do equipamento antes da abertura. A remoção dos frascos é realizada com o uso de luvas térmicas/luvas resistentes ao calor, óculos e bata evitando queimaduras por contacto com superfícies quentes.



Figura 17- Autoclavagem de material

A operação da autoclave requer que os trabalhadores possuam formação específica, promovida pelo Gabinete de SST. Durante o seu uso, devem ser seguidas as instruções de segurança, bem como assegurada a utilização dos EPI adequados a cada fase do processo de autoclavagem.

De seguida, é realizado o fracionamento do líquido, ou seja, primeiramente de frascos de 5 L para recipientes de 1L (Figura 18) e posteriormente para frascos de cultura que contêm menor volume, de forma a facilitar a manipulação e o cultivo. O processo inicia-se com a organização da área de trabalho, garantindo que os frascos de origem e destino estejam devidamente limpos e, quando necessário, esterilizados. Utilizando técnicas assépticas, o frasco contendo o meio é aberto e o líquido é transferido para os frascos de menor volume de forma manual e realizado pelo trabalhador. Durante a operação, é necessário manusear os frascos com cuidado para evitar derrames, especialmente que se trata de recipientes de vidro. Nesta fase, o trabalhador utiliza uma Câmara de Segurança Biológica (CSB), que funciona simultaneamente como medida de proteção coletiva e de proteção das amostras. É obrigatório o uso de bata e luvas de nitrilo como EPI.



Figura 18 - Transferência de meios de cultura

Depois do conteúdo estar nos frascos de cultivo, segue-se a etapa de isolamento e identificação inicial dos microrganismos. Nesta fase, uma pequena porção da amostra é transferida para uma lâmina de vidro e observada ao microscópio ou à lupa. Utilizando uma pipeta de vidro capilar, as células ou filamentos são cuidadosamente separados e introduzidos num frasco com meio de cultura estéril, dando início ao cultivo puro (Figura 19). Nesta etapa, uma vez que o trabalhador manipula materiais na presença de chama, a não utilização de luvas de nitrilo constitui uma medida preventiva, destinada a evitar possíveis acidentes.



Figura 19 - Separação de células e filamentos

A etapa seguinte consiste na extração de ADN. Este subprocesso começa com a congelação rápida da amostra em azoto líquido, provocando a rutura das células devido ao choque térmico. O material congelado é triturado, libertando o ADN, que é posteriormente purificado com reagentes específicos para remoção de proteínas e outros resíduos celulares (Figura 20). O trabalhador responsável por esta tarefa deve utilizar luvas criogénicas durante o transporte do azoto para o respetivo recipiente. Após a remoção das amostras, é permitido o uso exclusivo de luvas de nitrilo. Na fase de transvase do azoto da garrafa para o recipiente, o procedimento é realizado com o auxílio de um carro basculante. O recipiente deve, igualmente, apresentar características técnicas adequadas para suportar as baixas temperaturas do azoto líquido.



Figura 20 - Colocação de amostras em azoto líquido

Para confirmar a eficácia da extração, recorre-se à eletroforese em gel de agarose. A agarose é aquecida até à dissolução completa, vertida num molde e, após a solidificação, as amostras de ADN são depositadas nos poços do gel. Quando o frasco é retirado do micro-ondas, deve ser retirado com luvas

adequadas, resistentes ao calor. Com a aplicação de corrente elétrica, as moléculas de ADN migram através da matriz, separando-se de acordo com o tamanho. A presença de bandas visíveis sob luz UltraVioleta (UV) confirma o sucesso da extração. Durante toda esta fase, o trabalhador deve utilizar luvas de nitrilo (Figura 21).

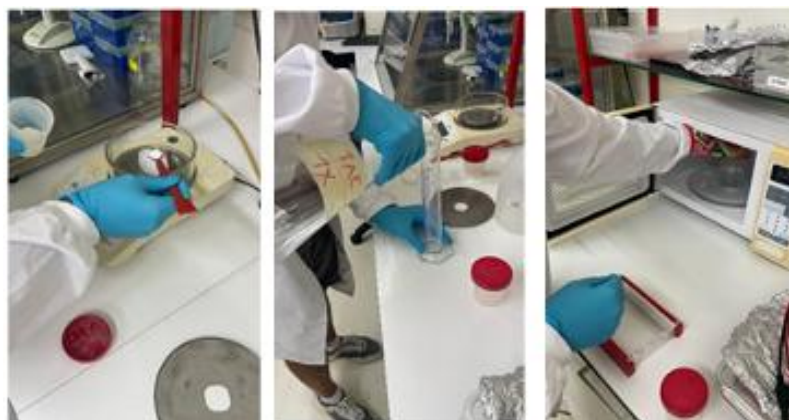


Figura 21- Aquecer o frasco de vidro com meio agar

Quando o resultado é positivo, a amostra é preparada e enviada para um laboratório externo, onde é realizada a sequenciação do ADN, permitindo a identificação taxonômica e genética precisa da estirpe. Em termos práticos, as atividades da *LEGE-CC* terminam neste subprocesso. No entanto, quando uma equipa de investigação necessita de uma estirpe específica de cianobactéria ou microalga proveniente da coleção, esta é solicitada formalmente à equipa responsável. O material solicitado, previamente mantido em frascos ou balões de cultura, é manipulado pelo investigador de forma a garantir condições asséticas.

4. Preparação do meio de cultivo

O primeiro passo consiste na esterilização de todo o material necessário para o cultivo. Os balões de cultivo, recipientes nalgene e a água destilada utilizada no processo são autoclavados, ou seja, submetidos a altas temperaturas e pressão para eliminar qualquer contaminação microbiológica. As soluções do meio de crescimento também passam por autoclavagem para assegurar que chegam estéreis à fase de preparação (Figura 22).



Figura 22 - Retirar o material da autoclave

Após este procedimento, o material esterilizado é retirado da autoclave e transportado para o laboratório. Como mencionado anteriormente, a utilização da autoclave requer formação especializada, proporcionada pelo Gabinete de SST. Apenas os trabalhadores que tenham concluído essa formação estão autorizados a

operar o equipamento. Durante o seu uso, devem seguir rigorosamente a instrução de segurança disponibilizada. No momento da retirada dos frascos, é obrigatório a utilização de bata, óculos de proteção e luvas resistentes ao calor.

Dentro de uma CSB, o investigador prepara o meio de crescimento, misturando as soluções necessárias e garantindo que não há risco de contaminação. Quando se utilizam balões de cultivo, o meio preparado é vertido diretamente no interior do balão dentro da câmara. No caso dos recipientes nalgene, devido ao seu tamanho, a transferência é feita à chama, utilizando um bico de bunsen, criando uma barreira térmica que mantém a esterilidade. Assim, o trabalhador começa por ir buscar os balões de cultivo, Figura 23, e os nalgene, Figura 24, sendo que estão colocados em locais elevados, pelo que para aceder é necessária a utilização de uma escada/banco.



Figura 23- Aceder aos balões de cultivo



Figura 24 - Aceder aos nalgene

De seguida, o trabalhador coloca os meios de cultivo e a estirpe dentro destes recipientes (Figura 25).



Figura 25 - Utilização do bico de bunsen para o cultivo em nalgenes

5. Inoculação em recipientes de cultivo

Concluída a preparação, procede-se à inoculação da estirpe no meio de cultura. Os recipientes são então transferidos para a sala de cultivo do biotério, Figura 26, onde permanecem em prateleiras elevadas, posicionadas de forma a garantir uma exposição uniforme à luz e sob condições ambientais rigorosamente controladas, incluindo fotoperíodo, temperatura, intensidade e cor da luz. O transporte é realizado sempre com recurso a um carro de apoio, não sendo permitido que o trabalhador transporte manualmente o peso dos recipientes.



Figura 26 - Transporte dos balões de cultivo e nalgenes até a sala do biotério

O acesso a estas prateleiras requer, na maioria dos casos, o uso de banco ou escada, Figura 27. O acesso ao biotério é restrito, sendo permitido apenas aos trabalhadores que possuam formação específica, ministrada pelos técnicos do biotério. No interior, existem várias salas de trabalho, todas dotadas de sistemas de controlo de acesso.



Figura 27 - Acesso as prateleiras

6. Crescimento no biotério e colheita da biomassa

Quando o cultivo atinge o crescimento pretendido, os recipientes são retirados do biotério e transportados para o laboratório, novamente, com o apoio de um carro. A biomassa obtida é colhida por filtração em redes específicas ou por centrifugação. Após a separação do meio, a biomassa é removida com o auxílio de espátulas ou *scrapers* e acondicionada em frascos de colheita. Estes frascos são inicialmente armazenados num congelador a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e, quando necessário, transferidos para uma ultracongeladora a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. A colocação das amostras dentro da arca ultracongeladora deve ser sempre feita com luvas criogénicas (Figura 28).



Figura 28 – Colocar amostras na arca ultracongeladora

7. Liofilização inicial

Segue-se a liofilização da biomassa, processo em que os frascos anteriormente congelados são colocados no liofilizador (Figura 29 e 30). Este equipamento remove a água por sublimação, obtendo-se um material completamente seco e estável. De forma a garantir a segurança dos trabalhadores, foram colocadas as redes de segurança para prevenir possíveis ruturas e explosões do frasco de vidro. Para manusear este equipamento é necessária formação adequada para a utilização que é dada por um investigador do laboratório.



Figura 29 – Colocação das amostras no liofilizador

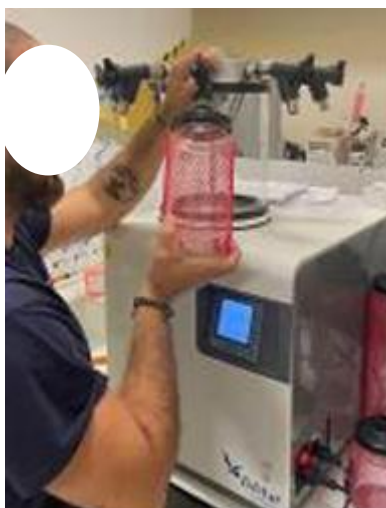


Figura 30 – Encaixe das peças do liofilizador

Esta fase do processo é realizada num outro laboratório, nomeadamente o laboratório de química, onde se encontram equipamentos utilizados por vários laboratórios.

8. Extração de compostos

Após a liofilização, é realizada a extração dos compostos de interesse, utilizando água ou solventes orgânicos conforme a natureza química dos metabolitos-alvo. Quando a extração é feita com solventes orgânicos, pode ser utilizado o rotavapor (evaporação sob pressão reduzida, preservando compostos termossensíveis), Figura 31, ou o *SpeedVac* (evaporação rápida a vácuo). À semelhança do liofilizador, para a utilização do rotavapor é necessária formação especializada dada por um técnico de laboratório. Para além disto, durante a utilização deste equipamento é recomendado o uso de bata, luvas e máscara de proteção respiratória e, como boa prática, o cabelo preso.

Caso ainda exista humidade residual, a amostra pode ser submetida a nova liofilização.



Figura 31 - Utilização do rotavapor

Sempre que é necessária a utilização do rotavapor, os trabalhadores recorrem aos solventes orgânicos disponíveis no laboratório. No entanto, estes solventes não se encontram armazenados de acordo com as normas de segurança, o que expõe o trabalhador a riscos adicionais sempre que necessita de os manusear ou transportar, Figura 32.



Figura 32 - Acesso aos solventes orgânicos

A utilização deste equipamento ocorre noutro laboratório, especificamente no Laboratório de *Cyanobacterial Natural Products (CNP)*.

9. Quantificação

A fase final consiste na quantificação e caracterização dos compostos isolados, recorrendo, na maioria dos casos, à Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC). Esta técnica separa os componentes da amostra com base na sua interação com uma fase estacionária e uma fase móvel, permitindo a deteção, quantificação e identificação de compostos com elevada precisão. Além do HPLC, pode ser utilizada a Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas (LC-MS), técnica que combina a separação cromatográfica com a análise de massas moleculares, possibilitando a identificação estrutural dos compostos e a deteção de moléculas em concentrações muito baixas. Outra alternativa é o uso de espectrofotometria, que mede a absorção de luz por uma amostra a determinados comprimentos de onda, permitindo estimar a concentração de compostos. No caso da utilização do HPLC, é necessário, antes de dar início à sua utilização, verificar todos os frascos com solventes, sendo que para esta tarefa é necessária a utilização de um banco, uma vez que os mesmos estão num nível elevado, Figura 33. A utilização deste equipamento é feita no laboratório de química e, para que possam utilizá-lo, é necessária formação adequada. Este equipamento utiliza solventes orgânicos e por isso os utilizadores deveriam utilizar máscara com proteção respiratória e óculos de proteção.



Figura 33 - Verificação dos frascos com solventes que se encontram no nível superior do HPLC

10. Limpeza de material

No final deste processo, é necessário limpar todo o material utilizado. O material utilizado em laboratório é lavado à mão, nomeadamente os frascos e gobelés de vidro. Os trabalhadores utilizaram luvas de nitrilo para a lavagem deste material, de modo a prevenir que o material escorregue das mãos (Figura 34).



Figura 34 -Lavagem de material de vidro

3.2.1.1 Ensaios biológicos

Relativamente ao segundo processo, nomeadamente, os ensaios biológicos, este apresenta quatro subprocessos, como se verifica na Figura 35.

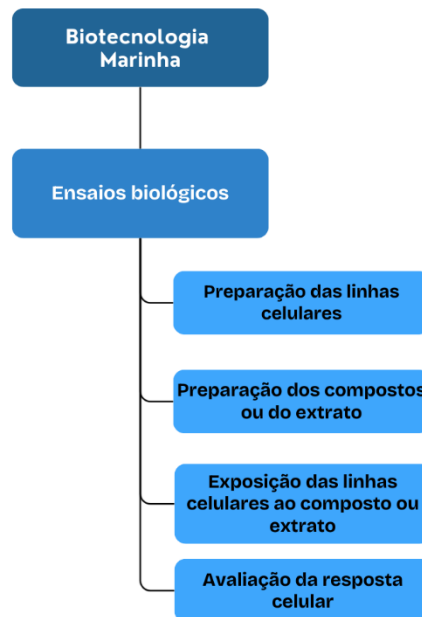


Figura 35 - Subprocessos do processo - Ensaio biológico

Os ensaios em linhas celulares são amplamente utilizados para estudar a bioatividade de compostos marinhos, permitindo analisar os seus efeitos num ambiente controlado *in vitro*. No CIIMAR, este tipo de abordagem serve para investigar, por exemplo, propriedades anticancerígenas, antioxidantes ou anti-inflamatórias de metabolitos obtidos a partir de microrganismos, macroalgas ou invertebrados.

1. Preparação das linhas celulares

O trabalho começa com a preparação das linhas celulares escolhidas para o estudo, que estão conservadas em azoto líquido ou na arca ultracongeladora, Figura 36. Esta tarefa é realizada com luvas criogénicas e bata.



Figura 36 - Retirar as amostras do azoto líquido

Após o descongelamento, as células são cultivadas em frascos de cultivo ou placas com meio nutritivo estéril, enriquecido com soro fetal bovino e, muitas vezes, antibióticos e antifúngicos para evitar contaminações. Estes cultivos permanecem em incubadores a 37 °C, com 5% de dióxido de carbono, até

atingirem uma confluência adequada, altura em que são subcultivados para manter a saúde e o crescimento da cultura. Este subprocesso e os próximos são realizados nas salas de células, salas essas que são específicas para este processo e localizadas no laboratório de química. Os utilizadores destas salas, para entrarem e trabalharem com as linhas celulares, recebem formação por parte dos responsáveis pelas salas.

O trabalhador retira o frasco de cultura da incubadora e, utilizando um aspirador de meio em conjunto com uma pipeta de vidro, remove o meio de cultivo, deixando as células aderidas à superfície do frasco (Figura 37). De seguida, é adicionada uma enzima que promove o desprendimento celular, permitindo que as células sejam transferidas para um tubo *falcon* contendo meio fresco. Uma pequena fração da suspensão celular é então colocada numa lâmina, à qual se adiciona um corante específico. Posteriormente, as células são contadas num equipamento apropriado para a quantificação celular.

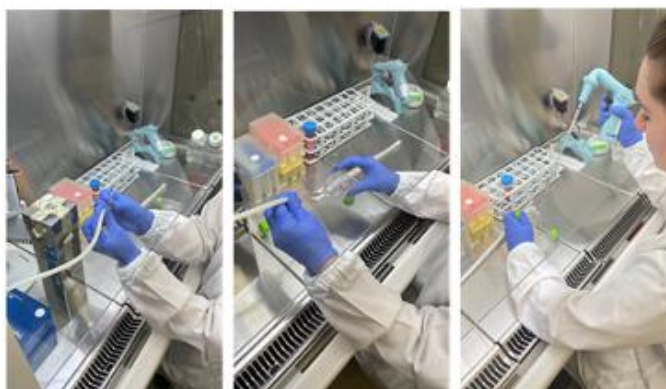


Figura 37- Aspirar o meio através de uma pipeta de vidro

2. Preparação dos compostos ou do extrato e exposição das linhas celulares

Em paralelo, procede-se à preparação dos compostos ou extratos a testar. Para compostos com possível atividade anticancerígena, ajustam-se as concentrações para ensaios de citotoxicidade em linhas tumorais. No caso de atividade antioxidante ou anti-inflamatória, os compostos podem ser aplicados antes ou depois da indução de stress oxidativo ou inflamação, simulando situações reais de agressão celular. A preparação envolve a dissolução do composto em solventes adequados (DMSO ou água) e diluição em várias concentrações para estabelecer curvas de dose-resposta.

Com as células e os compostos prontos, procede-se à exposição: as células são semeadas nas placas de ensaio e tratadas com as diferentes concentrações durante um período que varia conforme o objetivo do estudo, desde poucas horas para respostas agudas até vários dias para efeitos prolongados.

3. Avaliação da resposta celular

A avaliação final depende do tipo de bioatividade estudada. Nos ensaios anticancerígenos, aplicam-se métodos, para medir a atividade metabólica e a morte celular. Para a atividade antioxidante, quantifica-se a redução de espécies reativas de oxigénio ou a preservação de marcadores celulares. Nos testes anti-inflamatórios, avalia-se a modulação de mediadores inflamatórios, muitas vezes por leitura de absorvância. Graças à sua versatilidade, rapidez e custo relativamente reduzido, este tipo de ensaio é uma etapa essencial para a triagem inicial de compostos bioativos antes de avançar para modelos *in vivo*, permitindo filtrar as moléculas mais promissoras e compreender melhor os seus mecanismos de ação.

3.2.1.2 Isolamento de microrganismos

Ainda na linha da biotecnologia marinha, existe mais um processo nomeadamente o isolamento de microrganismos, conforme a Figura 38:

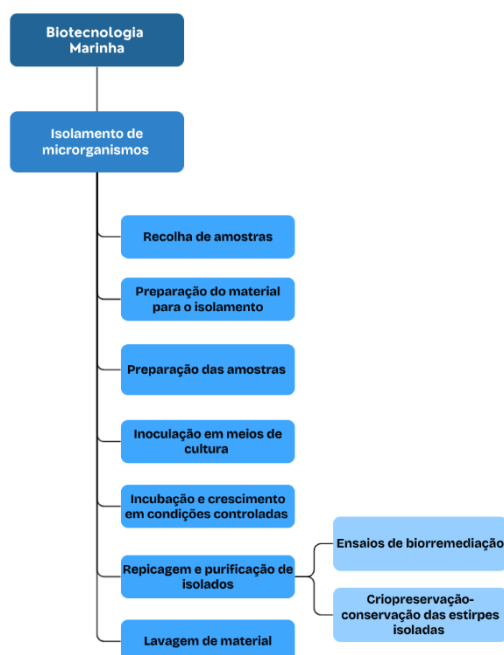


Figura 38 - Subprocessos do processo - Isolamento de microrganismos

O isolamento de microrganismos marinhos, como cianobactérias, microalgas, bactérias heterotróficas ou fungos, desenvolve-se em várias etapas que permitem a transição desde a recolha em habitats naturais até à obtenção de culturas puras, devidamente preservadas ou aplicadas em ensaios experimentais.

1. Recolha de amostras

A recolha de amostras, que podem provir de diferentes ambientes aquáticos, incluindo a coluna de água, sedimentos, biofilmes, macroalgas ou tecidos de organismos marinhos e de água doce. Para a amostragem, recorrem-se a frascos ou sacos estéreis, tubos falcon, redes de plâncton, devidamente rotulados e acondicionados em arcas refrigeradas portáteis, garantindo que as condições ambientais originais se mantêm até à chegada ao laboratório. Frequentemente, são ainda utilizados equipamentos auxiliares, como sondas multiparamétricas, para registo de parâmetros físico-químicos (temperatura, salinidade, pH, oxigénio dissolvido) e sistemas de GPS, que asseguram a localização exata dos pontos de amostragem.

2. Preparação do material para o isolamento

À chegada ao laboratório, realiza-se a preparação do material para o isolamento, assegurando condições assépticas. Para tal, todos os consumíveis e meios de cultura são autoclavados, garantindo a esterilidade antes da sua utilização. O grupo de investigação que realiza este processo, tem o seu material de

laboratório, como pontas de pipetas ou placas de petri, armazenado em caixas de cartão colocadas em cima de armários e frigoríficos, sendo que sempre que precisa deste material tem de utilizar a escada (Figura 39).



Figura 39 - Aceder ao material de laboratório em altura

Como referido anteriormente, depois de terem todo o material essencial é necessário autoclavarem, conforme a Figura 40.



Figura 40- Autoclavar material e os meios de cultura

Para retirar o material da autoclave, como já referido, é necessário que o utilizador esteja a utilizar luvas resistentes ao calor, óculos de proteção e bata. Uma vez que esta autoclave, é apenas deste grupo de investigação, o técnico de laboratório é quem dá a formação aos utilizadores.

3. Preparação das amostras

O processamento das amostras é efetuado na CSB de classe II, recorrendo a micropipetas estéreis, tubos *falcon* e filtros de membrana com diferentes tamanhos de poro. Consoante o microrganismo alvo, as amostras podem ser homogeneizadas, diluídas em série ou filtradas seletivamente. Em alguns casos específicos, aplicam-se tratamentos físico-químicos, como o choque térmico, que favorecem o crescimento de determinados grupos microbianos em detrimento de outros.

4. Inoculação em meios de cultura

Segue-se a inoculação em meios de cultura adequados, que pode ser realizada em meio líquido ou em placas sólidas, previamente esterilizadas. Quando é realizado em placas sólidas, os meios autoclavados são vertidos nas placas e as mesmas ficam a secar até ficarem sólidas, Figura 41.



Figura 41 - Verter o meio de cultivo quente para as placas de petri

Uma fração da amostra é observada ao microscópio ótico ou à lupa estereoscópica e, com o auxílio de pipetas capilares de vidro ou agulhas finas, células ou filamentos são transferidos para os recipientes com o meio de cultura apropriado. Estes podem ser seletivos, quando se pretende favorecer organismos específicos, ou enriquecidos, quando se procura maximizar a diversidade inicial. Este subprocesso pode ser realizado no CSB ou à chama, sendo que quando é realizado na CSB é necessária a utilização de luvas de nitrilo.

5. Incubação e crescimento em condições controladas

A etapa de incubação decorre em condições ambientais controladas, utilizando incubadores, câmaras de crescimento ou agitadores, no caso das culturas líquidas. A temperatura é geralmente mantida entre 20 e 28°C, o fotoperíodo varia entre 12 e 16 horas de luz, e a intensidade e o espectro luminoso são regulados com lâmpadas LED ou fluorescentes. A salinidade e o pH do meio são ajustadas em função do habitat de origem da estirpe. O crescimento é monitorizado periodicamente por observação microscópica e registo da densidade celular.

No caso do crescimento de culturas em meio líquido, é necessário o trabalhador ter cuidado redobrado uma vez que o transporte dos frascos é realizado de forma manual, conforme a Figura 42. Para além disto, é necessário ter atenção ao piso molhado (Figura 43).



Figura 42 - Transporte de frascos de vidro para a incubadora



Figura 43 - Piso molhado

6. Repicagem e purificação de isolados

Quando o crescimento é visível, torna-se necessária a repicagem e purificação dos isolados. Esta etapa assegura que apenas o microrganismo de interesse se mantém na cultura, eliminando contaminações. Entre as técnicas aplicadas incluem-se o estriamento repetido em placas de *petri*, diluições sucessivas em microplacas e filtração seletiva. Frequentemente, a colônia ou bactéria de interesse é retirada com uma lâmina de bisturi estéril, transferida para novo meio e cultivada até se obter uma cultura constituída apenas pelo microrganismo pretendido (Figura 44). Neste subprocesso, uma vez que é feito à chama, não é recomendada a utilização de luvas de nitrilo.



7. Criopreservação

A partir desta fase, o processo pode seguir dois caminhos distintos. O primeiro corresponde à conservação das estirpes isoladas, garantindo a sua viabilidade e disponibilidade para investigações futuras. Dependendo do horizonte temporal desejado, as culturas podem ser armazenadas em meio fresco a 4 °C, em glicerol a -20 °C, por ultracongelação a -80 °C, conforme a Figura 45, ou em azoto líquido para conservação a longo prazo. Em alternativa, algumas bactérias e fungos podem ainda ser preservados por liofilização. Estes métodos asseguram a integridade genética e fisiológica dos microrganismos, permitindo a sua utilização em ensaios posteriores ou a integração em coleções de referência. Para este subprocesso é crucial a utilização de luvas criogénicas e bata.



Figura 45 - Colocar amostras da arca ultracongeladora

8. Ensaios de biorremediação

O segundo caminho corresponde à realização de ensaios de biorremediação, que consistem em avaliar o potencial dos microrganismos isolados para degradar, transformar ou remover contaminantes presentes em ambientes aquáticos. Nestes ensaios, as estirpes são expostas, em condições controladas de laboratório, a diferentes tipos de poluentes. A resposta dos microrganismos é monitorizada através de parâmetros como a taxa de crescimento, a produção de biomassa, a redução da concentração do contaminante ou a transformação química de compostos tóxicos em formas menos nocivas. Para além da degradação direta, algumas estirpes podem atuar por processos indiretos. Estes ensaios são fundamentais para identificar microrganismos com potencial aplicação em estratégias de recuperação de ecossistemas degradados e em soluções biotecnológicas sustentáveis.

Este processo é realizado no laboratório designado Ecobiotec. Atendendo às atividades desenvolvidas por este grupo, para além da formação geral de segurança promovida pelo Gabinete de SST é igualmente ministrada uma formação específica em biossegurança, conduzida pelos investigadores responsáveis, dirigida aos utilizadores que trabalham com agentes biológicos.

9. Lavagem de material

À semelhança do processo anterior, este laboratório também não tem máquina de lavar e por isso todo o material de vidro é lavado na banca do laboratório. Neste caso, os trabalhadores também utilizam luvas de nitrilo para a lavagem do material (Figura 46).



Figura 46 - Lavagem de material de vidro

3.2.1.3 Ensaios microbiológicos

Em relação ao processo de ensaios microbiológicos, este apresenta os seguintes subprocessos (Figura 47):

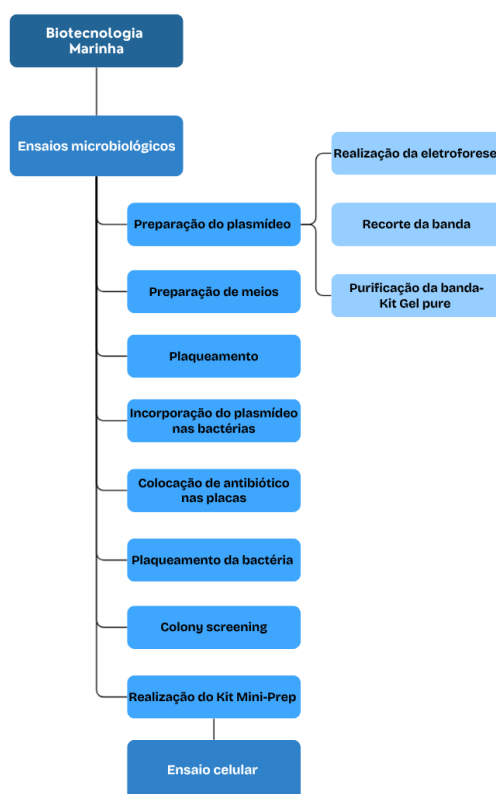


Figura 47 - Subprocessos do processo - Ensaios microbiológicos

1. Preparação do plasmídeo

O trabalho inicia-se com a preparação do plasmídeo, que se encontra armazenado a baixas temperaturas em arcas de congelação. O material é retirado e colocado num tubo do tipo *ependorf*, juntamente com as enzimas necessárias para o ensaio. A mistura é posteriormente colocada no termociclador, onde o plasmídeo é linearizado através de ciclos de aquecimento controlados, que permitem a atuação das enzimas de restrição.

Paralelamente, é preparado o gel de agarose, dissolvendo-se o pó de agarose numa solução tampão TAE. A mistura é aquecida no micro-ondas até entrar em ebulição, sendo retirada periodicamente para evitar

sobreaquecimento e permitir a homogeneização (Figura 48). A mistura aquecida deve ser retirada do micro-ondas com luvas resistentes ao calor.



Figura 48 - Aquecimento no micro-ondas do gel

Após arrefecimento até uma temperatura segura, o gel é vertido em moldes com pentes, formando os poços onde as amostras serão carregadas. Uma vez solidificado, o gel adquire uma consistência semelhante a “gelatina”. O plasmídeo linearizado, presente no *ependorf*, é então carregado nos poços do gel juntamente com um marcador de peso molecular. Inicia-se a eletroforese em gel de agarose, onde, pela aplicação de corrente elétrica, as moléculas de ADN migram através da matriz do gel de acordo com o seu tamanho. Após o término da corrida eletroforética, o gel é colocado sob radiação UV, permitindo visualizar as bandas de ADN através de corantes intercalantes, conforme Figura 49. Neste momento, a banda correspondente ao plasmídeo de interesse é cuidadosamente recortada com um bisturi estéril, de acordo com a Figura 50.



Figura 49 - Visualização do gel através das radiações UV

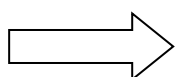


Figura 50 - Corte do gel

A etapa final corresponde à purificação da banda de ADN, realizada com recurso a um kit específico, como o *Gel Pure Kit*. Este processo inclui a digestão da matriz de agarose, libertando o ADN da banda excisada. Segue-se a ligação do ADN a uma coluna de sílica, lavagem para remoção de impurezas e, por fim, a eluição do plasmídeo purificado em tampão apropriado. Este método permite recuperar ADN de elevada qualidade e pureza, adequado para subseqüentes aplicações moleculares, como clonagem, transformação bacteriana ou análises de sequenciação.

2. Preparação dos meios

De seguida, é fundamental preparar previamente os meios nutritivos que irão suportar o crescimento das bactérias. O procedimento inicia-se com a esterilização dos frascos contendo os diferentes meios, geralmente constituídos por soluções de nutrientes dissolvidos em água destilada. Estes frascos são autoclavados (Figura 51) e deixados a arrefecer até atingirem uma temperatura adequada para manipulação, mas ainda suficientemente elevada para manter os componentes em estado líquido. As regras descritas anteriormente relativamente à utilização das autoclaves, aplicam-se a este subprocesso.



Figura 51 - Autoclavagem de material

3. Plaqueamento

Uma vez preparados e arrefecidos, os meios são utilizados para a preparação de placas de *petri* com agar nutritivo. Este procedimento é realizado próximo de uma lamparina de chama aberta, que cria uma barreira física de convecção de ar, minimizando a deposição de partículas e microrganismos do ambiente, garantindo assim a esterilidade do processo. O agar ainda líquido é cuidadosamente vertido em cada placa de *petri*, até formar uma camada uniforme na superfície, conforme a Figura 52. O trabalhador não utiliza luvas neste processo, uma vez que é feito à chama.



Figura 52- Plaqueamento

As placas são então deixadas a repousar em ambiente frio, geralmente no frigorífico, até que o agar solidifique completamente, adquirindo a consistência necessária para suportar a inoculação bacteriana.

Após solidificação, as placas são retiradas do frio e transferidas para a estufa, onde são armazenadas até ao momento da utilização. Este armazenamento assegura condições adequadas de conservação, prevenindo a condensação excessiva e mantendo a integridade do meio.

4. Incorporação do plasmídeo nas bactérias

A etapa de incorporação do plasmídeo nas bactérias corresponde ao processo de transformação bacteriana, através do qual as células recebem e integram o material genético de interesse. As bactérias utilizadas encontram-se previamente armazenadas em tubos do tipo *eppendorf* na arca ultracongeladora, garantindo a sua preservação a longo prazo. Para dar início ao ensaio, estas amostras são retiradas, Figura 53, com luvas criogénicas e colocadas imediatamente em gelo, de forma a manter a viabilidade celular durante a manipulação.



Figura 53- Retirar a bactéria da arca ultracongeladora

Em condições assépticas e com a presença de chama da lamparina, que assegura a criação de um ambiente estéril, uma parte da cultura bacteriana é transferida para um novo tubo *eppendorf*. A este tubo é então adicionado o plasmídeo previamente preparado, também mantido em gelo, de forma a favorecer a incorporação subsequente (Figura 54). As misturas são mantidas em gelo durante todo o procedimento, uma vez que esta etapa inicial requer temperaturas baixas para aumentar a permeabilidade da membrana bacteriana e preparar as células para receber o ADN.



Figura 54- Colocação da bactéria e meio no eppendorf com o plasmídeo

As bactérias excedentes, não utilizadas no ensaio, são devidamente seladas e devolvidas à arca ultracongeladora, assegurando a preservação do *stock* original e evitando desperdícios. Este passo é determinante, pois estabelece o ponto de partida para que as bactérias transformadas expressem o plasmídeo de interesse, permitindo a posterior seleção e caracterização das colónias que tenham integrado o material genético.

Para que o plasmídeo consiga penetrar na célula bacteriana, é necessário induzir um choque térmico, técnica clássica de transformação que aumenta temporariamente a permeabilidade da membrana. Este procedimento pode ser realizado recorrendo a um termobloco ou a um banho-maria previamente aquecido, onde os tubos, contendo a mistura de bactérias e plasmídeo, são submetidos a uma variação súbita de temperatura durante alguns segundos. Imediatamente após o choque, os tubos são novamente colocados em gelo, de modo a estabilizar as membranas celulares e permitir que o ADN permaneça no interior das células transformadas. Neste subprocesso, sendo realizado na presença de uma lamparina, os utilizadores não utilizam luvas.

Concluída esta etapa, a manipulação continua sob condições asséticas, mantendo a chama da lamparina acesa para evitar contaminações. Ao tubo de *ependorf* contendo as bactérias transformadas é adicionado meio nutritivo fresco, que fornece os nutrientes necessários para a recuperação e multiplicação celular após o stress do choque térmico.

Por fim, os tubos são transferidos para a estufa com agitação controlada, onde permanecem incubados durante o período adequado, Figura 55. Esta fase de recuperação é crucial, uma vez que permite às bactérias expressar os genes presentes no plasmídeo, incluindo marcadores de resistência ou de seleção, que serão determinantes para a etapa de plaqueamento e identificação das colónias transformadas.



Figura 55 - Colocação dos tubos de eppendorf na estufa com agitação

5. Colocação de antibiótico nas placas

Após a solidificação e armazenamento iniciais, as placas de *petri* com meio de cultura são retiradas da estufa para preparação da etapa de seleção. Nesta fase, procede-se à adição do antibiótico apropriado ao ensaio, neste caso a ampicilina, que será responsável por selecionar apenas as bactérias que tenham incorporado o plasmídeo contendo o gene de resistência, Figura 56.



Figura 56- Pipetar o antibiótico para as placas de petri

A manipulação é realizada em proximidade da chama da lamparina, garantindo um ambiente estéril e minimizando o risco de contaminação por microrganismos ambientais. O antibiótico é cuidadosamente distribuído sobre a superfície de cada placa, utilizando uma ansa estéril, de modo a garantir uma dispersão homogênea. Esta homogeneidade é essencial, pois assegura que todas as áreas da placa possuem a mesma concentração de antibiótico, permitindo uma seleção eficaz e consistente.

Uma vez concluída a preparação, as placas são novamente colocadas na estufa, onde permanecem nas condições de temperatura adequadas até estarem prontas para receber a suspensão bacteriana transformada. Esta etapa é determinante para o sucesso do ensaio, uma vez que a presença do antibiótico constitui o critério seletivo que permitirá distinguir entre as colônias transformadas (resistentes) e as não transformadas (sensíveis), assegurando a fiabilidade dos resultados obtidos.

6. Plaqueamento da bactéria

Após o período de incubação em estufa com agitação, durante o qual as bactérias transformadas recuperam e iniciam a expressão do plasmídeo, os tubos de *ependorf* são retirados para a etapa seguinte. Nesta fase, procede-se a uma centrifugação das amostras, que permite separar os componentes líquidos (sobrenadante) da fração sólida. No fundo do tubo, forma-se o chamado *pellet* bacteriano, constituído pelas células sedimentadas. O sobrenadante é cuidadosamente descartado e a fração sólida é ressuspensa em um pequeno volume de meio estéril, de forma a concentrar as bactérias transformadas. Esta suspensão celular é então utilizada para o plaqueamento em meios seletivos. O procedimento é realizado sob condições estéreis, normalmente junto à chama de uma lamparina, e consiste em distribuir a suspensão bacteriana sobre a superfície das placas de *petri* previamente preparadas com antibiótico. A dispersão é feita com o auxílio de uma ansa estéril ou de um *spreader*, garantindo uma distribuição uniforme das células, Figura 57.



Figura 57- Espalhamento da bactéria nas placas de petri

As placas são posteriormente colocadas na estufa, em condições controladas de temperatura, permitindo o crescimento das colônias ao longo de 24 a 48 horas. Apenas as bactérias que integraram com sucesso o plasmídeo contendo o gene de resistência ao antibiótico são capazes de proliferar, originando colônias visíveis que poderão ser selecionadas e analisadas nas etapas seguintes do ensaio.

No dia seguinte ao plaqueamento, as placas seletivas são retiradas da estufa e procede-se à avaliação do crescimento bacteriano. Nesta etapa, observa-se a presença de colônias isoladas que resultaram da multiplicação das bactérias transformadas, ou seja, aquelas que incorporaram com sucesso o plasmídeo contendo o gene de resistência ao antibiótico.

7. *Colony screening*

Uma pequena porção de cada colônia é cuidadosamente retirada com uma ansa estéril e transferida para tubos do tipo *falcon* contendo meio nutritivo fresco suplementado com o antibiótico ampicilina, Figura 58. A presença contínua do antibiótico nesta fase assegura que apenas as bactérias transformadas se mantenham viáveis e ativas, funcionando como fator seletivo.

Os tubos são então incubados em estufa, geralmente com agitação, permitindo o crescimento em meio líquido de culturas derivadas de colônias individuais. Este procedimento, designado por *colony screening*, é essencial para expandir as culturas bacterianas que carregam o plasmídeo de interesse, servindo de base para análises posteriores, tais como a extração de ADN plasmídeo, testes de expressão génica ou ensaios funcionais.

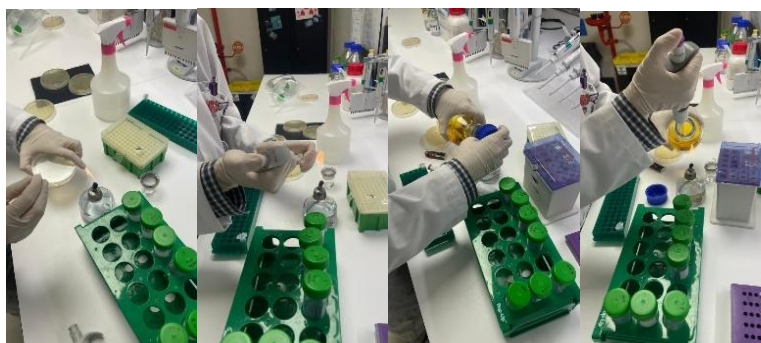


Figura 58 - Colony screening

8. Realização do Kit Mini-Prep

Após o crescimento das colónias selecionadas em meio líquido suplementado com antibiótico, procede-se à extração e purificação do plasmídeo de interesse, utilizando um *Kit Mini Prep*. Este método baseia-se em etapas de lise celular, separação do ADN plasmídico do ADN cromossómico e proteínas, e purificação final através de colunas de sílica.

O processo inicia-se com a centrifugação das culturas líquidas, de forma a concentrar as bactérias num *pellet* celular no fundo do tubo. O sobrenadante é descartado e as células são ressuspensas numa solução tampão, que contém agentes para estabilizar o ADN. Segue-se a adição de um tampão de lise alcalina, que provoca a rutura da membrana bacteriana e desnatura o ADN cromossómico e proteínas, deixando o plasmídeo intacto devido à sua conformação circular. A reação é depois neutralizada com um tampão de neutralização, que promove a precipitação do ADN cromossómico e das proteínas celulares, formando um *pellet* após centrifugação.

O sobrenadante resultante, que contém o ADN plasmídico, é transferido para uma coluna de sílica fornecida pelo kit. Nesta etapa, o plasmídeo liga-se à matriz de sílica da coluna, enquanto os contaminantes são eliminados por centrifugação e lavagens sucessivas com tampões específicos. Finalmente, o ADN plasmídico é recuperado através da adição de um tampão de eluição ou água estéril, sendo recolhido num tubo limpo. O produto final é um plasmídeo altamente puro e concentrado, pronto para ser utilizado em análises posteriores, como digestões com enzimas de restrição, sequenciação, clonagem, expressão de proteínas ou ensaios funcionais.

No final da realização destes subprocessos, o trabalhador já tem o seu plasmídeo de interesse para realizar um ensaio celular, sendo este inserido em linhas celulares.

3.2.1.4 Expressão heteróloga

Por fim, o último processo da linha de biotecnologia marinha, diz respeito à expressão heteróloga, que contém os seguintes subprocessos, Figura 59:

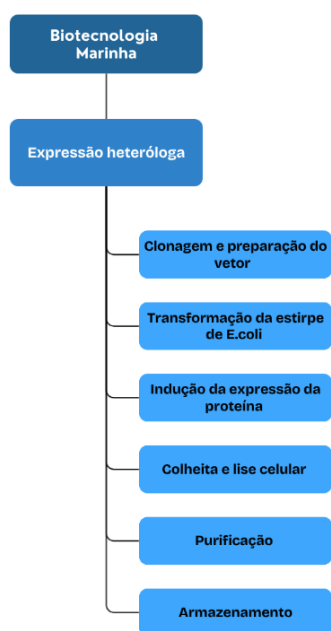


Figura 59 - Subprocessos do processo- Expressão heteróloga

A expressão heteróloga em *Escherichia coli* é um procedimento amplamente utilizado no CIIMAR para a produção de proteínas recombinantes de interesse científico e biotecnológico, dado que esta bactéria apresenta características favoráveis como, rápido crescimento, baixo custo de cultivo e protocolos bem estabelecidos de manipulação genética.

1. Clonagem e preparação do vetor

O processo inicia-se com a preparação do vetor de expressão, no qual o gene de interesse é inserido. Este gene pode ser amplificado por PCR e posteriormente clonado em plasmídeos específicos que possuem promotores fortes e regiões de seleção, geralmente marcadores de resistência a antibióticos. Durante esta fase, existe risco associado à utilização de equipamentos de radiação UV para a visualização de bandas de ADN, que pode expor o trabalhador a radiação nociva caso não utilize proteção adequada, nomeadamente bata, luvas e óculos com proteção UV, Figura 60. No momento em que está a decorrer este subprocesso, não deve entrar mais nenhum utilizador na sala para não fique exposto a esta radiação.

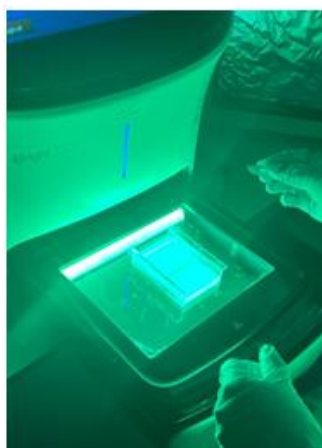


Figura 60 - Exposição a radiação UV

Após a amplificação, procede-se ao corte do fragmento de ADN de interesse, normalmente com recurso a uma lâmina de bisturi, o que acarreta o risco de cortes acidentais, Figura 61. O plasmídeo contendo o gene- alvo é então propagado em bactérias competentes e posteriormente extraído e verificado por técnicas como MiniPrep e sequenciação, assegurando que a inserção ocorreu corretamente.

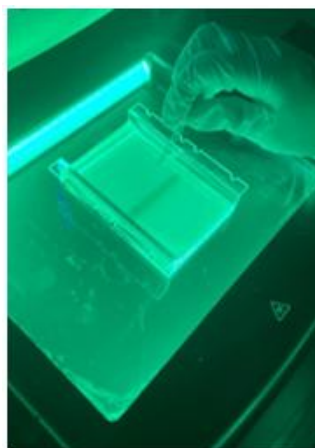


Figura 61 - Realização do corte com um bisturi

2. Transformação da estirpe de *E. coli*

Seguidamente, procede-se à transformação da estirpe de *E. coli* escolhida como hospedeira. O plasmídeo contendo o gene é introduzido nas bactérias, habitualmente por choque térmico ou eletroporação. Após a transformação, as células são recuperadas em meio líquido e plaqueadas em meios seletivos contendo antibiótico. Esta etapa de plaqueamento é geralmente realizada sob chama do bico de bunsen, que garante condições assépticas, mas expõe o trabalhador ao risco de queimaduras ou de ignição accidental de materiais inflamáveis, Figura 62. O plaqueamento é feito sem luvas uma vez que é utilizada chama.



Figura 62 - Plaqueamento com utilização do bico de bunsen

3. Indução da expressão da proteína

As colónias positivas são posteriormente inoculadas em meio líquido e cultivadas até atingirem a fase de crescimento exponencial. Nesta fase, inicia-se a indução da expressão da proteína recombinante, que na *E. coli* é frequentemente realizada através da adição de um indutor químico que ativa o promotor do plasmídeo. Esta etapa desencadeia a produção da proteína de interesse no interior das bactérias. Durante o período de indução, são monitorizados parâmetros como densidade ótica, temperatura e tempo de incubação, de modo a otimizar a produção.

4. Colheita e lise celular

Concluída a fase de expressão, procede-se à colheita e lise celular. As bactérias são centrifugadas, formando um *pellet* celular, que é posteriormente submetido a lise por métodos físicos, como sonicação, Figura 63, ou pressão, ou por métodos químicos, como detergentes ou enzimas específicas. O objetivo desta etapa é libertar a proteína recombinante para a fração solúvel do extrato celular. Nos casos em que a proteína se encontra em corpos de inclusão insolúveis, é necessário aplicar protocolos adicionais de solubilização.

Caso o trabalhador utilize o sonicador, terá que realizar formação especializada para a utilização do mesmo, sendo esta ministrada por uma técnica responsável pelo equipamento. Para além da formação, caso o sonicador não tenha proteção contra o ruído, o trabalhador deve utilizar os protetores auditivos.



Figura 63 -Utilização do sonicador

5. Purificação

A proteína de interesse é então isolada através de processos de purificação, sendo as mais comuns as cromatografias de afinidade, nomeadamente quando o gene é clonado com etiquetas específicas. A proteína liga-se à matriz cromatográfica e é posteriormente diluída após lavagens sucessivas que removem contaminantes celulares.

Após a purificação, a proteína é submetida a análises de caracterização e qualidade. A concentração pode ser determinada por espectrofotometria, enquanto a pureza e o tamanho molecular são avaliados por eletroforese. A identidade da proteína é confirmada por técnicas como espectrometria de massas. Em muitos casos, são ainda realizados ensaios funcionais para verificar se a proteína expressa mantém a sua atividade biológica.

6. Armazenamento

Na etapa final, as colónias positivas ou os plasmídeos expressos são armazenados para conservação futura, sendo preparados em alíquotas e guardados em arcas ultrancongeladoras a -80°C , Figura 64. Este procedimento garante a preservação do material biológico, mas expõe o trabalhador a riscos associados à manipulação de ultracongeladores, como queimaduras de frio por contacto direto com superfícies metálicas geladas ou frascos congelados.



Figura 64 – Armazenamento de amostras

3.2.2 Biologia, aquacultura e qualidade da nutrição

3.2.2.1 Interações hospedeiro-patogénico

Passando para a linha de biologia, aquacultura e qualidade da nutrição, o primeiro processo a ser analisado é o de interações hospedeiro-patogénico, conforme a Figura 65:

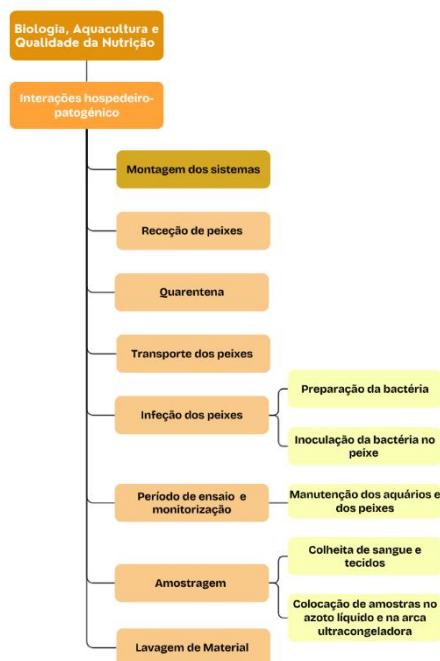


Figura 65- Subprocessos do processo - Interações hospedeiro-patogénico

O desenvolvimento de ensaios experimentais em peixes de aquacultura segue um conjunto de subprocessos organizados que permitem garantir a validade científica dos resultados, assegurando simultaneamente o bem-estar animal e o cumprimento de normas de biossegurança.

1. Montagem dos sistemas

As tarefas descritas de seguida foram executadas pelo técnico do Gabinete de Infraestruturas e Manutenção, envolvendo um conjunto de atividades manuais e técnicas associadas à instalação e adaptação de sistemas em PVC e componentes elétricos.

Num primeiro momento, procedeu-se ao corte dos tubos de PVC com um serrote, garantindo que o comprimento e o encaixe das peças correspondiam ao planeamento previamente definido, Figura 66. Na utilização deste equipamento deviam ser utilizadas luvas com proteção ao corte.



Figura 66 - Corte dos tubos de PVC com um serrote

Seguidamente, realizou-se o molde dos tubos de PVC com o auxílio de um soprador de ar quente, permitindo ajustar a curvatura e as dimensões dos tubos conforme as necessidades da instalação, Figura 67. Este equipamento deve ser utilizado com a utilização de luvas, de modo a proteger de possíveis queimaduras causadas pelo ar quente.



Figura 67 - Moldagem de tubos de PVC com um soprador

Após o molde, os tubos foram colados entre si com recurso a uma cola específica para PVC, assegurando uma união firme e estanque, Figura 68. O trabalhador deveria utilizar luvas de nitrilo durante a colocação da cola, uma vez que a cola utilizada pode causar irritações e alergias na pele.



Figura 68 - Colocação de cola em tubos de PVC

Para possibilitar a colocação dos tubos, foi necessário furar as paredes, operação que implicou subir escadas e utilizar uma furadora elétrica, Figura 69.



Figura 69 - Utilização de furadora

Posteriormente, procedeu-se à colocação dos tubos de PVC nas aberturas previamente preparadas, garantindo o alinhamento e a fixação adequada à estrutura, Figura 70.



Figura 70 - Fixação dos tubos PVC

Em determinados ensaios, as atividades incluíram também a ligação de tomadas e a instalação de quadros elétricos, Figura 71. Importa salientar que algumas das tomadas utilizadas não apresentavam resistência adequada à água e que determinados quadros elétricos não estavam devidamente montados, representando riscos acrescidos de curto-circuito ou incêndio.



Figura 71 - Colocação de tomadas e ligação a quadros elétricos

2. Receção de peixes

Após a construção do sistema fechado para os peixes, já é possível recebê-los. Os peixes são transportados até às instalações e rapidamente encaminhados para a unidade de quarentena. Este

momento inicial é crítico, uma vez que os animais chegam de contextos externos e necessitam de ser estabilizados em condições adequadas de temperatura, oxigenação e densidade populacional, reduzindo o risco de mortalidade precoce e de introdução de agentes patogénicos, Figura 72. Durante este subprocesso, é muito comum o chão ficar bastante molhado o que faz com que a probabilidade de quedas aumente. Os trabalhadores responsáveis pelo transporte de peixes até à zona de quarentena devem utilizar galochas adequadas para não escorregar no piso.

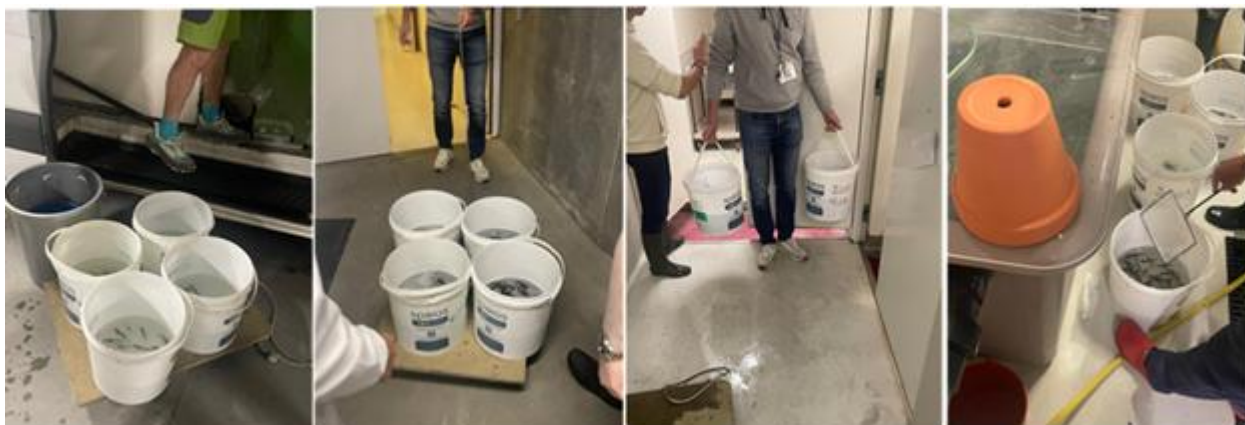


Figura 72 - Transporte dos peixes para a quarentena

3. Quarentena

Segue-se o período de quarentena, no qual os peixes permanecem em sistemas, adaptando-se gradualmente às novas condições de cultivo. Durante este subprocesso, são alimentados com dietas apropriadas e observados diariamente, com o objetivo de detetar sinais de doença, stress ou alterações comportamentais. Apenas após este período de adaptação e verificação sanitária é que os animais podem ser utilizados nos ensaios experimentais.

4. Transporte dos peixes

De seguida é realizado o transporte dos peixes para a zona experimental, que se realiza em recipientes devidamente preparados, com água oxigenada e temperatura estabilizada, garantindo que os animais cheguem em boas condições ao local de ensaio. Esta operação é realizada de forma cuidadosa, de modo a minimizar o stress e a ocorrência de ferimentos físicos. No entanto, o transporte é feito manualmente pelo trabalhador, carregando um balde com água e os peixes, Figura 73.



Figura 73 - Transporte dos peixes da quarentena para a sala do ensaio

5. Infecção dos peixes

Posteriormente, decorre o subprocesso de infecção experimental, que envolve duas etapas fundamentais: a preparação da bactéria e a sua inoculação nos peixes. A preparação da suspensão bacteriana inclui o cultivo prévio do microrganismo em meio apropriado, seguido do ajuste da concentração celular até se atingir a densidade ótica estabelecida. Esta tarefa deve ser realizada em condições asséticas, prevenindo contaminações externas e garantindo a segurança do operador. Para esta tarefa é necessário que o trabalhador aceda a todo o material de laboratório, como frascos de cultivo, placas de *petri*, tubos de *falcon*, Figura 74. O material de laboratório, excluindo o material de vidro, está situado numa sala no piso superior deste laboratório e, por isso, o trabalhador terá de subir escadas, Figura 75, e passar por uma zona de queda em altura, Figura 76.



Figura 74 - Aceder a material de laboratório



Figura 75 - Acesso ao piso superior



Figura 76 - Zona de passagem

Já tendo todo o material de laboratório necessário e os meios de crescimento, procedeu-se à autoclavagem destes materiais, conforme Figura 77. Quando retiram o material, devem utilizar as luvas resistentes ao calor, óculos de proteção e bata.



Figura 77 - Autoclavagem de material

Por fim, de forma a manter as condições de assética a preparação da bactéria é realizada na CSB ou próximo de bico de bunsen/ lamparina, Figura 78.



Figura 78 - Colocação do meio para a bactéria de interesse crescer

Após a bactéria estar preparada, procedeu-se à infeção, esta pode ser conduzida por diferentes métodos, como:

-
- Injeção intraperitoneal com agulhas finas e seringas estéreis.
 - Banho de imersão, em que os peixes permanecem em contacto com a suspensão bacteriana durante um período definido,
 - Gavagem.

Para a realização da gavagem, é necessário previamente trocar o bisel da agulha, sendo uma tarefa que reporta riscos para o trabalhador, Figura 79. Após a trocar do bisel, procedeu-se à gavagem no peixe, Figura 80. A gavagem foi e deve ser realizada com o pano para conseguir maior estabilidade com os peixes e com luvas de nitrilo.



Figura 79 - Troca do bisel da agulha



Figura 80 – Gavagem

A escolha do método depende da espécie em estudo, do patogénico a estudar e dos objetivos do ensaio.

6. Período de ensaio e monitorização

O quinto subprocesso corresponde ao período de ensaio e monitorização, durante o qual os peixes permanecem em aquários ou tanques experimentais sob condições ambientais controladas. Os parâmetros físico-químicos da água, como temperatura, oxigénio dissolvido, pH, salinidade e amónia, são monitorizados regularmente e ajustados sempre que necessário. Paralelamente, procede-se à observação comportamental dos animais, registando sinais de infeção ou alterações fisiológicas, como letargia,

diminuição da ingestão alimentar, mudanças de coloração ou dificuldades de natação. A mortalidade é registada de forma sistemática, constituindo um dos indicadores centrais da virulência bacteriana e da suscetibilidade da espécie em estudo.

7. Amostragem

Por fim, ocorre o subprocesso de amostragem, que se divide em duas tarefas principais. Na primeira, procede-se à colheita de sangue e tecidos em condições asséticas e de acordo com protocolos de bem-estar animal. O sangue é recolhido por punção venosa para análises hematológicas, bioquímicas e imunológicas, enquanto tecidos como fígado, rim, baço, brânquias ou músculo são removidos cirurgicamente e utilizados em análises histológicas, moleculares ou microbiológicas. Para a recolha do sangue é necessário que previamente seja inserida heparina na seringa, conforme Figura 81.

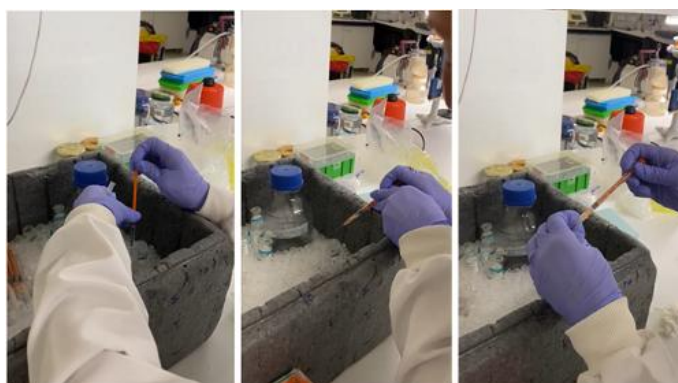


Figura 81 - Preparação da seringa com heparina

A agulha já com a heparina, é inserida no peixe e é recolhido o sangue, Figura 82:



Figura 82 - Recolha de amostras de sangue

Em paralelo também recolheram amostras de tecidos, através de tesouras e bisturis, conforme a Figura 83.



Figura 83 – Realização da recolha de tecidos

Tanto a recolha de amostras de tecidos como as de sangue, para garantir as condições asséticas, são realizadas junto a um bico de bunsen, Figura 84.



Figura 84 - Utilização de bico de bunsen durante a amostragem

A segunda tarefa consiste no armazenamento das amostras, que são acondicionadas em tubos ou frascos estéreis, devidamente rotulados, e imediatamente preservadas em azoto líquido, Figura 85 e posteriormente numa arca ultracongeladora a -80°C , Figura 86. Esta etapa assegura a integridade molecular das amostras até à sua análise em laboratório.



Figura 85 - Colocação das amostras no azoto líquido



Figura 86 - Colocação das amostras na arca ultracongeladora

Assim, estes subprocessos constituem a sequência metodológica essencial para a realização de ensaios em peixes de aquacultura, permitindo avaliar de forma rigorosa a interação entre hospedeiro e patogénico e fornecer dados relevantes para o desenvolvimento de estratégias de prevenção, diagnóstico e controlo de doenças. Este subprocesso é realizado todo nas salas de amostragem no biotério, sendo que todos os trabalhadores têm de realizar a formação de segurança do biotério, têm de estar devidamente equipados com os EPI, nomeadamente galochas, bata do biotério e luvas de nitrilo.

8. Lavagem de material

O material de preparação da bactéria e todo o material da amostragem foram lavados pelos trabalhadores de forma manual. Este laboratório também não tem máquina de lavar por isso todo o material foi lavado à mão com utilização de luvas de nitrilo, Figura 87.



Figura 87 - Lavagem de material de laboratório

3.2.2.2 Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares

Nesta linha, ainda é realizado um outro processo, nomeadamente o desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares. Na Figura 88, estão enumerados os subprocessos do mesmo.

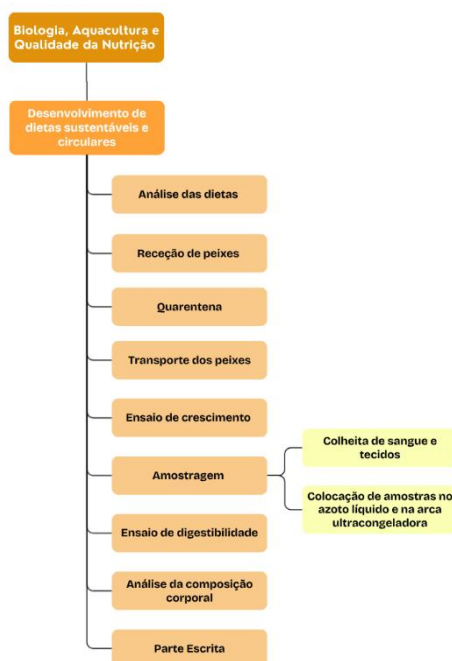


Figura 88 - Subprocessos do processo- Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares

1. Análise das dietas

Antes de iniciar qualquer ensaio experimental com peixes, é fundamental garantir a qualidade e a caracterização dos alimentos fornecidos. Assim, neste laboratório, a primeira etapa corresponde à análise das dietas experimentais. Estas análises são essenciais para determinar a composição nutricional e assegurar que os ensaios decorrem com dietas devidamente caracterizadas e ajustadas ao objetivo da investigação. São frequentemente avaliados parâmetros como o teor em crómio, utilizado em estudos de digestibilidade como marcador inerte, o fósforo, cuja concentração deve ser controlada devido ao impacto ambiental e à sua relevância metabólica, e a percentagem de gordura, associada tanto à eficiência de crescimento como ao valor nutricional do pescado. Além destes parâmetros principais, podem ainda ser analisados proteína bruta, fibra, minerais e perfil de ácidos gordos, permitindo caracterizar a dieta de forma completa e assegurar que está adequada para a espécie e fase de desenvolvimento em estudo.

2. Receção de peixes

Passando ao ensaio, propriamente dito, o primeiro subprocesso é a receção dos peixes. Quando os animais chegam às instalações, é essencial transferi-los rapidamente para a área de quarentena, de forma a reduzir o stress associado ao transporte. Durante esta fase inicial, os peixes são colocados em sistemas de cultivo controlados, com água ajustada à temperatura, salinidade e oxigénio adequados, de forma a promover a sua adaptação ao novo ambiente e a minimizar riscos de mortalidade precoce, Figura 89.



Figura 89 - Transporte de peixes para a quarentena

3. Quarentena

Segue-se a fase de quarentena, que constitui uma etapa crítica de biossegurança e bem-estar animal. Durante este período, os peixes são mantidos em tanques dedicados, separados do restante efetivo, para permitir a sua observação e monitorização. Os animais são alimentados regularmente e a qualidade da água é cuidadosamente controlada. A quarentena tem como principais objetivos a aclimação às condições do sistema de cultivo, a recuperação do stress provocado pelo transporte e a deteção precoce de eventuais sinais de doença. Apenas após o cumprimento deste período e a confirmação do bom estado sanitário é que os animais são considerados aptos para integrar os ensaios experimentais.

4. Transporte dos peixes

De seguida o transporte dos peixes para a sala de ensaio é realizado em baldes ou recipientes com água proveniente do próprio sistema de quarentena, garantindo a continuidade das condições ambientais, Figura 90. Os peixes são então transferidos cuidadosamente para os tanques/ aquários experimentais, dando início ao ensaio.



Figura 90 - Transporte para a sala de ensaios

5. Ensaio de crescimento

O ensaio de crescimento constitui a fase central dos estudos nutricionais, na qual as dietas previamente analisadas são administradas aos peixes ao longo de um período que pode variar entre dois a três meses. Durante este tempo, os peixes são mantidos em aquários equipados com resistências elétricas para controlo da temperatura da água, assegurando condições ambientais estáveis e adequadas à espécie em estudo. É essencial a monitorização contínua do nível da água nos tanques, uma vez que a ausência de água em contacto com as resistências pode originar sobreaquecimento e, consequentemente, risco de incêndio, Figura 91.



Figura 91 - Resistência elétrica num tanque de aquacultura

6. Amostragem

Terminado o período de crescimento, procede-se à amostragem biológica. Para tal, os peixes são previamente anestesiados, minimizando o stress e assegurando o cumprimento das normas de bem-estar animal. Para além disso, as seringas para a recolha do sangue são previamente colocadas com heparina, Figura 92.

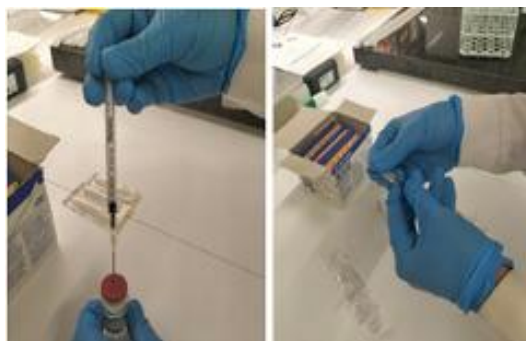


Figura 92 - Colocação de heparina nas seringas

Primeiro passo para começarem a amostragem, é trazer os peixes da sala de ensaio para a sala de amostragem, Figura 93. Esta tarefa é feita através de baldes com água.



Figura 93 - Transporte dos peixes para a sala de amostragem

Em seguida, realizou-se a colheita de sangue, destinada a análises hematológicas e bioquímicas, e procedeu-se à remoção de diferentes tecidos, como fígado, rim, músculo ou brânquias, utilizando bisturi

ou faca ou tesoura esterilizada, Figuras 94 e 95. Esta recolha é feita com a presença de bico de bunsen (Figura 96).

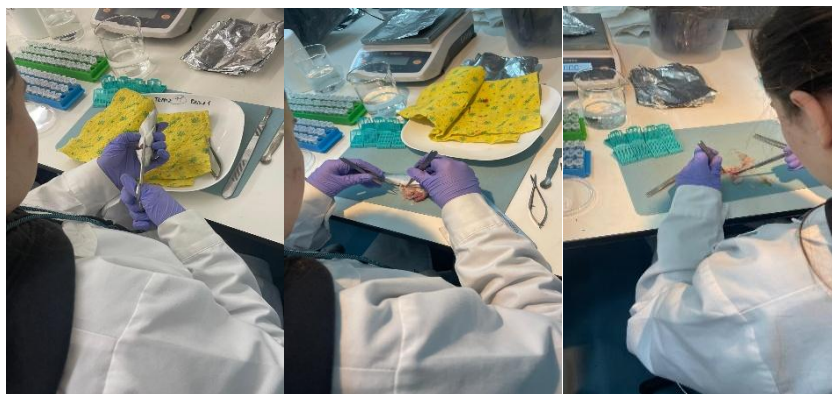


Figura 94 - Recolha de tecidos



Figura 95 - Recolha de sangue



Figura 96 - Recolha com a presença de bico de bunsen

Estes tecidos são acondicionados em tubos *ependorf* devidamente rotulados e de imediato armazenados em azoto líquido, de forma a preservar a integridade das amostras, Figura 97.



Figura 97 - Colocação das amostras em azoto líquido

Posteriormente, são transferidos para uma arca ultracongeladora a -80°C , onde permanecem até às análises laboratoriais subseqüentes, Figura 98. A arca ultracongeladora, deste grupo está localizada na sala das arcas. Nesta tarefa, o trabalhador estava a utilizar luvas criogénicas.



Figura 98 - Colocação de amostras na arca ultracongeladora

7. Ensaio de digestibilidade

Uma parte do lote experimental pode ainda ser utilizada em ensaios de digestibilidade, prolongando-se o ensaio por mais um a dois meses. Nestes estudos, os peixes são alimentados com dietas experimentais que contêm marcadores inertes, como o crómio, permitindo a posterior avaliação da digestibilidade aparente. O principal objetivo é a recolha sistemática de fezes, que são armazenadas e encaminhadas para análises laboratoriais, onde se determinam nutrientes não digeridos e a eficiência de absorção da dieta.

8. Análise da composição corporal

Finalmente, os peixes que não foram incluídos nos subprocessos anteriores, são utilizados para análises complementares. Alguns exemplares são sacrificados e armazenados inteiros na arca ultracongeladora, Figura 99.



Figura 99 - Colocar e retirar o peixe congelado

Posteriormente, são retirados, abertos com uma faca e cortados em tiras, Figura 100.



Figura 100 - Cortar pedaços de peixe

Depois, já no laboratório, são trituradas até se obter uma amostra homogênea, Figura 101. A utilização deste equipamento, devido ao ruído que produz e de acordo com o manual de instruções, o utilizador deverá utilizar sempre protetores auditivos e luvas de nitrilo. O material resultante é destinado à quantificação de compostos de interesse, como crómio e fósforo, indicadores fundamentais da qualidade nutricional das dietas e do impacto ambiental dos efluentes produzidos.



Figura 101 - Triturar e homogeneizar pedaços de peixes

9. Parte escrita

Os trabalhadores deste laboratório dispõem, no interior das instalações, de uma sala de trabalho situada no piso superior. O acesso a este espaço é efetuado através de uma escada em caracol, Figura 102. Um dos postos de trabalho encontra-se junto a uma porta que dá acesso direto ao piso inferior e que não possui

qualquer tipo de proteção física. Assim, o trabalhador que desempenha funções neste posto está permanentemente exposto aos riscos associados à existência desta porta desprotegida com acesso direto ao piso inferior, Figura 103.

Após a conclusão dos subprocessos laboratoriais, os resultados obtidos são registados e tratados informaticamente, o que implica que os trabalhadores permaneçam durante períodos prolongados nesta sala, aumentando a sua exposição aos riscos existentes neste local.



Figura 102 - Acesso ao piso superior



Figura 103 - Piso Superior

3.2.3 Alterações globais e serviços dos ecossistemas

3.2.3.1 Ensaios com lapas

Na última linha, nomeadamente alterações globais e serviços dos ecossistemas, são realizados ensaios com lapas. Na Figura 104 estão presentes os subprocessos relativos a este processo.

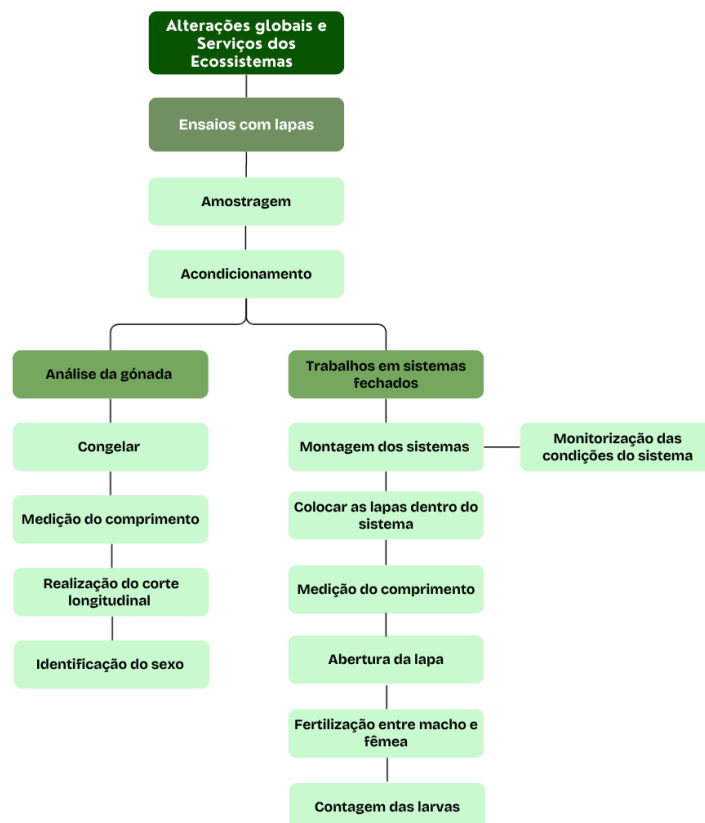


Figura 104 - Subprocessos do processo - Ensaio com lapas

1. Amostragem

A amostragem de lapas (*Patella spp.*) foi realizada em zonas rochosas da costa portuguesa, em períodos de maré baixa, de forma a garantir o acesso direto aos indivíduos e a representatividade da população amostrada. O procedimento seguiu um protocolo padronizado, assegurando a integridade morfológica dos exemplares recolhidos e a reprodutibilidade dos dados obtidos.

A recolha dos indivíduos foi efetuada com recurso a canivetes ou espátulas metálicas de lâmina fina, previamente higienizadas, que permitem o destacamento dos organismos aderidos ao substrato rochoso, Figura 105. A técnica baseou-se na remoção rápida e controlada das espécies, posicionando o canivete na base do pé, junto à interface entre o animal e a rocha. A amostragem é sempre realizada na presença de dois técnicos, que devem estar com roupa adequada, nomeadamente fatos impermeáveis e galochas próprias para este tipo de piso.



Figura 105 - Recolha das lapas

2. Acondicionamento e armazenamento

Após a recolha, os indivíduos foram acondicionados em sacos de plástico ou recipientes estéreis, devidamente identificados com a informação referente à equipa responsável, à data e ao local de amostragem. Durante o trabalho de campo, foram igualmente registados parâmetros físico-químicos da água (temperatura, salinidade e pH) e as coordenadas geográficas de cada ponto de amostragem, obtidas por GPS, de modo a contextualizar as condições ambientais de recolha. O transporte para as instalações do CIIMAR foi realizado em caixas isotérmicas, garantindo a manutenção da temperatura e da humidade. À chegada, os indivíduos foram armazenados temporariamente em arca refrigeradora até ao processamento laboratorial.

3. Medição do comprimento

A análise do estado gonadal decorreu nas instalações laboratoriais do CIIMAR e baseou-se em procedimentos de dissecação e observação morfológica, dado que as lapas não apresentam dimorfismo sexual externo. O material utilizado incluiu craveira digital, placas de petri, lupa estereoscópica e instrumentos de dissecação (bisturis, pinças e tesouras finas).

4. Realização do corte longitudinal

Inicialmente, o comprimento da concha de cada indivíduo foi determinado, registando-se os valores para posterior análise biométrica. De seguida, o animal foi posicionado com a concha voltada para baixo e a região cefálica orientada superiormente. Com o auxílio de um bisturi, procedeu-se a um corte longitudinal na zona lateral direita do manto, permitindo o acesso à cavidade interna, Figura 106. O trabalhador deve utilizar luvas de nitrilo.



Figura 106 - Realização do corte longitudinal

5. Identificação do sexo

A determinação do sexo baseou-se na coloração macroscópica da gónada: nos machos, as gónadas apresentaram tonalidades creme, laranja ou rosa-claro, enquanto nas fêmeas se observaram tons verde ou acastanhado. A avaliação do estágio de maturação gonadal foi realizada por observação direta, permitindo classificar os indivíduos em cinco categorias distintas: (I) indiferenciado/neutro; (II) em desenvolvimento inicial; (III) em desenvolvimento avançado; (IV) em maturação; e (V) pronto para a libertação dos gâmetas.

Esta abordagem metodológica permitiu caracterizar com rigor o ciclo reprodutivo das populações de *Patella spp.*, fornecendo informação relevante sobre o seu estado fisiológico, estrutura etária e estratégias adaptativas. Estes dados constituem um contributo importante para a compreensão dos padrões reprodutivos das comunidades interditais e para a avaliação do seu estado ecológico face às pressões ambientais que afetam o litoral português.

1. Montagem dos sistemas

A fase de montagem dos sistemas constitui o ponto de partida dos ensaios realizados em condições controladas. Esta etapa envolve a preparação dos tanques experimentais ou aquários fechados, onde são recriadas as condições ambientais naturais, assegurando o isolamento e a integridade do sistema. Cada unidade experimental é equipada com sistemas de aeração, controlo térmico e regulação de salinidade, bem como com sondas multiparamétricas para medição de temperatura, pH, oxigénio dissolvido e condutividade, Figura 107.



Figura 107 - Colocação das sondas multiparamétricas nos sistemas

A água do mar utilizada é previamente filtrada e esterilizada, garantindo a eliminação de partículas e microrganismos contaminantes. Todos os componentes do sistema, tubos, filtros, sensores e reservatórios, são devidamente higienizados com solução desinfetante e enxaguados com água destilada antes da montagem, prevenindo contaminações cruzadas entre ensaios.

Durante esta tarefa é necessário ter muita atenção, uma vez que pode haver contacto accidental entre água salgada e os equipamentos elétricos. Desta forma, apenas entra nesta sala de ensaio quem possuir a formação especializada do boga e também a formação dada pelo responsável desta sala. É obrigatório que os trabalhadores estejam sempre equipados com galochas adequadas.

2. Monitorização das condições do sistema

Uma vez montados, os sistemas são sujeitos à verificação e calibração de todos os equipamentos de monitorização. Os parâmetros físico-químicos da água são registados periodicamente, assegurando a estabilidade das condições experimentais ao longo do ensaio. A monitorização contínua inclui a leitura automática e o registo digital dos parâmetros ambientais (temperatura, pH, salinidade, oxigénio dissolvido e luminosidade). Estes dados permitem ajustar, em tempo real, o funcionamento dos controladores de temperatura e de fluxo, evitando variações abruptas que possam comprometer a sobrevivência ou a resposta fisiológica dos organismos. Este controlo rigoroso é essencial em sistemas fechados, uma vez que pequenas flutuações ambientais podem afetar significativamente a taxa de fecundação, o desenvolvimento larvar e a viabilidade das gónadas.

3. Colocação das lapas dentro do sistema

Após a estabilização das condições experimentais, procedeu-se à introdução das lapas selecionadas nos sistemas fechados. Os indivíduos são transferidos cuidadosamente com recurso a pinças ou espátulas de ponta larga, evitando lesões no pé ou nos tecidos moles. A densidade populacional é previamente determinada para cada ensaio, assegurando que o número de indivíduos por tanque não compromete a oxigenação nem a qualidade da água. Esta etapa é realizada de forma rápida e em ambiente húmido, reduzindo o stress dos organismos.

4. Medição do comprimento

Antes da manipulação para dissecação, é efetuada a medição do comprimento da concha de cada indivíduo. Este parâmetro biométrico é registado para posterior correlação com o estágio de maturação gonadal e com os resultados obtidos nos ensaios *in vitro*. A medição é realizada com o indivíduo imóvel sobre uma superfície plana, garantindo consistência entre amostras. Os dados são introduzidos numa base eletrónica, associando o número de identificação individual às respetivas medições morfométricas.

5. Abertura da lapa

A dissecação dos indivíduos é conduzida em bancada de laboratório sob lupa estereoscópica, recorrendo a material de precisão (bisturis, pinças e tesouras finas). O corte é efetuado na zona lateral direita do manto, expondo a cavidade interna e permitindo o acesso direto às gónadas. Este procedimento exige especial cuidado, dado que uma pressão excessiva pode provocar a rutura da gónada e a perda de material biológico. Após a abertura, as gónadas são retiradas com pinças e transferidas para placas de *petri* contendo água do mar filtrada e esterilizada, onde permanecem até à fertilização.

6. Fertilização entre macho e fêmea

A fertilização *in vitro* é realizada a partir da combinação controlada de gâmetas masculinos e femininos, previamente identificados com base na coloração e textura das gónadas. Os ovócitos e espermatozoides são extraídos com micropipetas e misturados em proporções definidas experimentalmente. O processo ocorre em condições estéreis e a temperatura é mantida próxima da ambiental (geralmente entre 18 e 20 °C). O meio de fertilização consiste em água do mar filtrada e esterilizada, com salinidade ajustada. Durante a mistura, a suspensão é suavemente agitada para promover o contacto entre os gâmetas, evitando danos mecânicos. Após um período de incubação controlado, as amostras são observadas ao microscópio para confirmar a ocorrência da fecundação.

7. Contagem das larvas

As larvas resultantes da fertilização são observadas e contadas utilizando microscopia ótica, Figura 108. A contagem é realizada em placas graduadas, com a utilização de formaldeído, permitindo determinar a taxa de fertilização e de eclosão. Este parâmetro é um indicador da qualidade dos gâmetas e da eficiência do processo reprodutivo *in vitro*. A quantificação é acompanhada de registos fotográficos e, quando aplicável, de medições do tamanho larvar, utilizando *software* de análise de imagem. As amostras podem ser posteriormente fixadas em formol diluído ou congeladas para análises moleculares, conforme o objetivo experimental.

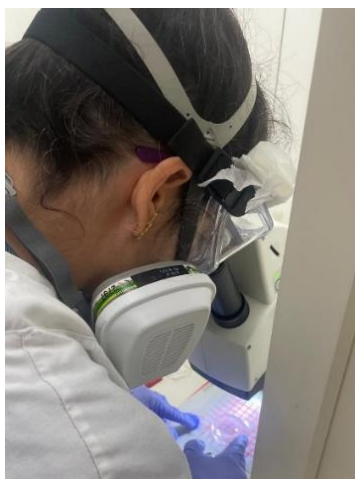


Figura 108 - Utilização de formaldeído

3.2.3.2 Crescimento de biomassa de algas

Por fim, mas ainda na última linha de investigação, são realizados ensaios com algas, nomeadamente o acompanhamento do crescimento de biomassa. Na Figura 109 estão presentes os subprocessos relativos a este processo.

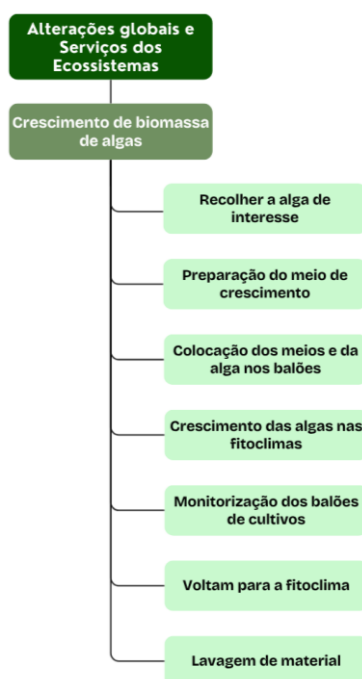


Figura 109 - Subprocessos do processo - Crescimento de biomassa de algas

1. Seleção e recolha da alga de interesse

O processo inicia-se com a seleção da espécie de alga a ser utilizada no ensaio. No laboratório de *Coastal Biodiversity*, existe um conjunto de estirpes previamente armazenadas, o que frequentemente dispensa a necessidade de nova recolha em campo. Neste caso, foi utilizada uma amostra previamente conservada

em arca refrigeradora no próprio laboratório, garantindo a continuidade das condições de viabilidade e pureza da cultura.

2. Preparação do meio de crescimento

Em paralelo, é realizada a preparação dos meios de crescimento em água salgada, bem como os balões de cultivo necessários. Todo o material é submetido a autoclavagem, assegurando a esterilidade dos recipientes e soluções, Figura 110.



Figura 110 - Autoclavagem de material

Durante a manipulação do equipamento de autoclave, a trabalhadora utilizou bata de laboratório, óculos de proteção química e luvas resistentes ao calor, cumprindo as normas de segurança aplicáveis. Após a esterilização, o material é cuidadosamente transportado para o laboratório, evitando contaminações e choques térmicos.

3. Colocação dos meios e da alga nos balões

Enquanto o material é autoclavado, procede-se à preparação dos meios nutritivos a adicionar aos frascos de água salgada esterilizados. Todo o procedimento é realizado no interior da CSB, garantindo condições assépticas. Dada a dimensão de alguns balões de cultivo, é necessário abrir completamente o vidro frontal da CSB para os introduzir, Figura 111. Após a adição dos meios aos balões, a alga de interesse é inoculada.



Figura 111 - Abertura da CSB e colocação de material dentro

4. Inoculação da alga nos balões de cultivo

Concluída a inoculação, os balões de cultivo são colocados num carro de transporte e transferidos para as fitoclimas localizadas no biotério, Figura 112. Por se tratar de recipientes de vidro, o transporte requer especial cuidado, evitando choques e embates entre balões.



Figura 112 - Transporte dos balões de cultivo até ao biotério

O acesso ao biotério é restrito a trabalhadores previamente autorizados e com formação específica em segurança daquele espaço. Nas fitoclimas, os balões são dispostos individualmente e instala-se o sistema de circulação, ligando as provetas de vidro à bomba de água, conforme o protocolo experimental, Figura 113.

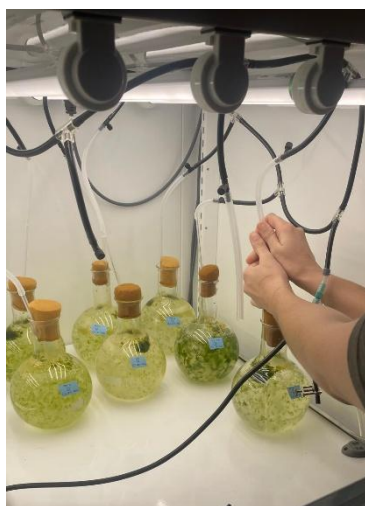


Figura 113 - Colocação do sistema de circulação de água nos balões de cultivo

5. Monitorização e renovação dos meios de cultivo

Durante o período de crescimento, é realizada a monitorização periódica dos balões de cultivo, com especial atenção à transparência do meio, densidade celular e coloração das culturas. Quando necessário, procede-se à renovação dos meios nutritivos.

Para tal, os balões são cuidadosamente removidos das fitoclimas, colocados num carrinho de transporte e levados de volta ao laboratório, Figura 114.



Figura 114 - Remoção dos balões de cultivo e transporte até ao laboratório

Na bancada, o conteúdo de cada balão é vertido para um recipiente (por exemplo, uma saladeira) e as algas são lavadas com água destilada para remover resíduos acumulados, Figura 115.



Figura 115 - Verter o conteúdo dos balões

De seguida, a água é completamente drenada e as algas são transferidas para novos balões de cultivo com auxílio de pinças esterilizadas, Figura 116. Após a reposição dos meios e a verificação de esterilidade, os balões são novamente transportados para as fitoclimas, onde permanecem até ao fim do ensaio.



Figura 116 - Transferir conteúdo para o balão de cultivo novo

6. Limpeza do material de vidro

Após a conclusão do ensaio, todo o material de vidro utilizado, incluindo balões, provetas e utensílios de manipulação, é lavado manualmente na banca do laboratório, Figura 117. O processo de limpeza segue as boas práticas laboratoriais, utilizando detergente neutro, água destilada e escovas adequadas, assegurando a total remoção de resíduos biológicos e químicos. Posteriormente, o material é colocado a escorrer e armazenado em local apropriado para futuras utilizações.



Figura 117 - Limpeza de material

3.3 Identificação de perigos

Com base nos processos e subprocessos, foram identificados os perigos durante o desempenho das diferentes atividades. Num centro de investigação, os materiais e equipamentos utilizados nas diferentes áreas (laboratoriais, campo ou administrativas) representam potenciais fontes de risco. Assim, consideraram-se os seguintes fatores:

- Nível de conhecimento dos trabalhadores sobre os processos e atividades específicas da sua área;
- Estado geral dos equipamentos laboratoriais, informáticos ou de campo;
- Propriedades dos produtos químicos, amostras ou materiais manuseados;
- Fontes de ruído, vibração, poeiras, radiações, movimentos mecânicos, entre outros;
- Condições operacionais dos equipamentos;
- Estado de conservação dos espaços de trabalho.

Na execução das tarefas, foram igualmente analisadas as condições em que cada atividade era realizada, a forma como era conduzida, a sua duração e o respetivo tempo de exposição, os materiais e equipamentos envolvidos, o esforço físico requerido e, adicionalmente, a existência de medidas preventivas implementadas, incluindo Equipamentos de Proteção Coletiva (EPC) e EPI.

Assim, a identificação de perigos foi realizada de forma qualitativa, através de observação direta das atividades realizadas nos laboratórios, tendo em conta os fatores descritos anteriormente. Na Tabela 1, mostra exemplos de perigos identificados. Após a tabela, estão descritivos os perigos identificados em cada processo.

3.3.1 Biotecnologia Marinha

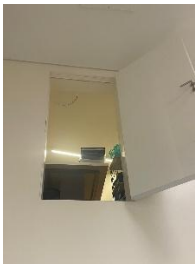
3.3.1.1 Isolamento de compostos

O isolamento de compostos em biotecnologia marinha contempla diversos perigos laborais, como o risco de queimaduras devido à manipulação de autoclaves na esterilização de materiais, cortes originados pela quebra de frascos de vidro durante a transferência de meios líquidos ou sólidos, bem como lesões por perfuração ao se utilizar pipetas e lâminas em operações de micromanipulação.

A extração de DNA apresenta os perigos adicionais de queimaduras graves por contacto direto com azoto líquido, além do risco de queimaduras térmicas ao aquecer frascos de vidro. O acesso a materiais de vidro, muitas vezes armazenados em locais elevados, representa também risco de queda ou acidentes por escadas e bancadas. O transporte de frascos e nalgenes apresenta perigo de quebra e cortes durante o crescimento em biotério. Na liofilização inicial, existe perigo de avarias por encaixe incorreto das peças do liofilizador, além de riscos relacionados com frascos submetidos a baixas temperaturas e pressão. Por fim, o armazenamento de produtos inflamáveis e a utilização de rota vapores expõe o trabalhador ao risco de incêndio ou inalação de vapores tóxicos.

A limpeza do material, nomeadamente de vidros borossilicato como gobelés, *erlenmeyer* e frascos laboratoriais, envolve perigo adicional de cortes e acidentes por quebra desses materiais.

Tabela 1 - Exemplo da matriz de perigos identificados

Processo	Subprocesso	Figura	Tarefa	Perigo	Evento desencadeador	Observações	Medidas de Prevenção implementadas
Isolamento de compostos	Lavagem de material		Lavagem de material de vidro	Material de vidro borosilicato (gobelés, frascos, erlenmeyer)	O material de vidro escorrega e parte na mão do utilizador.	Trabalhadores afetos: 1; Tempo de exposição: 1h; EPI utilizado: luvas de nitrilo	Utilização de luvas de nitrilo
Ensaio microbiológicos	Preparação de meios		Autoclavagem de material	Autoclave	Retirar o material da autoclave	Trabalhadores afetos: 1; Tempo de exposição: 30 minutos; EPI utilizado: luvas resistentes ao calor, óculos e bata.	O trabalhador só pode utilizar a autoclave quando tiver formação adequada; Durante a utilização, deve ser seguida a instrução de segurança. Quando termina o ciclo, o trabalhador deve sempre utilizar luvas resistentes ao calor, viseira ou óculos de proteção e bata.
Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares	Parte Escrita		Escrever no computador	Porta	Ida para o lugar de mesa, passa pela porta sem proteção	Trabalhadores afetos: 1; Tempo de exposição: 1 minuto; EPI utilizado: -	Sem medidas de prevenção implementadas.

3.3.1.2 Ensaios biológicos

A preparação das linhas celulares exige cuidados redobrados, devido à retirada de células armazenadas em azoto líquido ou arca ultracongeladora, implicando risco elevado de queimaduras por frio extremo. A exposição das linhas celulares ao composto implica uso de pipetas de vidro, com potencial para acidentes por perfuração.

A preparação do material para isolamento de microrganismos apresenta perigo ao aceder a materiais em altura através do uso de escadas e bancos, enquanto a preparação de amostras envolve risco de queimadura ao verter líquidos quentes em placas de vidro ou Petri.

Durante a incubação e o crescimento sob condições controladas, está presente o risco de quebrar frascos de vidro durante o transporte, além do perigo do piso molhado. Na repicagem e purificação de isolados, o uso de lâminas de bisturi representa risco de corte. A criopreservação-conservação das estirpes isoladas requer manipulação da arca ultracongeladora, implicando possibilidade de queimaduras intensas por frio.

3.3.1.3 Ensaios microbiológicos

No preparo do plasmídeo, há riscos de queimadura ao aquecer frascos de vidro com meio agar. A realização de eletroforese e corte de bandas de DNA com bisturi envolvem perigo de acidentes por instrumentos cortantes e exposição à radiação UV, aumentando o risco de lesões.

Na preparação e autoclavagem de meios, a utilização intensiva da autoclave representa risco de queimaduras. O plaqueamento com lamparina apresenta perigos de fogo aberto, e, durante a incorporação do plasmídeo nas bactérias, há riscos ao manipular eppendorfs retirados da arca ultracongeladora. O uso do agitador, antibióticos e o espalhamento da suspensão celular expõem o trabalhador ao perigo adicional de manipulação repetida de lamparinas.

O screening de colónias e a manipulação de bactérias expõem à utilização de tubos falcon e lamparinas, oferecendo riscos de corte e queimadura.

3.3.1.4 Expressão heteróloga

Os perigos concentram-se na exposição à radiação UV durante a amplificação e visualização de DNA, bem como na operação de bisturi para corte de fragmentos. O plaqueamento apresenta riscos de utilização de bico de bunsen e possíveis acidentes térmicos. Na colheita e lise celular, o uso do sonicador agrega o risco de acidentes por vibração intensa dos equipamentos. O armazenamento final das amostras na arca ultracongeladora traz novamente a ameaça de queimaduras por frio.

3.3.2 Biologia, Aquacultura e Qualidade da Nutrição

3.3.2.1 Interações hospedeiro-patogénico

A montagem de sistemas envolve perigos na manipulação de tubos de PVC com serrotes, sopradores de ar quente, cola e furadora, elevando o risco de lesões cortantes, queimaduras e acidentes com ferramentas elétricas. A fixação em altura mediante escada também representa perigo de queda. A ligação de tomadas elétricas expõe a riscos elétricos sérios. Durante a receção e transporte de peixes, pisos molhados aumentam o risco de quedas, especialmente ao manipular animais.

A preparação experimental com bactérias significa riscos de queda ao aceder a materiais em altura e perigos de queimaduras com autoclave e bico de bunsen. Na inoculação experimental nos peixes, há riscos reais de acidentes com agulhas e instrumentos cortantes. A amostragem envolve a preparação de seringas com heparina, bisturis, tesouras e agulhas, que trazem consigo lesões cortantes e perfurantes. O uso frequente da arca ultracongeladora expõe ao risco térmico por frio intenso.

3.3.2.2 Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares

Os perigos incluem o risco de quedas e acidentes em pisos molhados durante a manipulação dos peixes, perigo elétrico na monitorização do nível de água e potenciais acidentes ao utilizar seringas, bisturis, tesouras e outros objetos cortantes. O trabalho com amostras e peixes congelados também expõe a queimaduras por frio e cortes por facas e tesouras, além do risco de acidentes com a trituradora.

Durante os processos de escrita, como subida de escadas, há perigos relacionados com quedas de altura. Na realização de tarefas no computador, existe um perigo residual de acidente por queda devido ao ambiente laboratorial.

3.3.3 Alterações globais e Serviços dos Ecossistemas

3.3.3.1 Ensaaios com lapas

Há perigos associados à recolha em rochas e cortes com canivetes, à utilização de bisturi em dissecações e perigo elétrico durante a montagem de sistemas com sondas multiparamétricas. Na contagem de larvas, o uso de formaldeído implica riscos tóxicos importantes.

Cada subprocesso, deste modo, apresenta perigos específicos que exigem o cumprimento rigoroso das normas de biossegurança e o uso de equipamentos de proteção individual adequados, para prevenir acidentes e garantir a integridade dos trabalhadores no contexto laboratorial de biotecnologia marinha.

3.3.3.2 Crescimento de biomassa de algas

No crescimento da biomassa de algas em ambiente laboratorial, os perigos concentram-se sobretudo no manuseio de materiais e equipamentos associados às diversas etapas do processo. Desde o início, o contacto com superfícies a altas temperaturas durante o manuseio de frascos provenientes da autoclave representa um risco significativo de queimaduras. A manipulação de vidro, tanto na abertura da câmara de segurança biológica como na inserção de provetas nos balões de cultivo, expõe o trabalhador ao perigo de cortes provocados por vidro partido e superfícies cortantes.

Ao longo do transporte e posicionamento dos balões de cultivo de vidro, pode ocorrer embate entre recipientes, originando também cortes e ferimentos. O processo de montagem dos sistemas de circulação de água, com encaixes e ligações entre balões e bombas, apresenta perigos adicionais devido ao contacto com superfícies cortantes. Em ambientes com piso molhado, como o biotério, aumenta o risco de quedas ao mesmo nível. Por fim, há o risco de eletrocussão, especialmente em situações onde ocorre contacto entre água e equipamentos elétricos, como bombas e tomadas. Na etapa de limpeza, o manuseio de material de vidro partido continua a ser fonte de perigo para cortes nos membros superiores, exigindo precaução constante durante todo o processo.

3.4 Identificação de riscos

Tendo em consideração a caracterização dos processos e subprocessos, os perigos identificados e os respetivos eventos desencadeadores, procedeu-se à identificação dos riscos de acidente para os trabalhadores. Subsequentemente, foram determinadas as consequências associadas a cada risco. A Tabela 2 apresenta um exemplo da matriz de risco elaborada, na qual se evidencia a organização da informação por colunas, de acordo com os requisitos definidos: perigos, eventos desencadeadores, tarefa, observações (incluindo número de trabalhadores envolvidos, tempo de exposição e EPI utilizados), risco de acidente, consequências e medidas de prevenção existentes. Esta estrutura permitiu consolidar os elementos necessários para a realização da análise de risco.

3.4.1 Biotecnologia Marinha

3.4.1.1 Isolamento de compostos

Durante o isolamento e identificação de microrganismos, os trabalhadores enfrentam o risco de contacto com superfícies a altas temperaturas, nomeadamente na utilização de autoclaves, resultando em queimaduras nas mãos. A transferência de meios entre frascos de vidro expõe ao risco de contacto com superfícies cortantes, levando a cortes. Já nas tarefas de micromanipulação, como a separação de células, o uso de pipetas e lâminas pode causar pequenos cortes nas mãos. A colocação de amostras em azoto líquido implica o perigo de contacto com superfícies muito frias, causando queimaduras de frio. O acesso a material em altura apresenta riscos de queda de objetos ou do próprio trabalhador, com consequências de cortes, entorses ou fraturas.

3.4.1.2 Ensaaios biológicos

Na preparação das linhas celulares, o manuseio de azoto líquido e arcas ultracongeladoras pode provocar queimaduras de frio. Durante a exposição das linhas celulares ao composto ou extrato, há riscos de cortes pequenos devido ao contacto com pipetas de vidro. A preparação de amostras e o transporte de frascos de vidro com bactérias podem causar queimaduras ou cortes nos membros superiores. O piso molhado nas áreas de trabalho eleva os riscos de quedas ao mesmo nível, que podem culminar em hematomas ou entorses.

3.4.1.3 Ensaaios microbiológicos

A preparação do plasmídeo envolve riscos de queimaduras ao aquecer frascos de vidro com meio agar. A realização da eletroforese e cortes de bandas de DNA com bisturi expõe o trabalhador a cortes e à radiação UV, podendo causar queimaduras. O plaqueamento e manipulação de lamparinas oferecem perigos de queimaduras. O manuseio repetido de arca ultracongeladora, lamparinas e estruturas de agitação amplifica os riscos de queimaduras de frio e cortes.

3.4.1.4 Expressão heteróloga

Nesta linha, os principais riscos incluem exposição à radiação UV, contacto com superfícies cortantes como bisturis, contacto com a chama de bico de bunsen (risco de queimaduras) e fadiga auditiva criada pelo uso do sonificador. O armazenamento em arca ultracongeladora persiste como perigo de queimaduras de frio.

Tabela 2 - Exemplo de matriz de risco

Processo	Subprocesso	Figura	Tarefa	Perigo	Evento desencadeador	Observações	Risco de acidente	Consequências	Medidas de Prevenção implementadas
Isolamento de compostos	Lavagem de material		Lavagem de material de vidro	Material de vidro borosilicato (gobelés, frascos, erlenmeyer)	O material de vidro escorrega e parte na mão do utilizador.	Trabalhadores afetos: 1; Tempo de exposição: 1h; EPI utilizado: luvas de nitrilo	Contacto com material danificado ou partido durante a lavagem	Cortes nas mãos do trabalhador	Utilização de luvas de nitrilo
Ensaaios microbiológicos	Preparação de meios		Autoclavage m de material	Autoclave	Retirar o material da autoclave	Trabalhadores afetos: 1; Tempo de exposição: 30 minutos; EPI utilizado: luvas resistentes ao calor, óculos e bata.	Contacto com superfícies a altas temperaturas	Queimaduras nas mãos	O trabalhador só pode utilizar a autoclave quando tiver formação adequada; Durante a utilização, deve ser seguida a instrução de segurança. Quando termina o ciclo, o trabalhador deve sempre utilizar luvas resistentes ao calor, viseira ou óculos de proteção e bata.

Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares	Parte Escrita		Escrever no computador	Porta	Ida para o lugar de mesa, passa pela porta sem proteção	Trabalhadores afetos: 1; Tempo de exposição: 1 minuto; EPI utilizado: -	Queda em altura do trabalhador	Fraturas de vários membros	Sem medidas de prevenção implementadas.
--	---------------	---	------------------------	-------	---	---	--------------------------------	----------------------------	---

3.4.2 Biologia, Aquacultura e Qualidade da Nutrição

3.4.2.1 Interações hospedeiro-patogénico

A montagem de sistemas com tubos de PVC e instrumentos como serrotes, sopradores de ar, cola e furadora traz riscos de cortes, queimaduras e perfurações nos membros superiores. A manipulação de instalações elétricas com possíveis contactos de água salgada pode resultar em eletrocussão. O transporte e receção de peixes frequentemente ocorrem em pisos molhados, aumentando a probabilidade de entorses e hematomas. As etapas de amostragem, envolvendo agulhas, bisturi, tesoura e arca ultracongeladora, concentram riscos de cortes, perfurações e queimaduras de frio.

3.4.2.2 Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares

Neste processo, a manipulação de peixes em pisos molhados causa risco permanente de quedas e entorses. Na monitorização do nível de água há perigo de incêndio e de queimaduras devido à resistência elétrica. Na amostragem de sangue e tecidos com seringas e agulhas existe risco de perfurações, enquanto recortes com bisturi e tesoura originam cortes leves. A manipulação de azoto líquido e arca ultracongeladora mantêm o perigo de queimaduras de frio. O uso de trituradora pode provocar cortes nos membros superiores, e tarefas administrativas ou de escrita, sendo realizadas num piso superior, apresentam o risco de queda em altura.

3.4.3 Alterações globais e Serviços dos Ecossistemas

3.4.3.1 Ensaios com lapas

A recolha em rochas e a utilização de canivetes para a amostragem de lapas elevam o risco de quedas e cortes superficiais. Na dissecação com bisturi há o perigo de cortes nos membros superiores. O trabalho com tomadas elétricas e contagem de larvas expõe o trabalhador à possibilidade de eletrocussão e queimaduras químicas por formaldeído.

3.4.3.2 Crescimento de biomassa de algas

Os riscos presentes no processo de crescimento de biomassa de algas são diversos e acompanham todas as etapas do trabalho laboratorial. Desde o início do processo, existe o risco de contacto com superfícies a altas temperaturas, especialmente na manipulação de frascos de vidro provenientes da autoclave, que podem provocar queimaduras. As operações que envolvem o manuseio e transporte de balões de cultivo, provetas e outros recipientes de vidro acarretam o perigo de cortes devido ao contacto com vidro partido ou superfícies cortantes, sobretudo na abertura de CSB e durante a montagem dos sistemas de circulação de água.

Durante o posicionamento dos balões de cultivo nas fitoclimas, o embate entre recipientes de vidro pode gerar cortes adicionais, enquanto as tarefas realizadas em pisos molhados aumentam a probabilidade de quedas ao mesmo nível, com consequências para a integridade física dos trabalhadores. O risco de eletrocussão está presente na montagem das ligações entre bombas de circulação de água e balões de cultivo, bem como quando há contacto accidental entre água e equipamentos elétricos, como tomadas e bombas. Por fim, mesmo na fase de limpeza, subsiste o perigo de contacto com material de vidro partido, originando cortes nos membros superiores. Estes riscos exigem atenção constante e a implementação de práticas de trabalho seguro ao longo de todo o processo.

Em todas estas linhas de investigação, reforça-se que os riscos aqui identificados limitam-se aos de acidentes com impacto direto na integridade física do colaborador. A implementação consistente de medidas de prevenção, formação e equipamentos de proteção é imprescindível para reduzir a frequência e gravidade das consequências descritas, promovendo ambientes laboratoriais mais seguros.

A informação recolhida na íntegra foi organizada numa matriz de risco, que possibilita uma análise estruturada e comparativa dos perigos, riscos e respetivas consequências. Essa sistematização está apresentada em formato de tabela, conforme consta no Apêndice 1 – Matriz de Avaliação.

3.5 Análise e avaliação de riscos

De modo a atingir os objetivos da presente dissertação, tornou-se essencial a adoção de uma metodologia sistemática de avaliação e gestão de riscos, adequada à realidade e às exigências de um centro de investigação. Entre a vasta gama de métodos de avaliação de riscos disponíveis, a seleção foi guiada pela necessidade de assegurar robustez, comparabilidade, transparência e objetividade no apoio à decisão. A opção por utilizar uma matriz de risco, articulada com a referência internacional ISO 31000:2018, prendeu-se com a sua reconhecida eficácia para padronizar a avaliação, facilitar a priorização de intervenções e reduzir o grau de subjetividade dos resultados, elementos críticos no contexto laboratorial e científico.

Neste contexto, foram selecionados quatro métodos semi-quantitativos de avaliação de risco: William T. Fine (WTF), Norma Técnica de Prevenção 330 (NTP 330), Método de Índice de Avaliação de Risco (MIAR) e *Hazard Identification, Risk Assessment and Determining Control (HIRADC)*. Estes métodos, apesar das suas diferenças conceptuais e de aplicação, têm em comum a capacidade de permitir que sejam atribuídos valores a diferentes parâmetros de risco, conduzindo ao cálculo de um índice numérico que viabiliza a hierarquização dos riscos por criticidade.

O método WTF combina fatores como consequência, frequência e probabilidade numa fórmula que resulta num índice de risco objetivo e orienta a escolha das prioridades de mitigação. O método NTP 330, frequentemente aplicado de modo qualitativo ou semi-quantitativo em contextos laborais, neste trabalho utilizou-se a atribuição de escalas numéricas à probabilidade e à gravidade dos eventos, tornando a classificação mais rigorosa. O MIAR permite quantificar o risco, integrando os aspetos de gravidade, extensão do impacto, frequência e desempenho dos sistemas de prevenção e controlo. Possibilita ainda a obtenção de dois níveis, Nível de Risco (NR) e Nível de Priorização (NP). O método HIRADC tradicionalmente de índole qualitativa, foi aplicado no seu formato base, sem adaptações, permitindo a valoração semi-quantitativa dos riscos para garantir comparabilidade com os restantes métodos.

A conjugação destes quatro métodos, em alinhamento com as linhas orientadoras da ISO 31000:2018, fundamenta uma avaliação mais abrangente, estruturada e fiável dos perigos e riscos ocupacionais existentes no laboratório. Esta estratégia reforça a capacidade de reconhecer situações críticas, garantir consistência nos critérios de priorização de medidas de controlo e, sobretudo, sustentar uma cultura organizacional realmente comprometida com a redução sustentada do risco para os trabalhadores da investigação científica.

4 RESULTADOS

4.1 Resultados – Processos, subprocessos e tarefas

A caracterização realizada abrangeu as três linhas de investigação do CIIMAR (Biotecnologia Marinha; Biologia, Aquacultura e Qualidade da Nutrição; Alterações Globais e Serviços dos Ecossistemas), integrando um total de 9 processos, 73 subprocessos e 89 tarefas, nas quais foram identificados 101 riscos associados, conforme apresentado na Figura 118.

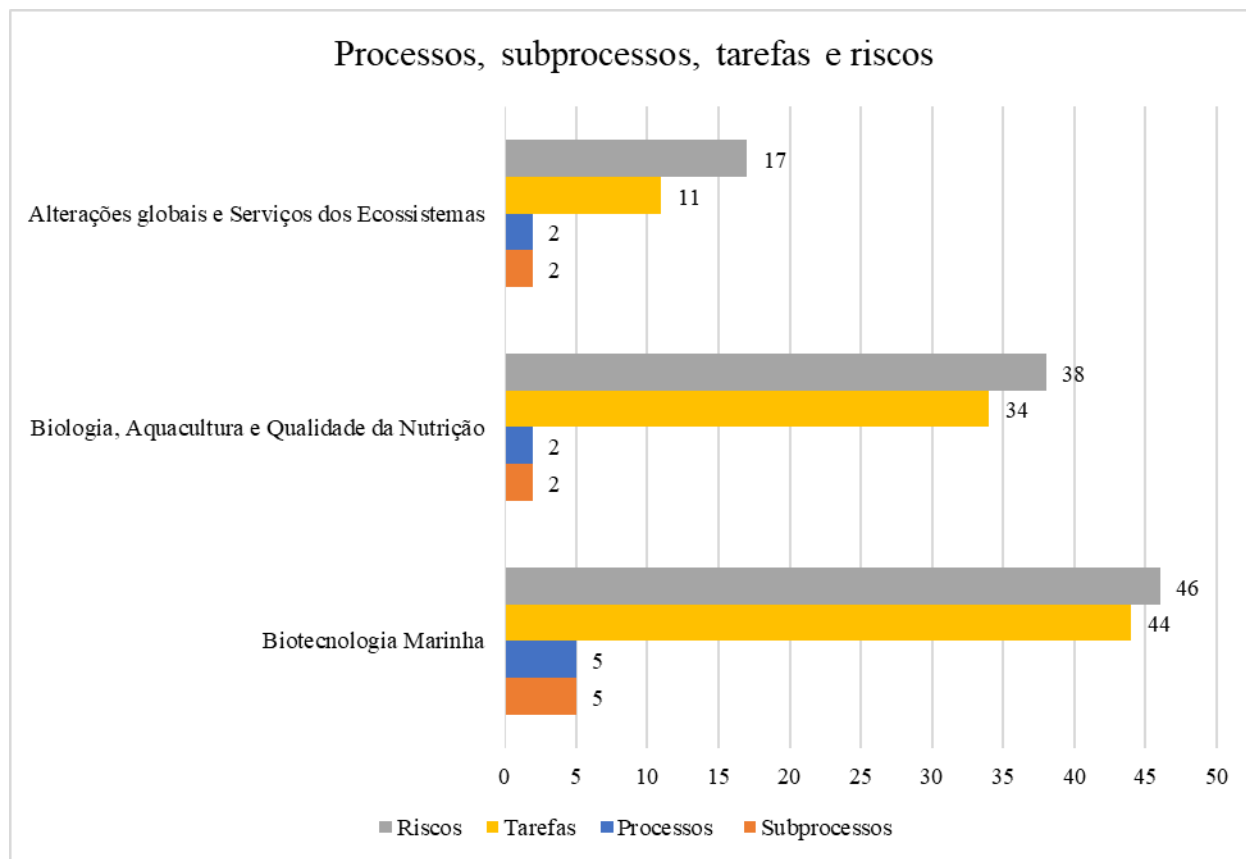


Figura 118 - Processos, subprocessos, tarefas e riscos

Na Tabela 3 está apresentada a forma como esta informação foi organizada na matriz de análise e avaliação dos riscos:

Tabela 3 - Exemplo de organização de Processo, subprocesso e tarefa de acordo com a matriz de avaliação dor isco

Processos		Subprocessos		Tarefa	
Isolamento de compostos		Inoculação em recipientes de cultivo		Aceder a material de vidro em altura	
Interações hospedeiro-patogénico		Amostragem - Colheita de sangue e tecidos		Amostragem em peixes	
Crescimento de biomassa de algas		Preparação do meio de crescimento		Autoclavagem de material	

4.2 Resultados – Perigos identificados

A caracterização dos processos, subprocessos e tarefas permitiu identificar um total de 40 perigos distintos, distribuídos por 99 ocorrências, agrupados em 13 categorias de perigos (Figura 119). Esta categorização resultou da análise sistemática das operações desenvolvidas nos laboratórios, tendo sido considerada a natureza intrínseca de cada agente perigoso, o contexto operacional onde ocorre e a forma como interage com o trabalhador. A identificação dos perigos, tal como preconizado pela ISO 31000:2018, constitui uma etapa independente dos métodos de avaliação de risco e representa a base estrutural para a análise subsequente dos eventos desencadeadores e dos riscos associados.

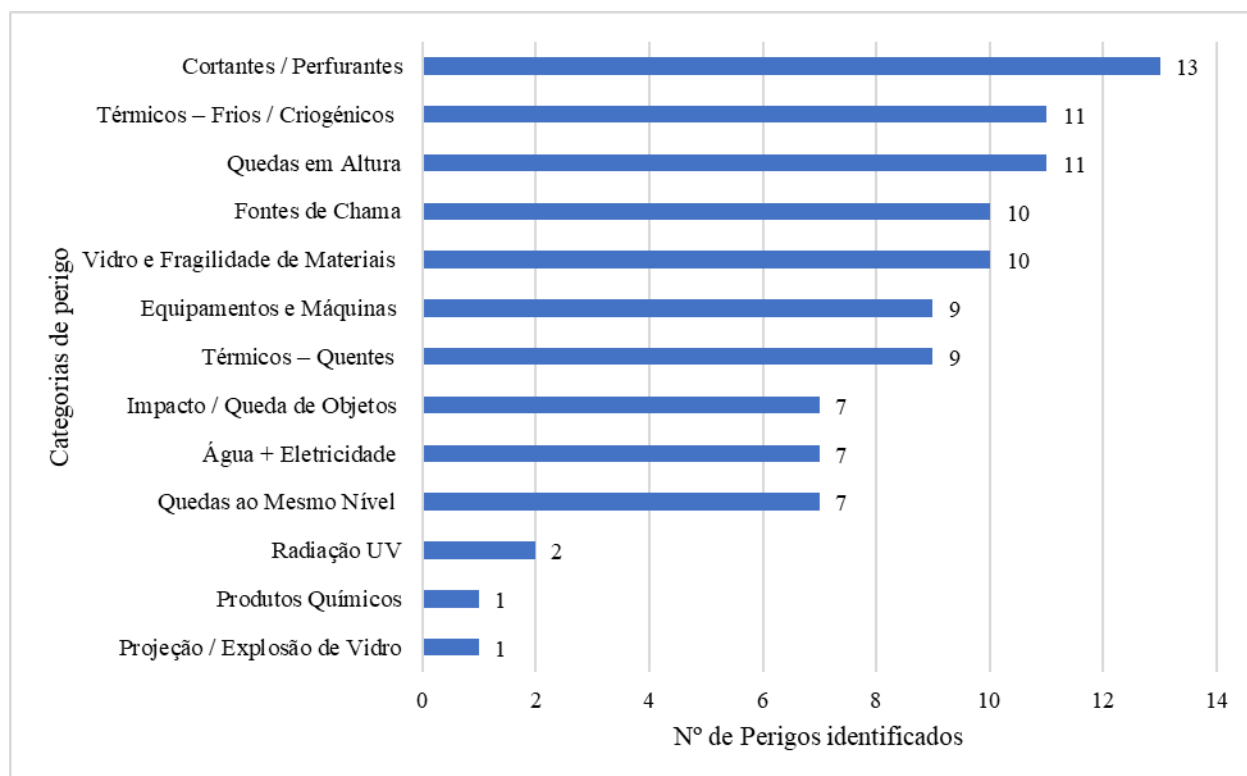


Figura 119 - Categorias e Nº de perigos

Entre as categorias identificadas, os perigos identificados na categoria de cortantes e perfurantes revelaram-se particularmente expressivos, totalizando 13 ocorrências. Este grupo incluiu agulhas, bisturis, lâminas, tesouras e outros objetos cortantes utilizados em tarefas de dissecação, inoculação, preparação de amostras ou cortes de precisão.

Os perigos associados a vidro e fragilidade de materiais surgiram igualmente com grande representatividade (10 ocorrências), incluindo frascos, tubos de vidro, pipetas e balões de cultivo. Este grupo reflete o risco inerente à manipulação de materiais frágeis sujeitos a rotura, especialmente durante processos de lavagem, transporte, armazenamento ou exposição a variações térmicas.

A categoria dos perigos térmicos foi subdividida em fontes quentes, como autoclave e frascos de vidro quente e fontes frias/criogénicas como arcas ultracongeladoras e azoto líquido.

Foram ainda identificados perigos associados à projeção ou explosão de vidro (frascos sujeitos a pressão interna; 1 ocorrência), às quedas ao mesmo nível (7 ocorrências) e às quedas em altura (11 ocorrências),

nomeadamente associadas ao uso de bancos, escadas, rochas e acesso a portas elevadas dentro das salas de trabalho.

A interação entre água e eletricidade, foi identificada em 7 ocorrências (bombas de circulação, resistências elétricas, tomadas e instalações elétricas próximas de água). As fontes de chama, bico de Bunsen, lamparina, representaram 10 ocorrências, refletindo o uso frequente de calor direto em procedimentos analíticos e de esterilização. Complementarmente, os equipamentos e máquinas (furadora, sonicador, serrote, soprador de ar quente, liofilizador, estrutura de agitação, rotavapor) corresponderam a 9 ocorrências.

Foram igualmente identificados perigos de radiação UV (2 ocorrências), como riscos relacionados com impacto ou queda de objetos (7 ocorrências), incluindo materiais de laboratório ou cargas instáveis.

Por fim, foram identificados perigos químicos, nomeadamente a utilização de formaldeído e a existência de locais de armazenamento inadequados (2 ocorrências).

Enquadrando os perigos identificados nos subprocessos, a Tabela 31 (em anexo) representa essa distribuição.

4.3 Resultados – Riscos e consequências identificados

A caracterização sistemática dos riscos permitiu identificar um total de **101 situações de risco**, resultantes dos perigos previamente descritos nos diferentes processos laboratoriais e aquícolas. Os riscos foram agrupados em categorias de natureza semelhante, permitindo uma leitura clara da frequência e distribuição dos cenários potencialmente danosos.

Entre todas as categorias, o risco mais prevalente correspondeu ao contacto com material ou superfícies cortantes/cortoperfurantes contabilizando 24 ocorrências. Seguiram-se, em frequência, os riscos associados a contacto com superfícies frias ou ultrafrias, com 11 ocorrências, particularmente relacionados com arcas ultracongeladoras e azoto líquido. Os riscos de queda em altura foram igualmente relevantes, com 11 ocorrências, resultantes de tarefas realizadas em bancadas elevadas, prateleiras, rochas ou escadas.

O contacto com a chama, presente em 10 ocorrências, esteve associado ao uso de bicos de Bunsen, lamparinas. De forma semelhante, os riscos térmicos relacionados com superfícies quentes (autoclaves, frascos aquecidos) contabilizaram 9 ocorrências, evidenciando a natureza simultânea dos riscos térmicos nos dois extremos — quente e frio.

Os riscos de queda ao mesmo nível surgiram em 7 situações, maioritariamente relacionados com pisos molhados nas áreas de aquacultura e os riscos de contacto com água e eletricidade, com 6 ocorrências. Outros riscos identificados incluíram:

- Contacto com pedaços de vidro/vidro partido e Contacto com material danificado ou partido durante a lavagem (4 ocorrências);
- Queda de material (3 ocorrências);
- Contacto com produtos químicos (2 ocorrências);
- Exposição à radiação UV (2 ocorrências);

- Incêndio (2 ocorrências);
- Rutura ou explosão de componentes de vidro (2 ocorrências);
- Contacto com ar quente (1 ocorrência);
- Exposição a ruído (1 ocorrência);
- Contacto com as peças por desprendimento súbito das mesmas (1 ocorrência);
- Contacto com superfície em rotação (1 ocorrência).

A identificação das consequências permitiu quantificar os impactos mais prováveis resultantes dos riscos acima descritos, totalizando 122 consequências registadas. As categorias foram agrupadas pela natureza da lesão ou impacto fisiológico, conforme Figura 120.

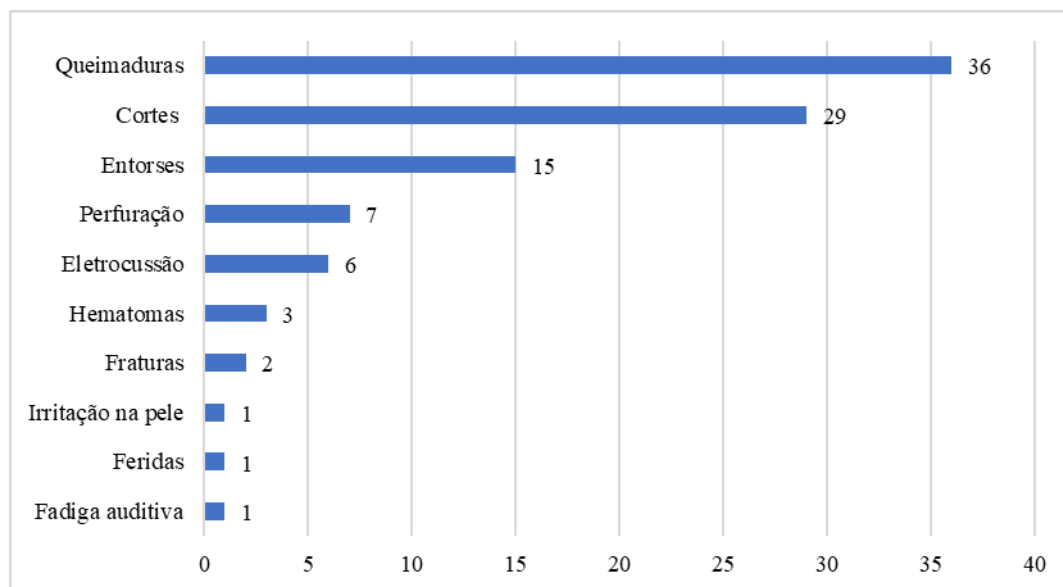


Figura 120 - Categorias e Nº das consequências

A consequência mais frequente foi a queimadura, com 36 ocorrências, abrangendo tanto queimaduras térmicas causadas pelo calor (autoclaves, bico de bunsen, frascos quentes) como queimaduras por frio originadas pelo contacto com superfícies ultracongeladas ou azoto líquido.

Os cortes representaram a segunda consequência mais prevalente, com 29 ocorrências, associando-se diretamente aos materiais cortantes e cortoperfurantes, bem como à fragilidade do vidro. Seguiram-se as entorses, com 15 ocorrências, maioritariamente relacionadas com quedas ao mesmo nível ou irregularidades no piso. A perfuração, registada em 7 ocorrências, associou-se sobretudo ao contacto com agulhas, refletindo riscos durante tarefas de disseção ou manipulação de organismos.

As consequências de eletrocussão (6 ocorrências) resultaram de riscos envolvendo o contacto simultâneo com água e sistemas elétricos. As categorias menos frequentes incluíram hematomas (3 ocorrências), fraturas (2 ocorrências), assim como feridas, fadiga auditiva e irritação cutânea (1 ocorrência cada).

4.4 Análise e avaliação do risco

4.4.1 Resultados com o método WTF

A aplicação do método William T. Fine (WTF) permitiu a construção de uma matriz de avaliação que integrou probabilidade, exposição e consequência para estimar o nível de risco associado às tarefas desenvolvidas nos diferentes processos laboratoriais do centro de investigação. Este método foi aplicado a

subprocessos que abrangeram desde o isolamento e identificação de microrganismos, preparação de meios e manipulação de culturas, até atividades de suporte a ensaios com organismos vivos e tarefas associadas à manutenção de sistemas experimentais.

Os resultados mostraram que, de acordo com os critérios do método WTF, a grande maioria dos riscos identificados ao longo dos processos foi classificada como risco baixo, representando cerca de 90% das situações avaliadas (101 ocorrências). Apenas 8% dos riscos foram classificados como médios, 1% como muito elevados e 1% como extremos, não tendo sido registada qualquer tarefa no nível “elevado”. Esta distribuição evidenciou uma concentração marcada nos níveis inferiores da escala, conforme sintetizado na Tabela 4.

Tabela 4 - Classificação dos riscos - WTF

Classificação do Risco	Número de riscos	%
Extremo	1	1 %
Muito elevado	1	1 %
Elevado	0	0 %
Médio	8	8 %
Baixo	91	90 %

Na linha de investigação Biologia Marinha, apenas se identificaram dois NR, nomeadamente o médio e o baixo, conforme a Figura 121.

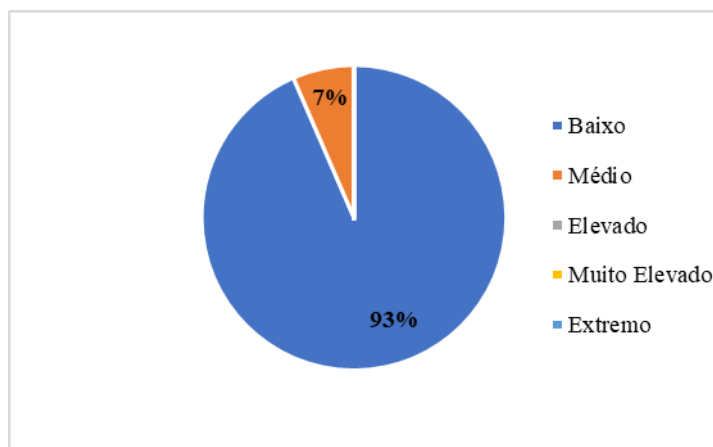


Figura 121 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Biotecnologia Marinha – Método WTF

Os 7% representados no gráfico dizem respeito às seguintes tarefas de armazenamento de produtos inflamáveis no processo de isolamento de compostos, à lavagem de material de vidro no processo de isolamento de compostos e ainda, à lavagem de material de vidro no processo de isolamento de microrganismos.

Em relação à 2ª linha de investigação, os riscos analisados foram distribuídos em 4 níveis de riscos, conforme a Figura 122.

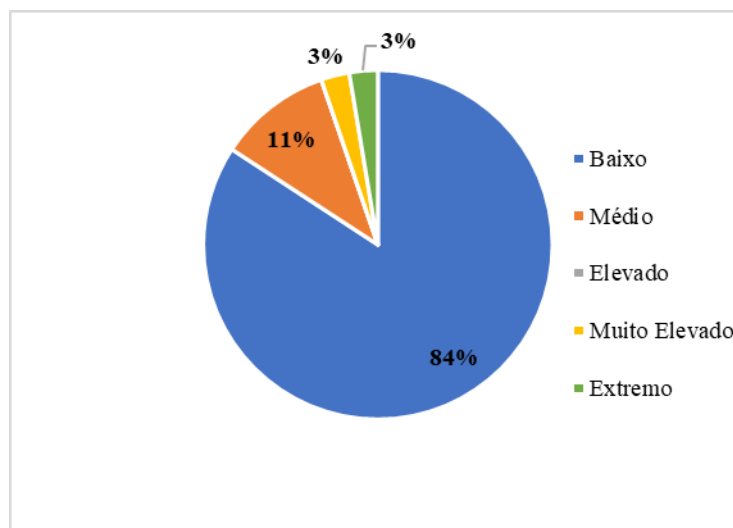


Figura 122 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Biologia, Aquacultura e Qualidade da Nutrição – Método WTF

No NR extremo foi considerado na tarefa “Escrever no computador” relativa ao processo “Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares”, já a mesma tarefa, mas no processo “Interações hospedeiro-patogénico” foi considerada “Muito elevado”. Relativamente aos 11%, que representa o NR médio, as atividades dizem respeito a subir as escadas em ambos os processos, à lavagem de material e à monitorização do nível da água.

Por fim, relativamente à 3ª linha de investigação e à semelhança da 1ª linha de investigação, os riscos só foram classificados em 2 NR, conforme a Figura 123.

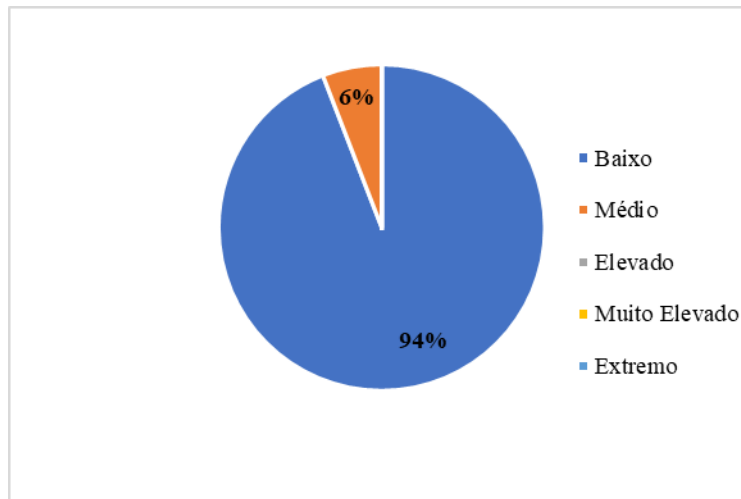


Figura 123 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Alterações globais e Serviços dos Ecossistemas – Método WTF

Os 6% presentes no gráfico dizem respeito aos riscos da tarefa de lavagem de material, conforme se verificou nas outras linhas de investigação.

A predominância das classificações no nível “baixo” demonstrou que o método tendeu a subestimar a criticidade dos perigos presentes no contexto laboratorial. Esta tendência refletiu as características próprias do WTF, que atribui um peso determinante à frequência e à exposição. Consequentemente, tarefas que envolviam perigos intrinsecamente relevantes, como manipulação de superfícies quentes ou criogénicas, contacto com vidro frágil, utilização de bisturis e agulhas, proximidade entre água e

eletricidade ou transporte de recipientes instáveis, foram frequentemente classificadas como de risco baixo sempre que a probabilidade ou a exposição foram consideradas reduzidas.

Entre os exemplos identificados encontraram-se riscos de queimadura durante a remoção de material quente da autoclave ou das arcas ultracongeladoras, cortes superficiais associados à lavagem ou manipulação de vidro, e perfurações ocasionais decorrentes da utilização de instrumentos cortantes ou perfurantes nas tarefas de inoculação ou amostragem. Embora estes perigos apresentassem gravidade potencial elevada, a estrutura do método fez com que a baixa frequência atribuída a muitos destes eventos diminuísse substancialmente o risco final.

4.4.2 Resultados com o método NTP 330

A aplicação do método NTP 330 à matriz de riscos laboratoriais permitiu classificar os perigos identificados em níveis de intervenção, refletindo diferentes graus de urgência para a ação corretiva. O método NTP 330 apresenta uma tendência de distribuição da maioria dos riscos entre os níveis III e IV, com menor frequência nos níveis II, V e I. Deste modo, embora haja múltiplos perigos associados a tarefas como manipulação de vidros, exposição a temperaturas extremas, quedas e eletrocussão, as medidas de prevenção já existentes e o contexto controlado minimizam a gravidade geral dos riscos residuais.

Os resultados mostram que os riscos extremos são pouco frequentes, representando 2% do total de riscos, cabendo quase todos os riscos observados a intervenções de melhoria ou manutenção. Os poucos cenários de nível I e II concentram-se especialmente em tarefas com queda de altura, manipulação de produtos inflamáveis, acesso a zonas elevadas sem proteção, e operações de maior complexidade que, no contexto real, podem envolver consequências graves. Contudo, mais de 80% dos perigos ficam abaixo dos níveis críticos, o que revela um sistema de prevenção eficaz e uma gestão adequada das rotinas laborais.

Na Tabela 5 mostra a distribuição dos riscos pelos níveis de classificação do método NTP 330.

Tabela 5 - Classificação dos riscos - NTP 330

Classificação do Risco	Número de riscos	%
I	2	2 %
II	9	10 %
III	31	30 %
IV	50	50 %
V	9	9 %

A distribuição dos riscos segundo o método NTP 330 evidencia uma tendência clara para a classificação das tarefas nos níveis superiores de intervenção. Assim, metade dos riscos avaliados (50%, correspondente a 50 situações) foram enquadrados no nível IV, indicando necessidade elevada de atuação corretiva ou preventiva. Adicionalmente, 30% dos riscos (31 situações) surgem classificados no nível III, reforçando a ideia de que este método considera que uma parte substancial das tarefas implica necessidade de intervenção.

Os níveis inferiores, I e II, representam apenas 2% e 9% dos riscos, respectivamente, demonstrando que o método raramente classifica uma tarefa como de baixo risco. Mesmo o nível V, que na lógica NTP corresponde aos cenários com menor urgência de intervenção, representa apenas 9% das situações. Esta distribuição revela que o método apresenta uma sensibilidade elevada aos perigos identificados, refletindo a influência de fatores como probabilidade, exposição e consequências, mas também a forma como estas variáveis são operacionalizadas dentro da metodologia.

Relativamente à 1ª linha de investigação, os riscos foram divididos em 5 NR, conforme a Figura 124.

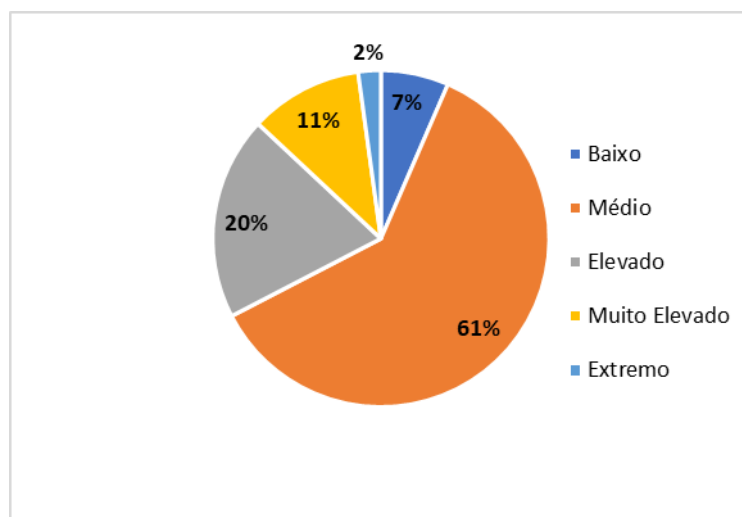


Figura 124 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Biotecnologia Marinha – Método NTP 330

Tendo em conta as variáveis deste método, a maioria dos riscos foi enquadrada no NR médio, no entanto, houve 33 % dos riscos acima deste nível. Nos processos da 2ª linha de investigação, à semelhança dos processos anteriores, também existem riscos distribuídos por todos os NR, conforme a Figura 125.

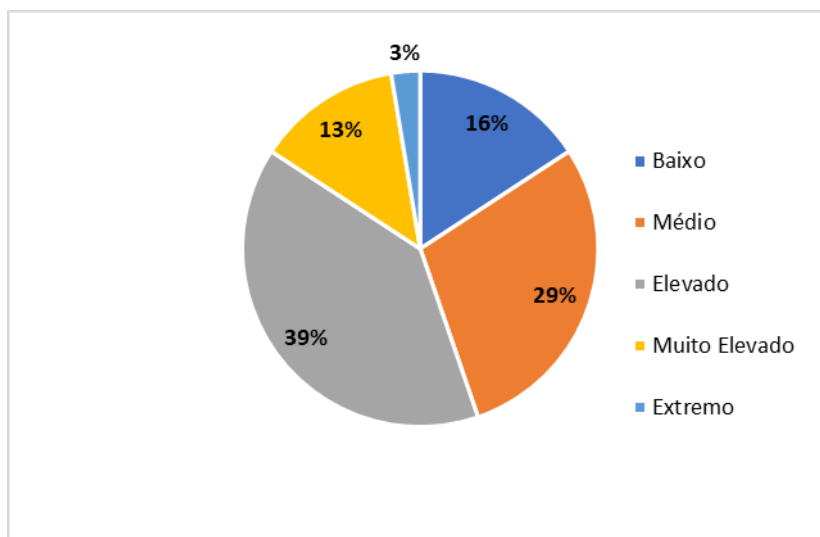


Figura 125 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Biologia, Aquacultura e Qualidade da Nutrição – Método NTP 330

Os NR “Médio” e “Elevado” apresentam-se mais distribuídos, destacam-se apenas 16% para os riscos com o NR “Muito elevado” e “Extremo”. Por fim, relativamente à 3ª linhas de investigação, os riscos das tarefas inseridas nos subprocessos foram avaliados em dois NR “Médio” e “Elevado”, conforme Figura 126.

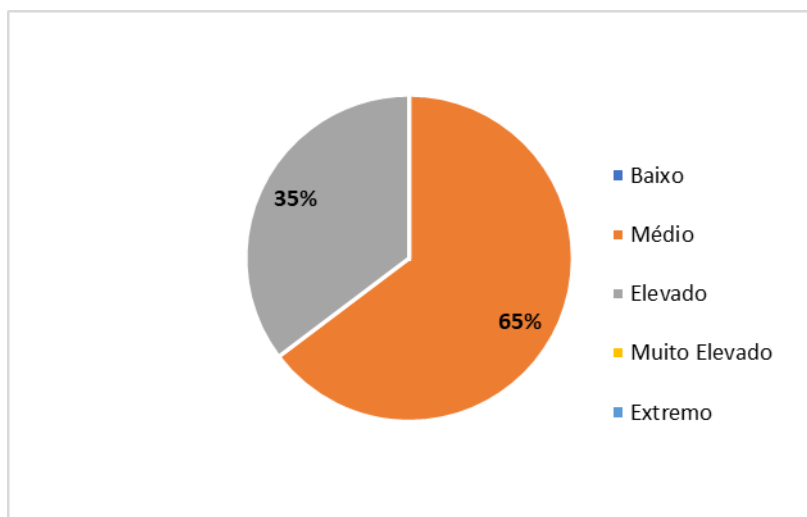


Figura 126 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Alterações globais e Serviços dos Ecossistemas – Método NTP 330

Assim, os riscos considerados de NR elevado foram os presentes nas tarefas: Colocação das sondas multiparamétricas nos sistemas; Abrir a CSB; Transporte dos balões de cultivo para as fitoclimas; Colocar os balões de cultivo na fitoclíma; Retirar os balões de cultivo na fitoclíma.

O resultado é uma concentração acentuada de riscos nos níveis III e IV, o que se traduz numa capacidade limitada para diferenciar tarefas com graus de criticidade distintos, já que uma grande parte das atividades avaliadas acaba por ser agrupada nos patamares superiores da escala.

De forma geral, a distribuição dos níveis de intervenção obtida através do método NTP 330 permitiu identificar com clareza os subprocessos e tarefas que representavam maior prioridade de intervenção, sobretudo aqueles que combinavam perigos físicos severos com condições ambientais desfavoráveis.

4.4.3 Resultados com o método MIAR

A aplicação do método MIAR resultou na classificação de um total de 101 riscos distribuídos por cinco categorias. Não foram identificados riscos classificados como Extremo ou Muito elevado, correspondendo ambas as categorias a 0 ocorrências (0%).

A categoria Elevado integrou 4 riscos, equivalentes a 4% do total. A categoria Médio reuniu 32 riscos, representando 32% das situações avaliadas. A categoria Baixo foi a mais frequente, com 65 riscos, o que corresponde a 64% do total identificado. A Tabela 6 apresenta a síntese da classificação dos riscos obtida através do método:

Tabela 6 - Classificação dos riscos - MIAR

Classificação do Risco	Número de riscos	%
Extremo	0	0 %
Muito elevado	0	0 %
Elevado	4	32 %
Médio	32	4 %

Baixo	65	64 %
-------	----	------

Na primeira linha de investigação, a aplicação do método MIAR resultou na predominância de riscos classificados como Baixo, correspondendo a 74% do total. Os riscos classificados como médio representaram 24%, enquanto os riscos classificados como elevado corresponderam a 2%. Não foram identificados riscos nas categorias Muito Elevado ou Extremo, conforme a Figura 127.

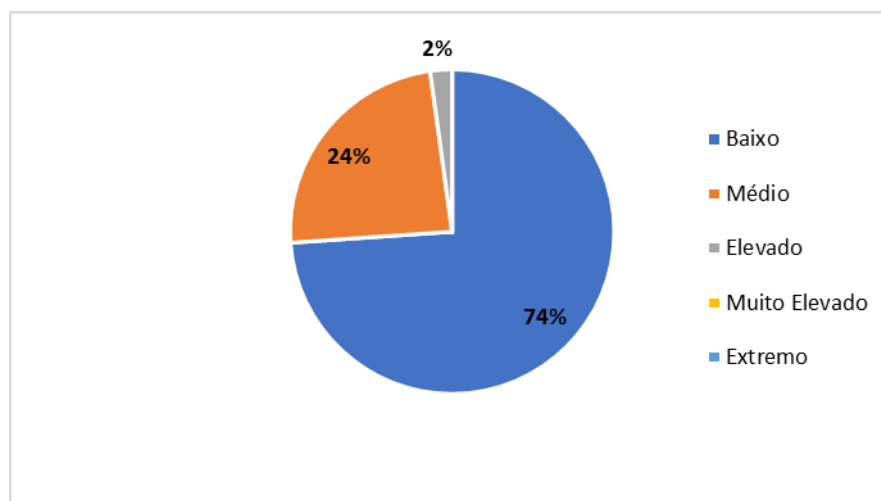


Figura 127 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Biotecnologia Marinha – Método MIAR

Na segunda linha de investigação, os riscos classificados como Baixo representaram 55% do total. Os riscos classificados como médio corresponderam a 37%, enquanto os riscos classificados como elevado representaram 8%. Não foram identificados riscos classificados como Muito Elevado ou Extremo, conforme a Figura 128.

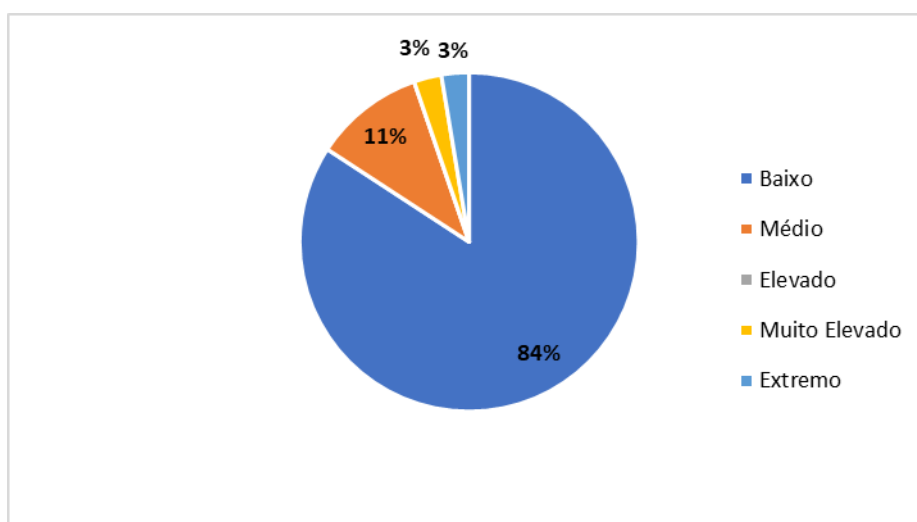


Figura 128 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Biologia, Aquacultura e Qualidade da Nutrição – Método MIAR

Na terceira linha de investigação, os riscos classificados como Baixo representaram 55% do total. Os riscos classificados como médio corresponderam a 37%, enquanto os riscos classificados como elevado representaram 8%. Não foram identificados riscos classificados como Muito Elevado ou Extremo, conforme a Figura 129.

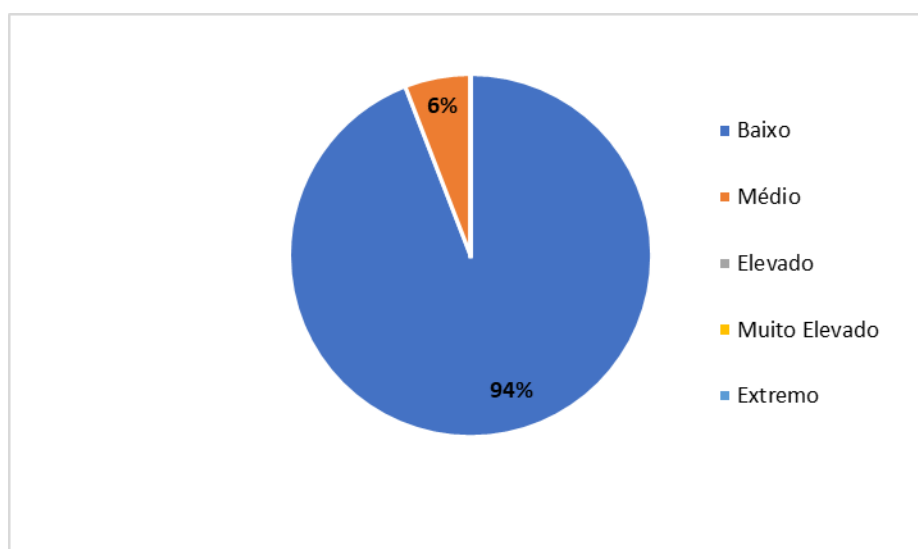


Figura 129 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Alterações globais e Serviços dos Ecossistemas – Método MIAR

A análise realizada através do método MIAR evidenciou que, no conjunto das três linhas de investigação, a maioria dos riscos identificados se concentrou nas categorias Baixo e Médio. A primeira linha de investigação apresentou 74% de riscos Baixo, 24% Médio e 2% Elevado. Nas segunda e terceira linhas de investigação, os resultados foram idênticos entre si, com 55% de riscos Baixo, 37% Médio e 8% Elevado. Em nenhuma das linhas foram registados riscos classificados como Muito Elevado ou Extremo. No perfil geral, agregando todas as tarefas avaliadas, observaram-se 64% de riscos Baixo, 32% Médio e 4% Elevado, sem ocorrências nas categorias superiores. Estes resultados estabelecem a distribuição quantitativa dos níveis de risco identificados nas atividades analisadas de acordo com os critérios do método MIAR.

4.4.4 Resultados com o método HIRADC

A aplicação do método HIRADC aos processos laboratoriais permitiu identificar de forma detalhada a distribuição dos riscos entre diferentes categorias de gravidade, refletindo com maior precisão a complexidade e as exigências das tarefas realizadas no centro de investigação. Os resultados mostraram que uma proporção significativa das tarefas foi classificada como risco alto, coexistindo com várias situações de risco extremo, enquanto um número relevante apresentou risco médio e apenas uma pequena fração foi enquadrada no nível de risco baixo.

A análise da matriz permitiu verificar que os riscos mais elevados estavam associados a tarefas que envolviam manipulação de materiais perigosos, incluindo vidro sujeito a fratura ou choque térmico, produtos inflamáveis, equipamentos elétricos ou superfícies a temperaturas extremas. Também se destacaram operações que exigiam trabalho em altura, bem como atividades realizadas em ambientes húmidos ou escorregadios. Entre estas, tarefas como aceder a material em prateleiras superiores sem proteção, manusear produtos inflamáveis, utilizar furadoras ou transportar peixes em ambientes com piso molhado surgiram classificadas como risco extremo, revelando a necessidade de intervenção corretiva imediata.

As tarefas rotineiras, embora realizadas com maior frequência e sob procedimentos estabelecidos, concentraram-se predominantemente nos níveis alto e médio, refletindo as particularidades do trabalho laboratorial, onde a combinação de agentes físicos, térmicos, elétricos e químicos exige medidas preventivas robustas. Estas classificações demonstraram que a execução contínua e repetida de tarefas desta natureza requer atenção permanente, formação constante dos técnicos e revisão periódica dos procedimentos operacionais. Apenas um número reduzido de tarefas foi classificado como risco baixo, correspondendo sobretudo a atividades simples, de curta duração, baixa exposição e que já estavam fortemente controladas através de equipamentos de proteção individual ou rotinas de trabalho bem consolidadas.

A Tabela 7 apresenta a distribuição dos riscos identificados pelo método HIRADC:

Tabela 7 - Classificação dos riscos - HIRADC

Classificação do Risco	Número de riscos	%
Extremo	9	9%
Alto	55	54%
Médio	32	32%
Baixo	5	5%

Os resultados evidenciaram que o método HIRADC possuía uma capacidade discriminativa elevada, classificando 54% dos riscos como “Alto” e 32% como “Médio”, enquanto identificou 9% dos cenários como “Extremo”, representando as situações de maior severidade e maior potencial de causar danos significativos.

Relativamente à 1ª linha de investigação, foram identificados os 4 NR, conforme a Figura 130.

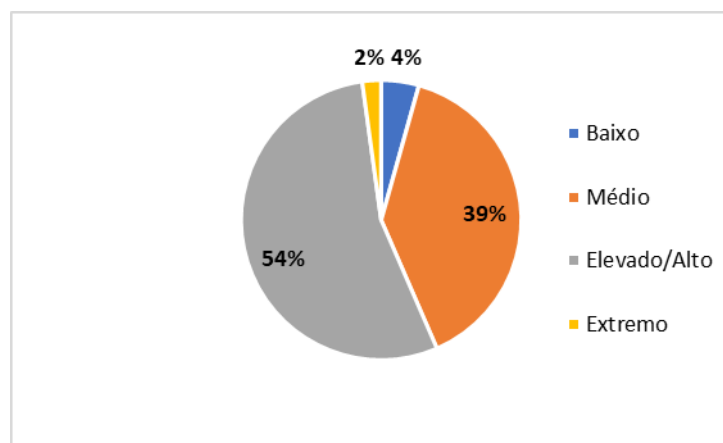


Figura 130 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Biotecnologia Marinha – Método HIRADC

De acordo com os dados recolhidos, foi possível verificar que a maioria dos riscos destes processos se centraram nos NR “Médio” e “Elevado/Alto”. Destacando a atividade “Armazenamento de produtos inflamáveis” que foi considerada no NR “Extremo” e as atividades, “Aspirar o meio através de uma pipeta de vidro” e “Utilização do sonicator” foram consideradas de NR “Baixo”.

Relativamente à 2ª linha de investigação, apenas foram identificados 3 NR, nomeadamente extremo, elevado/alto e o médio, não existindo tarefas com NR baixos, conforme Figura 131. Os riscos considerados com NR extremo foram os riscos das seguintes tarefas:

- Utilização de furadora;
- Colocação dos peixes em quarentena;
- Transporte de Peixes;
- Monitorização do nível da água;
- Escrever no computador.

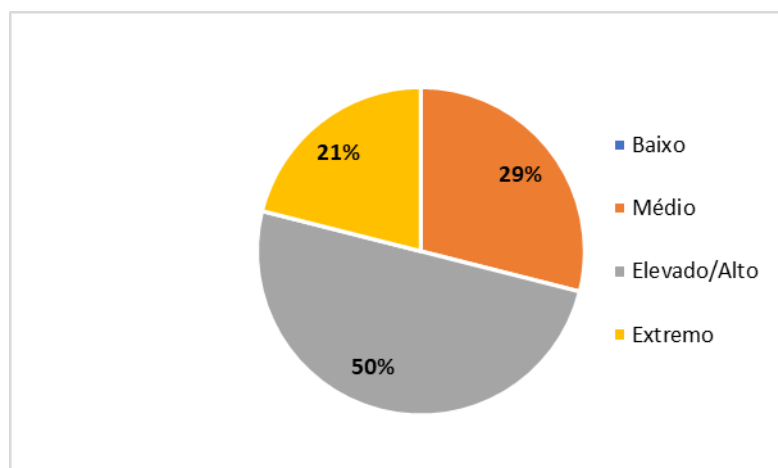


Figura 131 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Biologia, Aquacultura e Qualidade da Nutrição – Método HIRADC

Por fim, em relação à 3ª linha de investigação, ao contrário das outras linhas, não houve riscos com NR extremo, no entanto, mesmo assim, a maioria das tarefas foram enquadradas no NR “Elevado/Alto”, conforme a Figura 132.

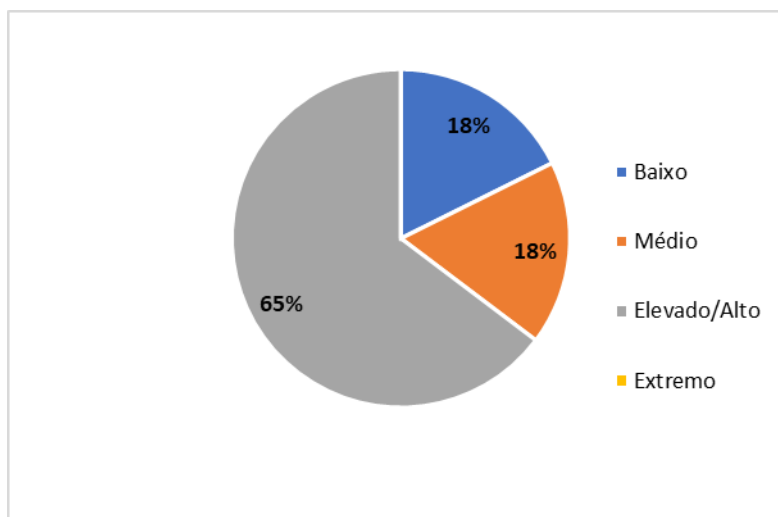


Figura 132 - Níveis de Risco das tarefas da linha de Alterações globais e Serviços dos Ecossistemas – Método HIRADC

Deste modo, os riscos considerados de NR elevado/alto, foram das seguintes tarefas:

- Recolha das lapas em rochas;

-
- Realização de dissecação;
 - Colocação das sondas multiparamétricas nos sistemas;
 - Transporte dos balões de cultivo para as fitoclimas;
 - Colocar os balões de cultivo na fitoclima;
 - Retirar os balões de cultivo na fitoclima;
 - Lavagem de material de vidro.

Os riscos extremos estavam associados a consequências graves, incluindo quedas em altura, eletrocussão derivada da interação entre água e sistemas elétricos, queimaduras resultantes de contacto com superfícies quentes ou criogénicas e cortes profundos provenientes da utilização de instrumentos cortantes ou da rotura de vidro.

A predominância dos níveis “Alto” e “Médio” confirmou que a maioria das tarefas avaliadas envolvia perigos relevantes que exigiam a manutenção rigorosa das medidas de controlo existentes e a implementação contínua de estratégias de prevenção e mitigação. A identificação consistente dos cenários de maior criticidade destacou a capacidade do método para captar a realidade operacional dos processos analisados, constituindo um instrumento robusto para apoiar a tomada de decisão ao nível da segurança e saúde no trabalho.

Assim, os resultados obtidos demonstraram que o HIRADC foi particularmente eficaz na distinção entre diferentes graus de severidade e probabilidade, permitindo priorizar com maior precisão as ações corretivas e aperfeiçoar a gestão dos riscos associados às atividades laboratoriais e aquícolas estudadas.

4.4.5 Comparação dos resultados dos quatros métodos

A comparação entre os quatro métodos de avaliação de risco aplicados — WTF, NTP 330, MIAR e HIRADC — evidenciou diferenças substanciais na forma como cada sistema interpreta e classifica os perigos analisados. Estas diferenças refletem, não apenas as características metodológicas de cada ferramenta, mas também a sua sensibilidade para captar a complexidade dos cenários presentes nos diferentes processos laboratoriais e aquícolas. A Figura 133 representa graficamente esta distribuição global dos níveis de risco atribuídos por cada método.

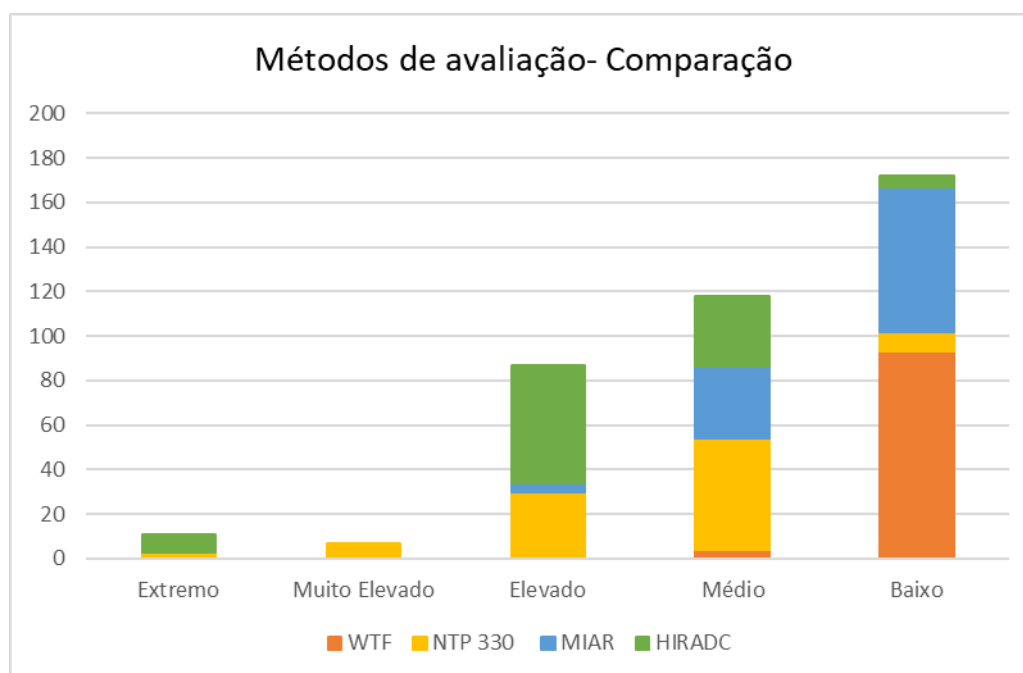


Figura 133 - Comparação dos NR dos quatro métodos

O método WTF apresentou a distribuição mais permissiva, concentrando cerca de 90% dos riscos no nível “Baixo” e classificando apenas 2% como “Muito elevado” ou “Extremo”. Este padrão indica que o método tende a subavaliar a perigosidade, sobretudo em tarefas onde a gravidade potencial é elevada, mas cuja probabilidade ou exposição foram avaliadas como reduzidas. Assim, apesar de ser um método amplamente utilizado em contextos industriais, revelou-se limitado para diferenciar cenários críticos no ambiente laboratorial e aquícola estudado, onde muitos dos perigos são intrínsecos às operações e não dependem da frequência para determinar o risco real.

Em contraste, o NTP 330 apresentou o comportamento oposto, distribuindo a maior parte dos riscos pelos níveis de intervenção superiores: aproximadamente 50% das tarefas foi classificada no nível IV e 30% no nível III, enquanto apenas 11% se situou nos níveis I e II. Esta concentração sugere que o método tende a sobrestimar a necessidade de intervenção, conduzindo a uma distribuição menos discriminativa entre tarefas moderadamente perigosas e cenários de criticidade elevada. Embora esta abordagem possa ser vantajosa em contextos onde se privilegia o princípio da precaução, a pouca variabilidade entre níveis de intervenção limita a sua eficácia para estabelecer prioridades claras de gestão preventiva.

O método MIAR, por sua vez, apresentou uma distribuição concentrada nos níveis de risco inferiores. No total das tarefas avaliadas, 64% foram classificadas como risco “Baixo”, 32% como “Médio” e 4% como “Elevado”, não tendo sido registadas classificações nos níveis “Muito Elevado” ou “Extremo”. Esta distribuição demonstra que o método distingue três níveis de risco, embora a maior parte dos valores se situe nas categorias de menor prioridade de intervenção segundo os critérios do próprio método.

Finalmente, o HIRADC demonstrou a distribuição mais equilibrada e, simultaneamente, a maior capacidade discriminativa entre os quatro métodos. Classificou 54% dos riscos como “Alto”, 32% como “Médio”, 9% como “Extremo” e apenas 5% como “Baixo”. Esta variabilidade evidencia que o método

captou com maior precisão a diversidade de perigos presentes nos diferentes processos, permitindo distinguir entre tarefas rotineiras, atividades moderadamente perigosas e cenários com potencial de consequências graves que exigiam intervenção imediata. O HIRADC mostrou-se, assim, especialmente adequado para refletir a realidade operacional dos contextos laboratoriais e aquícolas estudados.

Relativamente aos NR identificados nos diferentes processos, a esmagadora maioria dos riscos foi classificada como Baixo, com ocorrências residuais nos níveis Médio, Muito Elevado e Extremo, conforme a Figura 134.

O processo Interações hospedeiro-patogénico foi aquele que apresentou maior heterogeneidade nos níveis de risco, registando 20 riscos “Baixo”, 2 “Médio” e 1 “Muito elevado”. Já o processo Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares apresentou 2 riscos “Médio” e 1 risco classificado como “Extremo”, constituindo o único caso em que o método WTF atribuiu este nível máximo de criticidade. Por sua vez, o processo Crescimento de biomassa de algas apresentou 1 risco “Médio”, enquanto Isolamento de microrganismos registou igualmente 1 risco “Médio”. Os processos Ensaio biológicos, Ensaio microbiológicos, Expressão heteróloga e Ensaio com lapas não apresentaram qualquer risco classificado acima do nível “Baixo”, demonstrando que o WTF considerou estes processos integralmente como de baixa criticidade, conforme a Figura 134.

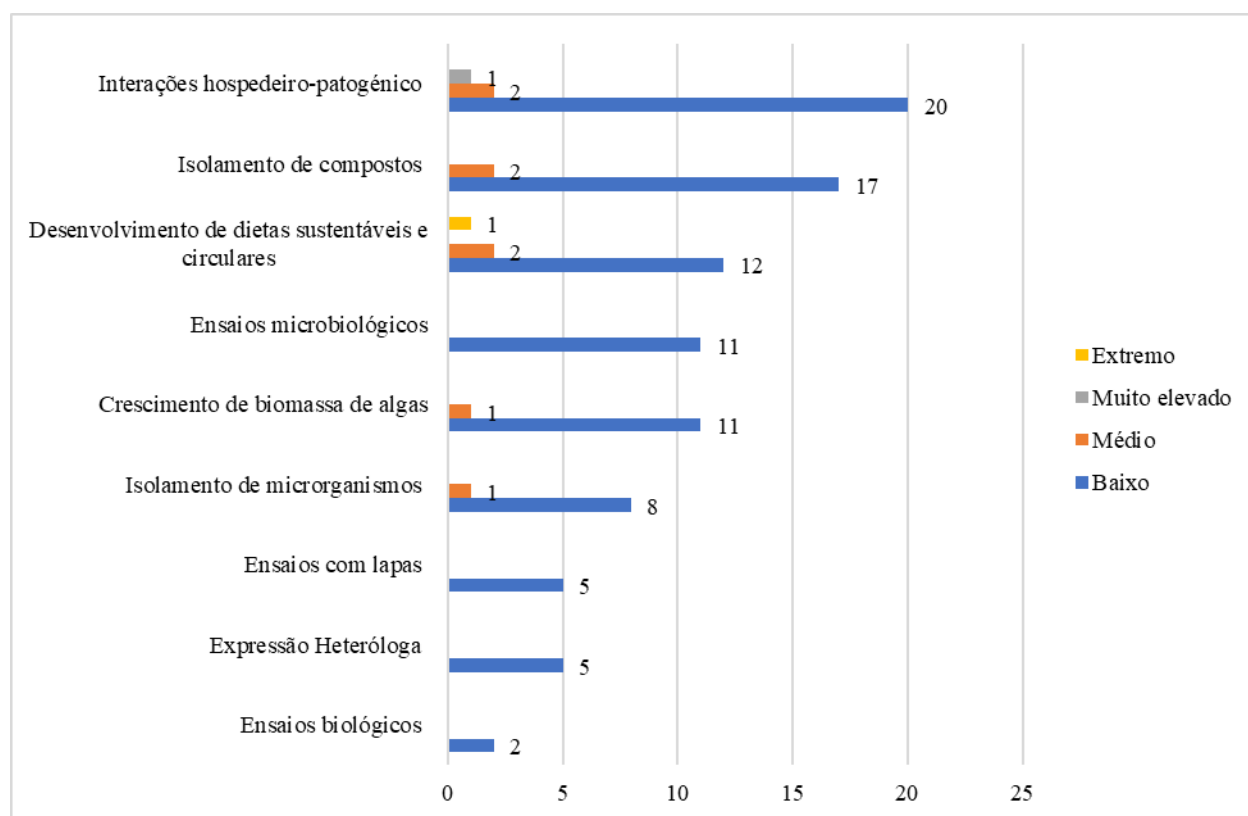


Figura 134 - NR identificados nos processos - Método WTF

Em relação ao método NTP 330, a Figura 134 representa a distribuição dos diferentes NR pelos processos analisados.

O processo Isolamento de compostos destacou-se como o mais crítico no conjunto analisado, registando 10 riscos de nível Médio, 4 Muito Elevado e 1 Extremo, evidenciando uma combinação desfavorável entre deficiência dos controlos existentes, frequência das tarefas e severidade potencial das

consequências. A predominância dos níveis Médio e Elevado sugere que várias tarefas apresentam riscos relevantes que requerem intervenção prioritária, sobretudo aquelas associadas a trabalho em altura, manipulação de vidro fragilizado e transferência de materiais quentes ou sob pressão. Também o processo Interações hospedeiro-patogénico apresentou uma concentração expressiva de classificações mais severas, com 8 riscos de nível Médio, 9 Elevado e 4 Muito Elevado. Também, o processo Isolamento de microrganismos revelou igualmente um perfil de risco elevado, com 4 riscos Médio, 4 Elevado e 1 Muito Elevado. As tarefas mais críticas surgem associadas ao manuseamento de placas, pipetas, cultura microbiana e acesso a prateleiras em altura, onde a combinação entre posturas instáveis, materiais frágeis e exposição frequente contribuiu para NI mais elevados.

O processo Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares apresentou um padrão misto, integrando riscos nos níveis Baixo (4), Médio (3), Elevado (6), Muito Elevado (1) e Extremo (1). Nos processos Ensaio microbiológicos e Expressão heteróloga, verificou-se uma presença significativa de riscos elevados. O primeiro apresentou 9 riscos de nível Médio, 3 Elevado e 2 Muito Elevado, enquanto o segundo registou valores mais moderados — 3 riscos Médio, 1 Elevado e 1 Muito Elevado.

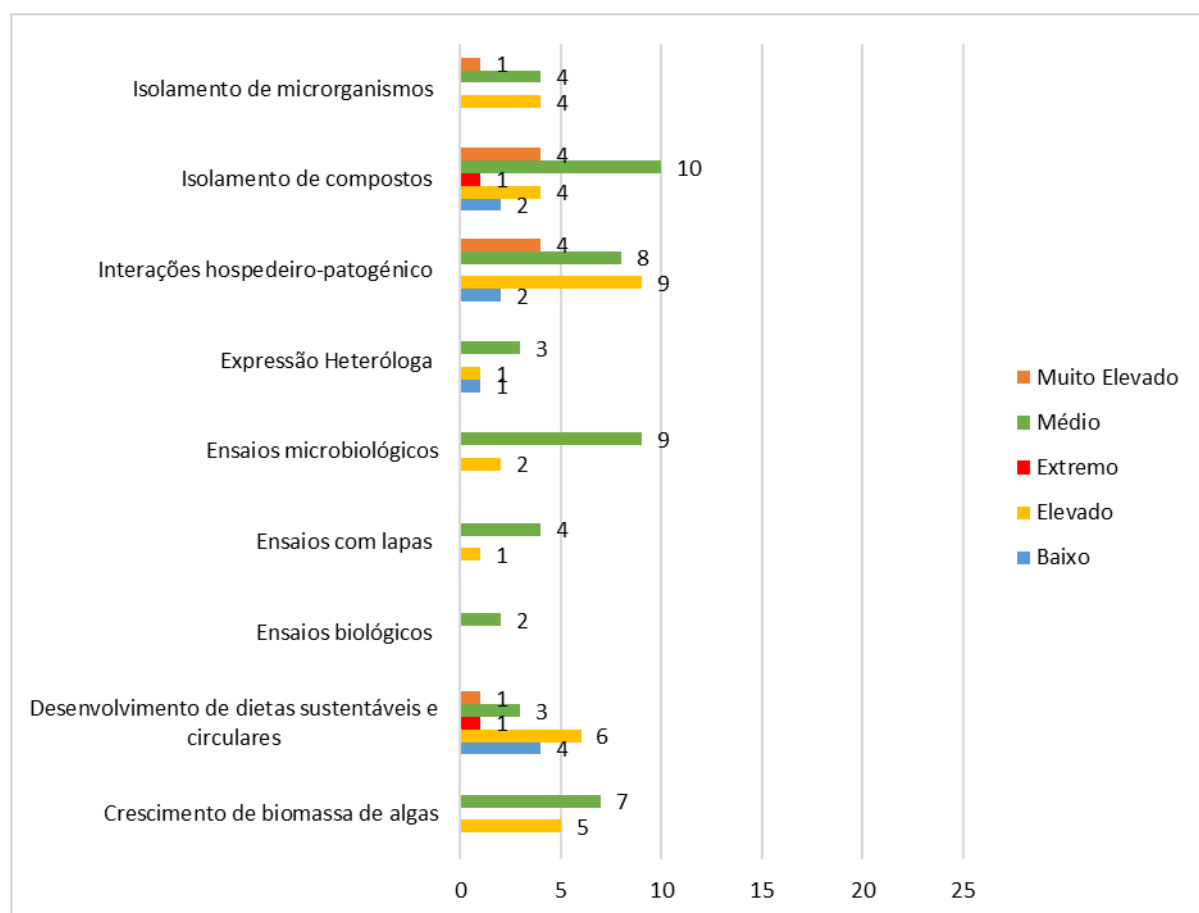


Figura 135 - NR identificados nos processos - Método NTP 330

Por sua vez, Ensaio biológicos e Ensaio com lapas mostraram perfis intermédios. Ensaio biológicos apresentou 2 riscos Médio e 1 Elevado, enquanto Ensaio com lapas evidenciou 4 riscos Médio e 1 Elevado, refletindo a presença de tarefas com manipulação de rochas, organismos vivos e superfícies

molhadas, ainda que em número inferior comparativamente aos processos mais críticos. Já o processo Crescimento de biomassa de algas apresentou o perfil menos grave dentro do conjunto analisado, registrando 7 riscos Médio e 5 Baixo, sem ocorrências de níveis Elevado, Muito Elevado ou Extremo.

Em síntese, o método NTP 330 evidenciou que os processos Isolamento de compostos, Interações hospedeiro-patogénico e Isolamento de microrganismos concentram o maior número de riscos classificados como Elevado, Muito Elevado ou Extremo, refletindo tarefas com deficiências de controlo, elevada exposição e consequências potencialmente graves. Os processos Ensaio biológicos, Ensaio com lapas e Crescimento de biomassa de algas apresentaram, pelo contrário, perfis de risco substancialmente mais moderados, com predominância dos níveis Baixo e Médio.

Em relação ao método MIAR, a Figura 136 apresenta a distribuição dos diferentes níveis de risco pelos processos analisados.

O processo Interações hospedeiro-patogénico destacou-se como aquele com o maior número de riscos identificados, reunindo 15 riscos de nível Baixo, 7 de nível Médio e 1 risco de nível Elevado. Este processo apresentou a maior concentração absoluta de riscos no conjunto analisado. O processo Isolamento de compostos apresentou também um número elevado de ocorrências, com 12 riscos classificados como Baixo, 6 como médio e 1 como elevado. Já o processo Ensaio microbiológicos evidenciou 11 riscos de nível Baixo e 3 de nível Médio, sem registo de riscos Elevados.

O processo Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares apresentou uma distribuição composta por 7 riscos Baixo, 6 Médio e 2 Elevado. Por sua vez, o processo Crescimento de biomassa de algas totalizou 7 riscos Baixo, 5 Médio e 1 Elevado.

Os processos Ensaio com lapas e Isolamento de microrganismos apresentaram perfis intermédios. Ensaio com lapas registaram 3 riscos Baixo e 2 Médio, enquanto Isolamento de microrganismos apresentou 6 riscos Baixo e 3 Médio, sem classificações de nível Elevado.

Nos processos com menor número total de riscos, Expressão heteróloga registou 3 riscos Baixo e 2 Médio, e Ensaio biológicos apresentou 2 riscos Baixo, não tendo sido identificados riscos nos níveis Médio ou Elevado.

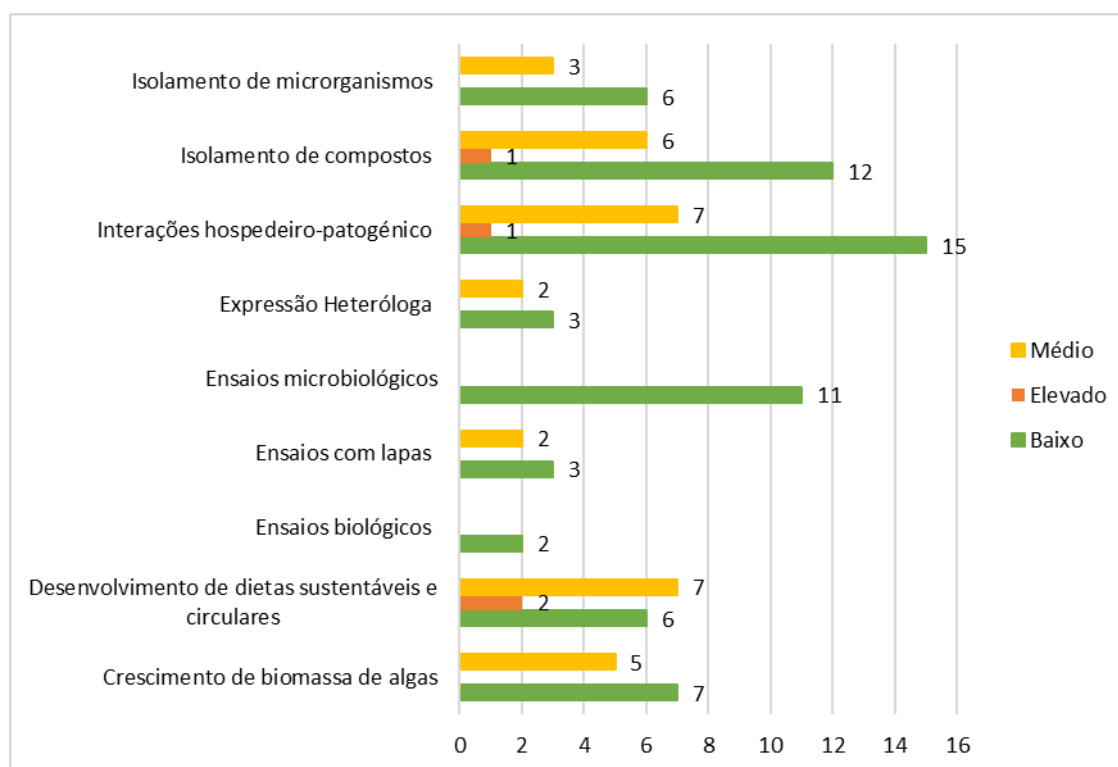


Figura 136 - NR identificados nos processos - Método NTP 330

A aplicação do método HIRADC revelou diferenças marcadas na distribuição dos níveis de risco entre os vários processos avaliados, destacando-se pela sua elevada capacidade discriminativa. A Figura 137 evidencia quatro categorias de risco, Baixo, Médio, Alto e Extremo, distribuídas pelos diferentes processos.

O processo Interações hospedeiro–patogénico destacou-se como aquele com maior concentração de riscos elevados: 13 riscos “Alto”, acompanhados por 7 riscos “Médio” e 3 riscos classificados como “Extremo”. O processo Isolamento de compostos apresentou igualmente valores elevados, registando 10 riscos “Alto”, 8 “Médio” e 1 “Extremo”. A predominância de riscos nos níveis superiores deve-se à combinação entre manipulação de materiais frágeis (balões de vidro, tubos, frascos), acesso a prateleiras elevadas e operações que envolvem fontes térmicas ou pressão. O risco “Extremo” identificado reflete condições onde convergem fragilidade dos materiais, altura e ausência de controlos coletivos robustos, o que amplifica a severidade potencial.

O processo Isolamento de microrganismos revelou também uma distribuição significativa de riscos relevantes, com 5 riscos “Alto”, 4 “Médio” e 1 “Extremo”. Nos processos Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares, observou-se igualmente uma distribuição heterogénea: 6 riscos “Alto”, 4 “Médio” e 1 “Extremo”. O processo Crescimento de biomassa de algas apresentou níveis consideráveis de risco, com 7 riscos “Alto”, 2 “Médio” e 3 “Baixo”. Apesar de não apresentar riscos extremos, a predominância de riscos elevados decorreu da presença simultânea de vidro em altura, superfícies escorregadias, fontes de calor e manipulação de estruturas de agitação.

Nos Ensaio microbiológicos, a distribuição revelou 8 riscos “Alto”, 3 “Médio” e 2 “Baixo”. Este processo envolveu tarefas tipicamente laboratoriais (plaqueamento, preparação de meios, manuseamento

de culturas), onde há presença constante de instrumentos cortantes, superfícies quentes e fragilidade dos materiais. Os Ensaios com lapas registaram 4 riscos “Alto”, 1 “Médio” e 1 “Baixo”, refletindo a manipulação de rochas, superfícies escorregadias e cargas instáveis. A Expressão heteróloga, por sua vez, apresentou uma distribuição mais equilibrada, com 2 riscos “Alto”, 3 “Médio” e 1 “Baixo”, indicando tarefas laboratoriais de menor exigência física e operacional, com predominância de riscos controláveis e com menor severidade. Por fim, os Ensaios biológicos evidenciaram a menor concentração de riscos elevados, registrando apenas 1 risco “Alto”, 2 “Médio” e 1 “Baixo”.

De forma integrada, os resultados mostraram que:

- O WTF subavaliou os riscos, classificando quase todas as tarefas como de baixa criticidade.
- O NTP 330 sobreavaliou a necessidade de intervenção, concentrando grande parte das tarefas nos níveis superiores.
- O MIAR distinguiu três níveis de risco, mas a maioria das classificações concentrou-se nos níveis inferiores.
- O HIRADC demonstrou capacidade discriminativa elevada, oferecendo a leitura mais consistente e ajustada às características reais das operações.

Deste modo, a análise conjunta evidencia que nenhum método, isoladamente, é suficiente para captar toda a amplitude dos riscos presentes nos processos avaliados. No entanto, o HIRADC revelou-se o mais robusto, sendo o que melhor permitiu distinguir diferentes níveis de criticidade e, consequentemente, apoiar a hierarquização das ações preventivas nos contextos laboratorial e aquícola do centro de investigação.

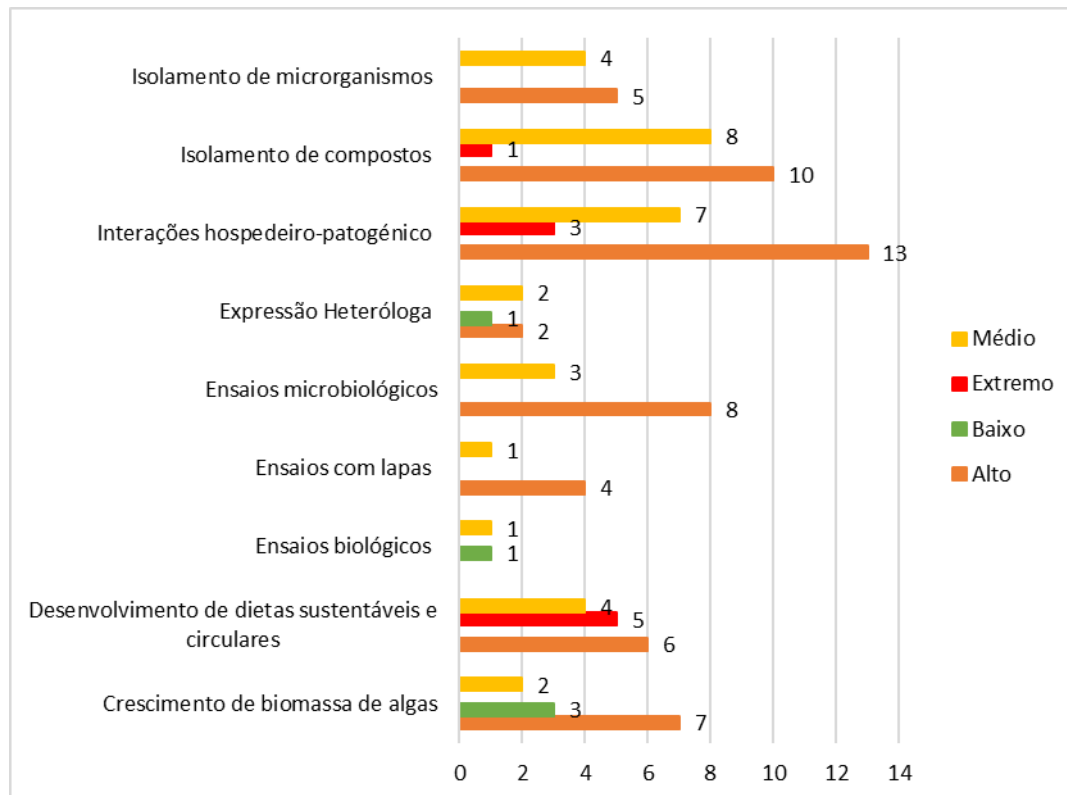


Figura 137 - NR identificados nos processos - Método HIRADC

4.5 Tratamento do risco

O tratamento do risco desenvolvido seguiu os princípios estabelecidos na ISO 31000:2018, assegurando que as ações propostas fossem proporcionais aos níveis de risco identificados e adequadas à realidade operacional dos laboratórios do CIIMAR. Após a identificação e avaliação dos perigos, foram definidas medidas de controlo adicionais, a estratégia de resposta, os responsáveis pela implementação e o respetivo horizonte temporal.

As medidas propostas incorporam diferentes níveis da hierarquia da prevenção, incluindo eliminação ou substituição do perigo, controlos de engenharia, controlos administrativos e o reforço do uso de EPI. Entre as medidas sugeridas destacam-se ações relacionadas com a substituição de materiais frágeis, instalação de proteções físicas, reforço da sinalização, melhoria do armazenamento e transporte de cargas, introdução de barreiras térmicas e elétricas, reorganização dos espaços laboratoriais, implementação de *checklists* e rotinas de manutenção, formalização de procedimentos específicos e realização de formação dirigida.

As medidas propostas foram estruturadas de acordo com a hierarquia da prevenção, garantindo que as ações definidas refletem as prioridades internacionalmente reconhecidas na gestão do risco ocupacional. Esta hierarquia estabelece que os perigos devem ser eliminados sempre que possível; quando tal não é viável, devem ser substituídos, controlados na fonte através de soluções de engenharia, complementados por controlos administrativos e, apenas em último recurso, mitigados através da EPI. A aplicação deste princípio orientador foi determinante para organizar as medidas propostas para o CIIMAR, assegurando que a intervenção atua preferencialmente na origem do risco e não apenas sobre o trabalhador.

Assim, diversas medidas apontam para eliminação ou substituição do perigo, como a substituição de materiais frágeis (ex.: troca de pipetas de vidro por equivalentes em plástico), a redução do volume dos balões de cultivo para diminuir o risco de queda e de rotura, ou a substituição de superfícies cortantes por materiais com arestas menos agressivas. Estas ações respondem diretamente aos perigos identificados e procuram reduzir a probabilidade de ocorrência do evento antes que este se manifeste no ambiente de trabalho.

Foi igualmente integrada uma componente relevante de controlos de engenharia, considerada a segunda linha de defesa mais eficaz. Entre estes incluem-se a colocação de proteções físicas em portas localizadas em zonas de desnível, instalação de barreiras térmicas em superfícies quentes ou criogénicas, revestimentos antiderrapantes em escadas e zonas húmidas, reorganização do espaço para evitar posturas instáveis durante a manipulação de material em altura, e melhoria da infraestrutura elétrica em contextos onde existe proximidade entre água e sistemas energizados. Estas medidas atuam diretamente no ambiente físico, modificando as condições de trabalho e reduzindo significativamente a probabilidade de acidentes graves.

Os controlos administrativos constituem uma dimensão igualmente essencial e incluem a criação e formalização de procedimentos operacionais, utilização de *checklists* para verificação sistemática do estado de equipamentos e materiais, definição de rotinas de inspeção periódica, limitação de acesso a áreas críticas, melhoria dos métodos de armazenamento e transporte de cargas, bem como a organização

do espaço para garantir fluidez e segurança nos movimentos. A integração destes elementos visa reduzir a exposição ao perigo através da normalização das práticas de trabalho e do reforço da cultura de segurança.

Por fim, foi também contemplado o reforço do uso adequado de EPI, como luvas térmicas ou criogénicas, calçado antiderrapante, óculos de proteção, proteção mecânica para corte e sistemas de contenção específicos para o manuseamento de bisturis e agulhas. Embora o EPI represente a última barreira de proteção segundo a hierarquia da prevenção, ele permanece uma componente indispensável, sobretudo em tarefas com perigos inevitáveis ou em contextos onde o risco não pode ser totalmente eliminado por outras vias.

Em conjunto, estas medidas asseguram uma abordagem integrada e coerente com os referenciais técnicos de SST, atuando simultaneamente sobre os perigos identificados, os comportamentos dos trabalhadores e as condições do ambiente físico. Desta forma, o tratamento do risco proposto não apenas responde aos riscos imediatos, como contribui para a consolidação de uma cultura de segurança mais madura, consistente e sustentável no CIIMAR.

A priorização das medidas foi estabelecida com base em critérios de severidade, viabilidade técnica e complexidade financeira, resultando em três categorias de implementação: curto, médio e longo prazo. Os riscos associados a queimaduras, eletrocussão, cortes perfurantes e quedas foram enquadrados com prioridade curta, dado o seu potencial de causar lesões graves e a facilidade de aplicação das medidas correspondentes. Os riscos dependentes de intervenções estruturais, como requalificação de escadas, reorganização de áreas de armazenamento ou aquisição de equipamentos, foram classificados como de médio ou longo prazo.

Deste modo, na Tabela 8 estão presentes 2 exemplos de como foi realizado o tratamento do risco.

A integração destes elementos permitiu estruturar um conjunto de medidas de tratamento alinhadas com os perigos identificados, garantindo que para cada risco existe um plano de ação claro, fundamentado e operacionalizável, refletindo diretamente os resultados obtidos nas diferentes metodologias de avaliação aplicadas (WTF, NTP 330, MIAR e HIRADC).

Tabela 8 - Exemplos do tratamento do risco realizado

Medidas de Controlo (adicionais)	Estratégias de resposta	Estratégia de implementação	Priorização das Medidas	Pessoa designada	Data para implementação
– Barreiras térmicas adicionais; – Suporte para arrefecimento; – Procedimento padronizado; – Formação prática.	Controlo de engenharia (suportes de arrefecimento) + Controlo administrativo (procedimentos + formação) + EPI (luvas térmicas).	1. Identificar locais adequados para instalação dos suportes; 2. Solicitar orçamento às Infraestruturas; 3. Atualizar instrução de trabalho “Operação de Autoclave”; 4. Agendar formação com QAS; 5. Avaliar eficácia ao fim de 3 meses.	Curto Prazo	Gab. QAS + Infraestruturas	1-3 meses
– Aquisição de máquina de lavar vidro laboratoriais; – Proibição de lavagem manual de frascos danificados; – Implementação de <i>checklists</i> de pré-lavagem; – Formação sobre inspeção de fissuras; – Contentores rígidos para transporte seguro para a lavagem.	Substituição (lavagem automática) + Engenharia (contentores) + EPI + administrativo.	1. Avaliação financeira para compra da máquina; 2. Aquisição e instalação; 3. Atualização do procedimento “Lavagem de Material”; 4. Formação rápida; 5. Auditoria após 3 meses.	Médio Prazo	Gab. QAS + Infraestruturas	3–9 meses

5 DISCUSSÃO

A análise dos perigos identificados através do método WTF permitiu evidenciar padrões sobre a natureza dos agentes perigosos presentes nos diferentes processos laboratoriais, bem como compreender a forma estes se distribuem pelos respetivos subprocessos e tarefas. Embora o método tende a classificar a maioria das tarefas como de risco baixo, a estrutura e frequência dos perigos identificados demonstram que a criticidade está fortemente associada às características específicas de cada operação e às variáveis consideradas na valoração, nomeadamente a gravidade potencial, a exposição e a eficácia das medidas de controlo existentes.

De forma transversal, verificou-se uma predominância de perigos de natureza física, sobretudo associados ao uso de equipamentos laboratoriais, ao manuseamento de materiais de vidro, à presença de fontes de calor e às superfícies instáveis ou escorregadias. Estes perigos manifestaram-se sobretudo em subprocessos que envolvem manipulação térmica, pressão, fragilidade dos materiais ou movimentos que exigem esforço físico acrescido. Um dos exemplos particularmente recorrente corresponde ao subprocesso de autoclavagem, nomeadamente na tarefa de retirar frascos e recipientes quentes do interior da autoclave. O perigo de queimadura associado a esta tarefa resulta da conjugação entre a elevada temperatura do equipamento e a manipulação manual de recipientes aquecidos. Apesar de o WTF atribuir frequentemente valores baixos a este tipo de situação, tal desvalorização decorre mais da perceção de baixa frequência do acidente do que da ausência de gravidade, sendo esta última elevada devido à energia térmica envolvida.

De modo semelhante, os perigos associados ao manuseamento de vidro surgem em diversos subprocessos, nomeadamente na preparação e manipulação de meios de cultura, na inoculação e no transporte de recipientes. A fragilidade intrínseca do material, combinada com movimentos repetitivos ou com a presença de líquidos quentes no seu interior, aumenta a probabilidade de projeção ou corte, justificando a sua ocorrência em diferentes tarefas e processos. A valoração WTF tende a considerar o risco baixo, mas tal resulta da elevada eficácia dos controlos existentes (luvas, pinças, procedimentos de manipulação), que reduzem a probabilidade de acidente, e não da ausência de gravidade.

A ocorrência de perigos relacionados com o acesso a material em altura foi igualmente identificada em diversos processos, particularmente nos associados ao isolamento de compostos e microrganismos. Nas tarefas que exigem recorrer a escadas ou bancos para aceder a prateleiras superiores, o perigo predominante é a queda de objetos ou o impacto direto do trabalhador. Esta situação emerge não só pela altura, mas também pelas condições de estabilidade associadas ao movimento de braços em extensão, o que afeta a probabilidade de perda de equilíbrio. A justificação da valoração WTF, tendencialmente baixa, decorre da perceção de que estas tarefas são pontuais ou de curta duração, embora o potencial impacto seja significativo.

Nos processos relacionados com organismos aquáticos, como “Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares” e “Interações hospedeiro-patogénico”, os perigos identificados resultam sobretudo de superfícies húmidas e escorregadias, presentes em subprocessos onde se realizam tarefas com transporte manual de recipientes com água ou manipulação de peixes vivos. A probabilidade de queda ao mesmo nível é elevada sempre que o trabalhador se desloca com cargas volumosas e baixa visibilidade do piso, sobretudo quando o laboratório se encontra em funcionamento simultâneo. O risco elétrico, ainda que

frequentemente valorizado como baixo pelo WTF, emerge em tarefas onde equipamentos elétricos são utilizados na proximidade de pontos de água, situação que potencializa a gravidade da consequência, mesmo que a probabilidade atribuída não seja elevada.

Comparando os processos laboratoriais analisados, verificou-se que “Ensaio com lapas” e “Interações hospedeiro-patogénico” apresentam uma maior diversidade e concentração de perigos. Em ambos, os subprocessos incluem tarefas que combinam várias condições adversas, como manipulação de objetos cortantes, transporte de recipientes pesados, circulação sobre superfícies molhadas e utilização de equipamentos elétricos em ambiente húmido. Esta combinação de fatores aumenta simultaneamente a probabilidade e a gravidade de potenciais acidentes, o que justifica o maior número de perigos identificados nestes contextos, mesmo quando a classificação WTF permanece tendencialmente baixa.

Em contraste, processos como “Ensaio biológico” ou determinadas etapas do “Crescimento de biomassa de algas” revelaram uma menor variedade de perigos, sobretudo porque os respetivos subprocessos integram tarefas mais simples, com menor manipulação de materiais frágeis e reduzida interação com fontes de calor, pressão ou superfícies instáveis. Estas tarefas apresentam normalmente curta duração e menor complexidade técnica, o que explica a menor criticidade atribuída pelo método.

De forma geral, os perigos mais relevantes identificados correspondem às tarefas onde coexistem temperaturas extremas, materiais frágeis como o vidro, contacto com água e equipamentos elétricos, superfícies escorregadias ou transporte de recipientes volumosos.

Os NI do método NTP 330 foram calculados a partir dos parâmetros de Nível de Deficiência (ND), Nível de Exposição (NE), Nível de Probabilidade (NP) e Nível de Severidade (NS), os quais convergem para a determinação do Nível de Intervenção (NI). Assim, apenas os perigos classificados nos níveis I (Extremo), II (Muito elevado) e III (Elevado) foram considerados críticos, enquanto os níveis IV (Médio) e V (Baixo) representam perigos de menor relevância em termos de necessidade de ação imediata.

Nos processos analisados, os perigos mais relevantes foram observados principalmente em subprocessos associados a atividades fisicamente exigentes, manipulação de materiais frágeis ou operações realizadas em condições ambientais desfavoráveis. Um dos casos mais evidentes ocorreu no processo “Isolamento de microrganismos”, no subprocesso “Micromanipulação”, onde tarefas como “Separação de células ou filamentos” ou “Aceder a material localizado em altura” atingiram níveis de intervenção III e II, respetivamente devido à combinação entre um ND elevado, uma exposição frequente e uma severidade moderada a alta, particularmente quando existe risco de queda de material ou impacto direto.

Situação semelhante foi observada em processos associados a ambientes húmidos, como “Interações hospedeiro-patogénico” e “Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares”. No subprocesso de manuseamento de água e peixes, tarefas como subir as escadas com recipientes, transporte de recipientes com água ou monitorização do nível da água apresentaram NI III ou II, traduzindo a conjugação entre o ND elevado, NE também elevado e NS significativo, uma vez que quedas em ambiente molhado apresentam gravidade considerável. Estes valores sustentam a classificação destas tarefas como perigos críticos, necessitando de intervenção preferencial.

Além disso, tarefas que envolvem acesso a material em altura, como aceder a material de laboratório em altura (falcons, placas de petri, pipetas), registaram NI II devido ao risco de queda de objetos e à adoção de posturas instáveis, particularmente em processos como isolamento de compostos e isolamento de microbiológicos. Nestes casos, o NR manteve-se consistentemente elevado, uma vez que a condição de risco está intrinsecamente associada à própria configuração da infraestrutura (prateleiras altas) e não depende apenas do comportamento individual do trabalhador.

No caso de a tarefa “Escrever no computador”, o NI I atribuído pelo NTP 330 não está relacionado com o ato de escrita, mas sim com o perigo identificado no evento desencadeador. Para aceder ao posto de trabalho, o trabalhador é obrigado a passar por uma porta situada em altura e desprovida de qualquer sistema de proteção, o que cria um risco imediato de queda com severidade elevada. A combinação entre a ausência de medidas de controlo, a exposição diária e a gravidade potencial da queda justificaram a classificação de intervenção máxima atribuída pelo método.

Em contraste, verificou-se que um conjunto significativo de perigos exibiu níveis de intervenção IV (Médio) ou V (Baixo), sendo considerados menos relevantes para intervenção imediata. É o caso do perigo “Autoclave”, identificado na tarefa de autoclavar frascos, que no método NTP 330 foi classificado como NI IV, refletindo a existência de controlos eficazes, como o uso de luvas térmicas e procedimentos estabelecidos de manuseamento, e uma probabilidade relativamente baixa de acidente. Apesar de envolver uma fonte térmica significativa, a presença de medidas implementadas reduz substancialmente o ND, o que explica a classificação moderada e impede que o perigo seja considerado crítico. O mesmo se verificou para tarefas como lavar material de vidro, perigos associados foram classificados como NI IV, devido à curta duração, à baixa severidade potencial e à eficácia das medidas preventivas já existentes.

De forma geral, os resultados obtidos evidenciam que os perigos mais críticos segundo o NTP 330 são aqueles em que se observa simultaneamente: (i) deficiência nos controlos existentes, (ii) exposição frequente ao perigo, e (iii) severidade elevada caso ocorra um acidente.

A aplicação do método MIAR aos diferentes processos permitiu calcular valores de NR que variaram entre 1 e 64, refletindo combinações distintas de gravidade, impacto, frequência e eficácia das medidas de controlo. A classificação final distribuiu os riscos por três níveis de priorização — baixo (Nível 1), médio (Nível 2) e elevado (Nível 3) — não tendo sido registadas ocorrências nos níveis superiores (Muito Elevado – Nível 4 ou Extremo – Nível 5). A leitura conjunta dos valores do NR e dos respetivos níveis de priorização evidencia diferenças claras na distribuição dos riscos entre processos, subprocessos e tarefas, demonstrando que alguns perigos assumem maior relevância dentro da escala de avaliação proposta pelo MIAR.

Os valores mais elevados de NR= 64 foram observados em dois cenários distintos, ambos associados ao perigo “Porta”. No processo “Interações hospedeiro-patogénico”, no subprocesso “Inoculação experimental com a bactéria – Preparação da bactéria”, a tarefa “Aceder a material localizado em altura” apresenta NR= 64, uma vez que o evento desencadeador descreve a possibilidade de queda do trabalhador ao aceder a material, ao atravessar uma zona com porta sem proteção adequada. Situação semelhante ocorre no processo “Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares”, no subprocesso “Parte escrita”, onde a tarefa “Escrever no computador” surge igualmente com NR = 64, novamente associada ao perigo “Porta” e ao evento desencadeador que descreve a passagem por uma porta sem proteção, situada junto a

um desnível em altura, para aceder ao posto de trabalho. Em ambos os casos, o valor elevado do NR reflete uma combinação de gravidade potencial elevada, devido ao risco de queda em altura, e de exposição diária, já que o trabalhador é obrigado a atravessar esse ponto.

Logo abaixo deste valor, surgem situações com NR = 40, que indicam igualmente perigos com relevância operacional. No processo “Isolamento de compostos”, no subprocesso “Extração de compostos”, a tarefa “Armazenamento de produtos inflamáveis” apresenta NR= 40, associado ao perigo “Local de armazenamento”. Este valor indica que a combinação entre a presença de substâncias inflamáveis e as condições de armazenamento identificadas no evento desencadeador foram consideradas suficientemente críticas para elevar o risco, mesmo que a priorização final se mantenha baixa. De forma semelhante, no processo “Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares”, na “Receção e preparação dos peixes para a quarentena”, a tarefa associada ao perigo “Piso molhado” atinge também NR= 40, refletindo o risco de escorregamento durante a movimentação de animais e recipientes com água, num contexto em que a humidade do pavimento é uma condição recorrente.

Os perigos com níveis de risco intermédios mais elevados (24 e 20) concentram-se maioritariamente em tarefas que envolvem materiais em altura, superfícies escorregadias, resistência elétrica e rochas. No processo “Isolamento de compostos”, o NR = 24 aparece, por exemplo, em tarefas de inoculação associadas ao perigo “Material de vidro (balões de cultivo e nalgens)”, onde o evento desencadeador descreve o risco de queda de recipientes de vidro durante a manipulação em altura. No processo “Isolamento de microrganismos”, surge igualmente NR= 24 na preparação de meios, associado a “Material de laboratório em altura (placas de petri, pipetas, etc.)”, reforçando a ideia de que a combinação entre trabalho em altura e material frágil é sistematicamente valorizada como mais crítica pelo método. No contexto da aquacultura, no processo “Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares”, o perigo “Resistência elétrica” atinge também NR= 24, em tarefas onde o evento desencadeador descreve a possibilidade de sobreaquecimento ou falha elétrica em sistemas de aquecimento associados a água, enquanto nos “Ensaaios com lapas”, as “Rochas” surgem com o mesmo NR, devido ao contacto com superfícies irregulares e escorregadias durante a amostragem.

Os valores de NR= 20 e 16 surgem sobretudo em tarefas associadas a pisos molhados, escadas e objetos cortantes. No processo “Interações hospedeiro-patogénico”, tarefas como “Colocação dos peixes em quarentena” (perigo “Piso molhado”) e “Subir as escadas” (perigo “Escadas”) apresentam NR= 20, traduzindo uma combinação desfavorável entre a frequência e a gravidade potencial de uma queda em ambiente húmido. No processo “Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares”, surgem ainda NR= 16 em tarefas associadas ao transporte de peixes e ao corte de pedaços de peixe congelado, ligadas aos perigos “Piso molhado” e “Objetos cortantes (facas/tesouras)”, respetivamente, em que o risco resulta do manuseamento de animais, superfícies escorregadias e uso de instrumentos cortantes.

Em contraste, os NR mais baixos (1, 2, 3 e 4) surgem sobretudo associados a tarefas em que o perigo está mais controlado ou em que o evento desencadeador descreve situações com probabilidade e gravidade relativamente reduzidas. É o caso, por exemplo, da preparação de seringas com heparina no processo “Interações hospedeiro-patogénico”, onde o perigo “Seringa com agulha” surge com NR= 1, indicando que a conjugação entre as medidas de prevenção implementadas (como a utilização de proteção na

agulha) e a forma como a tarefa é realizada reduz significativamente o risco. Do mesmo modo, tarefas como a “Colocação de cola nos tubos de PVC” (perigo “Cola”) ou a manipulação pontual de equipamentos elétricos e ferramentas em condições mais controladas apresentam níveis de risco baixos (entre 1 e 4), traduzindo cenários em que a gravidade ou a probabilidade foram avaliadas como moderadas e os sistemas de prevenção e controlo considerados eficazes.

A análise dos níveis de priorização do MIAR mostrou que a maioria das situações avaliadas se encontra nos níveis Baixo e Médio, com a presença de um número reduzido de riscos classificados como elevado. Estes riscos de nível superior distribuem-se por um conjunto limitado de processos, nomeadamente Interações hospedeiro–patogénico, Isolamento de compostos, Crescimento de biomassa de algas e Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares, que representam os contextos em que o método MIAR identificou maior prioridade de intervenção relativa. Nos restantes processos, a classificação dos riscos ocorreu exclusivamente nos níveis Baixo e Médio.

A aplicação do método HIRADC permitiu identificar e diferenciar de forma clara os perigos mais críticos associados aos processos laboratoriais, atribuindo níveis de risco que variaram entre Baixo, Médio, Elevado/Alto e Extremo. Este método, ao considerar a natureza do perigo, a probabilidade de ocorrência e a eficácia dos controlos existentes, demonstrou uma capacidade discriminativa superior, destacando com precisão as tarefas em que a combinação entre o perigo e o contexto operacional gera riscos significativos para os trabalhadores.

Os perigos classificados como Extremo, correspondendo ao nível máximo de criticidade no método, concentraram-se em tarefas onde as condições de trabalho envolvem perigos intrínsecos elevados e controlos insuficientes. Um dos exemplos mais evidentes surge no processo Interações hospedeiro–patogénico, onde a tarefa Aceder à porta de acesso foi classificada como Extremo, associada ao perigo “Porta”. O evento desencadeador descreve a existência de uma porta posicionada junto a um desnível sem qualquer proteção, o que expõe o trabalhador a um risco imediato de queda em altura sempre que acede ao espaço. Esta condição particular, irreversível pela própria configuração física do local, elevou significativamente a gravidade e a probabilidade do acidente, justificando a classificação máxima do HIRADC.

Outro conjunto de perigos relevantes diz respeito às situações classificadas como Elevado/Alto, que incluem tarefas com riscos significativos relacionados com a manipulação de materiais frágeis, deslocação sobre superfícies instáveis ou contacto com sistemas pressurizados. No processo Isolamento de compostos, tarefas como Separação de células ou filamentos, associadas aos perigos “Pipeta de vidro/lâminas” e “Lâmina de bisturi”, apresentaram riscos elevados devido à combinação entre a necessidade de movimentos de precisão, fragilidade dos instrumentos e probabilidade de contacto accidental com arestas cortantes. A ausência de controlos adicionais específicos, para além do uso de EPI, contribuiu para o aumento do nível de risco.

Ainda dentro dos perigos classificados como elevados, destacam-se também várias tarefas relacionadas com trabalho em altura, especialmente nos processos Isolamento de microrganismos e Ensaios microbiológicos. Tarefas como “Aceder a material de laboratório em altura” (falcons, placas de petri, pipetas) ou “Aceder a material de vidro em altura” foram classificadas como Elevado/Alto devido ao risco de queda de objetos ou impacto direto do trabalhador. A utilização de escadas ou bancos, aliada à

necessidade frequente de alcançar prateleiras elevadas, contribui para um aumento da probabilidade de acidente, evidenciando uma falha estrutural ao nível dos controlos coletivos, que se limitam muitas vezes ao uso de mobiliário básico.

Além disso, observou-se que várias tarefas associadas ao contacto com superfícies escorregadias foram igualmente classificadas como risco elevado. No processo Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares, tarefas como Subir as escadas ou Transporte de recipientes com água apresentaram este nível de risco devido à presença recorrente de “Piso molhado”. A combinação entre humidade, exigência física e necessidade de transporte manual de cargas aumentou a probabilidade de queda, justificando a classificação elevada atribuída pelo método. No processo Alterações globais e serviços dos ecossistemas, tarefas como Colocar balões na fitoclíma e Retirar balões da fitoclíma, associadas simultaneamente aos perigos “Balões de cultivo de vidro” e “Piso molhado”, também foram classificadas como risco elevado, reforçando a relevância dos perigos decorrentes da instabilidade do pavimento.

Por outro lado, os perigos classificados como médio surgem em tarefas que, embora envolvam agentes perigosos ou condições físicas adversas, beneficiam de controlos eficazes ou apresentam probabilidade reduzida de acidente grave. Este foi o caso de tarefas como Retirar material da autoclave (perigo “Vidro quente”) ou Utilização da CSB (perigo “Vidro da CSB”), que, apesar de envolverem superfícies quentes ou estruturas frágeis, se realizam com procedimentos bem estabelecidos e em ambientes controlados, reduzindo o nível global de risco.

Finalmente, os perigos classificados como Baixo foram observados sobretudo em tarefas com interações simples, realizadas sob condições estáveis e com elevada eficácia dos controlos implementados. Exemplos incluem tarefas de lavagem de material, em que o perigo “Vidro” foi considerado de baixa criticidade, bem como situações pontuais de manipulação de objetos de baixo risco. Nestes casos, a combinação entre baixa gravidade, probabilidade reduzida e controlos eficazes justifica a classificação obtida.

Em síntese, o método HIRADC permitiu distinguir com elevada precisão os perigos mais críticos, associados sobretudo a trabalho em altura sem proteção, piso molhado, manuseamento de materiais cortantes ou frágeis, sistemas elétricos em contacto com água, e deslocação em ambientes instáveis. Os perigos menos relevantes encontram-se, pelo contrário, em operações rotineiras, de baixa exigência técnica e em ambientes bem controlados.

A análise conjunta dos riscos identificados nos quatro métodos aplicados permitiu evidenciar padrões quanto à forma como os diferentes perigos se transformam em cenários de risco e às possíveis consequências para os trabalhadores. Embora cada método utilize escalas e critérios distintos, todos convergem na caracterização dos riscos mais críticos, que se concentram em tarefas fisicamente exigentes, realizadas em ambientes instáveis e envolvendo materiais ou equipamentos que amplificam a severidade potencial do acidente.

Os riscos mais elevados foram sistematicamente associados a situações que envolvem queda em altura, pisos molhados, manipulação de vidro, interação com equipamentos elétricos junto a fontes de água, trabalho com instrumentos cortantes ou perfurantes, e contacto com superfícies muito quentes. Estes cenários surgem tanto em processos laboratoriais, como Isolamento de compostos, Isolamento de

microrganismos e Ensaios microbiológicos, como também, em processos relacionados com aquacultura e manutenção de organismos vivos, nomeadamente Interações hospedeiro–patogénico e Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares. Em todos estes casos, a conjugação entre condições ambientais desfavoráveis, a exigência física das tarefas e a ausência de controlos coletivos robustos levou a classificações de risco mais elevadas, sobretudo nos métodos NTP 330 e HIRADC.

A queda em altura destacou-se como um dos riscos mais críticos, transversalmente valorizado pelos métodos mais sensíveis. Esta situação ocorreu em tarefas onde o trabalhador necessita de aceder a material armazenado em prateleiras elevadas ou atravessar zonas com desnível sem proteção, como verificado na tarefa de aceder ao posto de trabalho através de uma porta situada junto a um desnível. Nestes casos, as consequências potenciais incluem traumatismos, fraturas e lesões graves, justificando a atribuição de níveis de risco extremo ou elevado pelos métodos NTP 330 e HIRADC.

Por sua vez, o risco associado a pisos molhados foi recorrente nos processos com contacto direto com água, como Interações hospedeiro–patogénico, Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares e Alterações globais e serviços dos ecossistemas. Nestes subprocessos, tarefas como transporte de recipientes com água, subida de escadas molhadas ou manipulação de organismos em tanques aumentaram de forma significativa a probabilidade de queda ao mesmo nível. As consequências mais prováveis incluem entorses, contusões, impactos no tronco ou membros inferiores e, em casos mais graves, fraturas resultantes da perda brusca de equilíbrio. Tanto o NTP 330 como o HIRADC atribuíram classificações elevadas a estas situações, refletindo a combinação entre frequente exposição e severidade moderada a alta.

A manipulação de vidro, incluindo frascos, tubos ou balões utilizados em procedimentos laboratoriais, foi identificada como um perigo transversal pelos diferentes métodos, embora com classificações distintas. O NTP 330 atribuiu frequentemente níveis de intervenção mais elevados a este tipo de tarefa, refletindo a fragilidade do material e o potencial de corte ou impacto. No caso do MIAR, os riscos associados a operações envolvendo vidro foram predominantemente classificados nos níveis Baixo e Médio, não tendo sido atribuídas classificações de nível Elevado de forma sistemática a estas tarefas. Ainda assim, os perigos relacionados com quebra, corte ou projeção permanecem presentes nos processos onde existe manipulação de recipientes em vidro, podendo originar lesões como lacerações, cortes ou contusões caso ocorra falha do material.

Outro grupo de riscos críticos compreende aqueles que envolvem a proximidade entre equipamentos elétricos e fontes de água, presentes sobretudo em tarefas de aquacultura e manutenção de sistemas de circulação. Nestes cenários, a severidade potencial de um choque elétrico é elevada, independentemente da frequência, o que levou o NTP 330 e o HIRADC a atribuir níveis elevados de risco. As consequências podem variar entre queimaduras elétricas superficiais e lesões graves que envolvem risco de paragem cardiorrespiratória.

Ainda, riscos associados à manipulação de instrumentos cortantes ou perfurantes, como bisturis, pipetas de vidro ou agulhas, também surgiram como relevantes em vários subprocessos laboratoriais. Estes instrumentos apresentam elevada severidade potencial, dada a possibilidade de corte profundo ou perfuração, e a presença de agentes biológicos nalguns processos reforça a gravidade da consequência, podendo originar infeções, contaminações cruzadas ou feridas potencialmente graves.

Por outro lado, os riscos classificados como moderados concentram-se em situações onde o perigo existe, mas em que a eficácia das medidas preventivas reduz significativamente a probabilidade de um acidente grave. Tarefas como, retirar material da estufa ou manipular superfícies quentes em ambiente controlado apresentaram riscos médios, com consequências tipicamente associadas a queimaduras superficiais ou pequenas lesões térmicas. Ainda assim, estes riscos permanecem relevantes e exigem manutenção rigorosa das práticas de segurança.

Finalmente, os riscos classificados como Baixo foram identificados em diversos processos e tarefas, sendo uma categoria presente em todos os métodos de avaliação aplicados. No método MIAR, esta classe correspondeu à maioria das ocorrências, enquanto os métodos WTF e HIRADC apresentaram igualmente uma proporção relevante de classificações neste nível.

Em síntese, a análise dos riscos e das consequências demonstra que as tarefas mais críticas se concentram em subprocessos com maiores exigências físicas, condições ambientais instáveis ou manipulação de materiais frágeis e potenciais fontes de energia. As consequências associadas variam entre queimaduras, cortes, entorses, quedas, e, em casos específicos, risco elétrico grave. A concordância entre os diferentes métodos utilizados reforça a necessidade de intervenção prioritária nas áreas identificadas, apoiando a implementação de estratégias preventivas dirigidas e fundamentadas.

A análise integrada dos quatro métodos de avaliação de risco aplicados aos processos laboratoriais do CIIMAR revelou um conjunto de padrões que se mostrou coerente com a literatura científica identificada na revisão sistemática. Os perigos identificados ao longo dos processos, maioritariamente físicos e térmicos, coincidiram com os principais tipos de riscos descritos em ambientes de investigação científica e sistemas de aquacultura, evidenciando que a realidade observada no CIIMAR não constitui uma exceção, mas insere-se num quadro mais amplo de desafios de segurança ocupacional em contextos laboratoriais.

Alguns dos estudos analisados salientaram os cortes com vidro e instrumentos perfurantes como uma das causas mais frequentes de incidentes e quase-acidentes em laboratórios. Ackelsberg et al. (2020) e Gui et al. (2022) referem que a manipulação de frascos de vidro, pipetas, lamelas e bisturis, associada à repetição de tarefas de precisão e à fragilidade dos materiais, constitui um risco persistente em ambientes laboratoriais. No CIIMAR, estes perigos foram igualmente identificados nos subprocessos de “Isolamento de microrganismos”, “Isolamento de compostos” e “Ensaio microbiológicos”, onde o contacto frequente com recipientes e utensílios em vidro ocorreu em diversas tarefas. Nos métodos aplicados, estes perigos foram classificados sobretudo nos níveis Baixo e Médio pelo MIAR, enquanto no HIRADC surgiram enquadrados em diferentes níveis de risco consoante a tarefa avaliada. Assim, embora não exista correspondência direta entre os níveis mais elevados dos métodos e os valores referidos na literatura, o reconhecimento deste tipo de perigo em múltiplos subprocessos indica uma consistência geral entre os cenários descritos nos estudos consultados e aqueles observados no contexto laboratorial analisado.

As superfícies quentes e criogénicas constituíram outro núcleo importante de perigos identificados. No CIIMAR, estes perigos surgiram associados à remoção de material da autoclave, ao manuseamento de estufas, ao contacto com arcas ultracongeladoras e à utilização de azoto líquido. Estudos como os de Feng et al. (2020) e Hamilton et al. (2018) descrevem situações análogas, em que queimaduras, choque

térmico, projeção de líquidos e rotura de recipientes devido a variações bruscas de temperatura configuram cenários de risco elevado, muitas vezes com consequências graves, ainda que pouco frequentes. A classificação destas tarefas como de risco alto ou extremo pelo HIRADC e os níveis de intervenção elevados obtidos pelo NTP 330, mostram que, quando considerados simultaneamente gravidade, exposição e desempenho dos controlos, estes perigos assumem um papel central na matriz de risco, tal como defendido pelos autores que estudaram contextos laboratoriais com autoclaves, estufas e sistemas criogénicos.

Do mesmo modo, o piso molhado e as superfícies escorregadias emergiram como perigos críticos nos processos relacionados com a aquacultura e com a manipulação de organismos vivos. Nos processos “Desenvolvimento de dietas sustentáveis e circulares” e “Interações hospedeiro–patogénico”, o transporte de peixes, a movimentação de recipientes com água e a circulação em salas com humidade constante criaram um contexto de risco marcado por possíveis quedas ao mesmo nível, impactos e entorses. Papadopoli et al. (2020) e Salazar-Escoboza et al. (2020) descrevem padrões semelhantes em laboratórios húmidos e biotérios, salientando que este tipo de perigo tende a persistir mesmo quando os trabalhadores estão conscientes do risco, sobretudo se as exigências de produtividade e a informalidade dos procedimentos se sobrepõem à adoção sistemática de medidas de controlo. No CIIMAR, tarefas como “transporte de peixes”, “subir escadas com recipientes de água” e “aceder a portas junto a desníveis sem proteção” foram classificadas nos níveis mais elevados pelos métodos mais sensíveis, traduzindo, na prática, as preocupações identificadas na literatura relativamente a quedas e instabilidade postural em ambientes húmidos.

A interação entre eletricidade e água foi outro ponto de convergência importante entre os dados empíricos e os artigos analisados. Em processos em que se utilizaram resistências elétricas, bombas, sistemas de circulação e iluminação em proximidade com tanques ou linhas de água, o risco de eletrocussão tornou-se particularmente relevante. Hamilton et al. (2018) referem que esta combinação é uma das mais críticas em ambientes de investigação com sistemas aquosos, não apenas pelo risco direto de choque elétrico, mas também pela potencial falha de equipamentos e interrupção de sistemas essenciais. No presente estudo, as tarefas que envolviam este tipo de condições foram classificadas como de risco alto ou extremo pelo HIRADC e surgiram com níveis de intervenção destacados no NTP 330, demonstrando que os métodos mais sensíveis captaram de forma coerente os cenários que a literatura aponta como prioritários.

Para além dos perigos diretamente associados a agentes físicos e térmicos, emergiram também questões de natureza organizacional e comportamental, que a literatura identifica como determinantes para o desempenho em segurança. Vários estudos analisados sublinham que a formação contínua, a normalização documental, a existência de procedimentos escritos acessíveis e a promoção ativa de uma cultura de segurança são fatores-chave para reduzir a probabilidade de incidentes (Papadopoli et al., 2020; Zainal Abidin et al., 2022; Nasrallah et al., 2022). No CIIMAR, embora se tenham observado boas práticas relevantes, como o uso de EPI térmico e criogénico, óculos de proteção, galochas em zonas molhadas e a restrição do uso de luvas junto a chamas abertas — foram igualmente identificadas tarefas classificadas como “sem medidas de prevenção implementadas” ou com dependência quase exclusiva do EPI individual. Esta constatação revela uma fragilidade semelhante à descrita na literatura, em que a proteção individual é muitas vezes utilizada como primeira linha de defesa, em detrimento de medidas de controlo coletivo ou de soluções de engenharia que reduzam o risco na origem.

É neste contexto que o HIRADC se destacou como o método que melhor traduziu a complexidade dos cenários avaliados. Ao permitir a classificação de tarefas em quatro níveis distintos (baixo, médio, alto e extremo), o HIRADC evidenciou uma capacidade discriminativa superior, que foi consistente com os perigos identificados e com as características dos processos. Os artigos que aplicaram o HIRADC em ambientes laboratoriais e experimentais, nomeadamente Athqiya et al. (2019), Santoso et al. (2019) e Kurniawati et al. (2020), relataram resultados semelhantes: o método revelou-se sensível para identificar riscos físicos, térmicos, ergonômicos e biológicos, distinguindo tarefas de rotina de cenários com potencial de dano elevado. Tal como nesses estudos, também no CIIMAR o HIRADC destacou como tarefas de maior criticidade o acesso a materiais em altura sem proteção, a manipulação de superfícies quentes e criogénicas, o transporte e manuseamento de cargas instáveis, o trabalho em pisos molhados e a utilização de equipamentos elétricos em ambiente húmido. Estas tarefas combinavam simultaneamente fatores ambientais desfavoráveis, fragilidade dos materiais, exigência motora e, em alguns casos, exposição concomitante a agentes biológicos, justificando a classificação em níveis altos e extremos.

A coerência entre os resultados empíricos do CIIMAR e os resultados descritos nos estudos que aplicaram o HIRADC não só valida a robustez deste método, como também confirma que os perigos mais relevantes identificados — cortes, queimaduras, escorregamentos, impacto e eletrocussão — são amplamente reconhecidos na literatura como alguns dos riscos de maior expressão em ambientes laboratoriais e de investigação. Ao integrar gravidade, probabilidade e contexto operacional, o HIRADC mostrou-se particularmente eficaz para apoiar a priorização de ações corretivas, permitindo que os recursos disponíveis possam ser direcionados para as tarefas que combinam maior severidade com condições estruturais desfavoráveis.

Quando analisados em conjunto, os quatro métodos proporcionaram uma leitura complementar da realidade operacional. O WTF, embora útil como ferramenta de triagem, evidenciou a limitação de subvalorizar perigos de elevada severidade quando a frequência é considerada baixa, o que pode ser desafiante em ambientes onde um único evento pode conduzir a lesões graves. O NTP 330 destacou, de forma ampla, a necessidade de intervenção em várias tarefas, refletindo a existência de deficiências nos controlos e condições ambientais exigentes; contudo, a predominância de classificações nos níveis III e IV reduziu a capacidade discriminativa entre situações urgentes e prioritárias. O MIAR revelou-se útil na análise quantitativa, ao permitir distinguir riscos classificados nos níveis Baixo, Médio e Elevado, embora a maioria das tarefas se tenha concentrado nos níveis inferiores, limitando a diferenciação entre cenários de maior criticidade. O HIRADC, por sua vez, foi o método que mais se aproximou da variabilidade descrita na literatura, permitindo uma hierarquização alinhada com a diversidade de perigos e probabilidades observadas nos processos e tarefas avaliados.

De forma global, os riscos ocupacionais identificados no CIIMAR, em particular os associados a cortes, queimaduras, quedas, impacto, eletrocussão e esforço físico, refletem de forma clara o que tem sido descrito em estudos nacionais e internacionais sobre laboratórios e unidades de investigação. A convergência entre os resultados dos métodos aplicados, os perigos mapeados e a evidência documental consultada reforça a necessidade de consolidar um sistema de gestão de segurança que vá além da mera utilização de EPI, integrando formação específica, melhoria de infraestruturas, implementação de barreiras físicas, revisão sistemática de procedimentos e monitorização contínua dos riscos.

Neste sentido, os resultados obtidos com o HIRADC, bem como, os restantes métodos não só confirmaram padrões de risco conhecidos, como também forneceram uma base sólida para a definição de prioridades de intervenção no CIIMAR, alinhadas com as recomendações e tendências identificadas na literatura científica contemporânea.

5.1.1 Limitações

Durante a realização desta dissertação, verificaram-se algumas limitações, sobretudo relacionadas com a disponibilidade e uniformidade da informação sobre perigos e riscos laboratoriais. A recolha de dados baseou-se, em parte, em observação direta, o que pode introduzir alguma subjetividade na perceção dos perigos. Verificou-se também uma escassez de estudos específicos sobre avaliação de riscos de acidentes em centros de investigação, o que dificultou a comparação direta com a literatura existente.

Por fim, algumas restrições de acesso a determinadas áreas e subprocessos laboratoriais, nomeadamente na linha de investigação Biologia, Aquacultura e Qualidade da Nutrição condicionaram a observação atempada de todas as atividades.

Ainda assim, as informações obtidas foram representativas e permitiram alcançar os objetivos definidos para este trabalho.

6 CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

6.1 Conclusões

A presente dissertação permitiu desenvolver e aplicar uma ferramenta integrada de gestão do risco de acidente, adaptada aos laboratórios de investigação do CIIMAR, assente na caracterização sistemática dos processos, subprocessos, tarefas e perigos associados às suas atividades. A matriz construída revelou-se um instrumento robusto, capaz de uniformizar critérios de avaliação, reduzir a subjetividade do avaliador e sistematizar informação essencial para a tomada de decisão em segurança e saúde no trabalho. Ao operar segundo os princípios da ISO 31000:2018, a ferramenta garantiu uma abordagem estruturada e alinhada com os modelos internacionais de gestão do risco.

A metodologia adotada incorporou quatro métodos de avaliação, WTF, NTP 330, MIAR e HIRADC, permitindo uma leitura multidimensional dos riscos, com diferentes níveis de sensibilidade e granularidade. Esta diversidade metodológica foi determinante para captar tanto os cenários mais evidentes como as fragilidades latentes que não seriam necessariamente identificadas numa abordagem única. A análise combinada evidenciou que, embora muitos riscos se situem em níveis baixos ou moderados, persistem tarefas e subprocessos que requerem uma atenção reforçada, sobretudo aqueles que envolvem superfícies térmicas, criogenia, autoclaves, proximidade entre água e eletricidade, manipulação de vidro e acesso a materiais em altura.

Relativamente aos subprocessos e tarefas analisados, verificou-se que os diferentes métodos atribuíram níveis de criticidade distintos, refletindo a diversidade operacional dos contextos laboratoriais e aquícolas do centro de investigação. Os processos com maior número de classificações superiores foram identificados sobretudo pelos métodos NTP 330 e HIRADC, que concentraram classificações nos níveis elevados das respetivas escalas. Estes métodos destacaram subprocessos específicos como mais exigentes em termos de controlo, enquanto o método MIAR distribuiu os riscos entre os níveis Baixo, Médio e Elevado, com predominância das duas classes inferiores.

No que diz respeito aos perigos e riscos identificados, observou-se que vários perigos físicos foram recorrentes nos diferentes processos avaliados. Independentemente do método aplicado, verificaram-se classificações mais elevadas em tarefas que envolvem manipulação de equipamentos, contacto com superfícies quentes, movimentação de materiais, operações em proximidade com água ou atividades que requerem precisão técnica. Os métodos com maior sensibilidade discriminativa, NTP 330 e HIRADC, atribuíram classificações em níveis superiores a um conjunto mais alargado de cenários, enquanto o MIAR e o WTF apresentaram distribuições mais concentradas nos níveis inferiores das respetivas escalas.

A comparação entre os quatro métodos evidenciou que cada um acrescentou valor de forma distinta ao processo de avaliação:

- O WTF mostrou-se útil para contextualizar o risco em função da frequência, embora apresente limitações na identificação de cenários de maior severidade.
- O NTP 330 destacou-se na priorização de intervenções, permitindo identificar subprocessos onde a necessidade de medidas corretivas é mais evidente.

-
- O MIAR forneceu uma base numérica estruturada, distinguindo três níveis de priorização e contribuindo para a caracterização quantitativa dos riscos.
 - O HIRADC demonstrou a maior capacidade discriminativa, permitindo relacionar de forma direta os perigos, tarefas e medidas preventivas e identificar com precisão os riscos mais significativos.

A integração dos métodos mostrou que uma abordagem multidimensional é essencial para captar não só os fatores de risco inerentes às tarefas, mas também as fragilidades de natureza estrutural e organizacional. Através desta análise integrada foi possível evidenciar fragilidades como: ausência de documentação formal padronizada, inconsistência de algumas práticas de controlo entre laboratórios, falta de uniformização de procedimentos, dependência excessiva do EPI e comunicação interna heterogênea. Estes aspetos, também amplamente referidos na literatura, reforçam a necessidade de consolidar uma cultura de segurança centrada na prevenção, planeamento e melhoria contínua.

Os resultados revelam, assim, que a construção de um sistema de gestão do risco verdadeiramente robusto exige mais do que a implementação de medidas imediatas ou a utilização isolada de EPI. Desta forma, é necessário um conjunto articulado de práticas, incluindo: normalização documental, revisão contínua de procedimentos, formação técnica direcionada e periódica, reforço dos controlos de engenharia, inspeções internas regulares e mecanismos de monitorização capazes de detetar fragilidades emergentes. A adoção destas medidas permitirá fortalecer a cultura de segurança institucional, reduzir variações entre laboratórios e prevenir incidentes associados aos perigos mais prevalentes.

De forma global, este estudo confirma a pertinência de um modelo de avaliação de risco alinhado com a ISO 31000:2018 e demonstra que a ferramenta desenvolvida constitui um contributo significativo para a prática de SST no CIIMAR. Para além de oferecer um modelo replicável e adaptável, a ferramenta promove uma visão integrada e preventiva, essencial para a proteção da saúde e segurança dos trabalhadores e para a melhoria contínua das práticas institucionais.

Para além dos resultados aqui apresentados, este trabalho estabeleceu uma base estruturada para a consolidação futura da segurança no CIIMAR. A metodologia desenvolvida poderá ser aprofundada através do alargamento da análise a outros tipos de perigos menos explorados, bem como do acompanhamento longitudinal da eficácia das medidas implementadas. O fortalecimento contínuo da avaliação de risco, complementado por indicadores específicos e processos de monitorização sistemática, permitirá transformar esta ferramenta num elemento permanente de suporte à decisão. Assim, esta dissertação não se limitou a identificar riscos, mas contribui para a construção de um modelo preventivo mais maduro, consistente e alinhado com as exigências contemporâneas dos ambientes de investigação científica.

6.1.1 Perspetivas Futuras

No futuro, espera-se que seja possível adaptar um método à realidade específica do processo produtivo, que permitirá reforçar a capacidade de identificação e controlo dos riscos, contribuindo para a melhoria contínua da gestão preventiva e para o fortalecimento sustentado da cultura de segurança no âmbito da investigação científica.

7 BIBLIOGRAFIA

- Ackelsberg, J., Liddicoat, A., Burke, T., Szymczak, W. A., Levi, M. H., Ostrowsky, B., Hamula, C., Patel, G., Kopetz, V., Saverimuttu, J., Sordillo, E. M., D'Souza, D., Mitchell, E. A., Lowe, W., Khare, R., Tang, Y.-W., Bianchi, A. L., Egan, C., Perry, M. J., ... Layton, M. (2020). Brucella Exposure Risk Events in 10 Clinical Laboratories, New York City, USA, 2015 to 2017. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(9). <https://doi.org/10.1128/JCM>
- ACT. (2023). *Listas de verificação*. https://portal.act.gov.pt/Pages/Listas_verificacao.aspx
- ACT. (2025). *Acidentes de trabalho - inquéritos*. <https://portal.act.gov.pt/Pages/acidentes-trabalho-inqueritos.aspx>
- Ahmed, T., Jahanzaib, M., Ali, M. A., Raza, M. H., Jawad, M., & Zahoor, S. (2024). Safety climate in Pakistani universities' laboratories: an assessment of individual factors. *International Journal of Occupational Safety and Ergonomics*, 30(2), 330–342. <https://doi.org/10.1080/10803548.2023.2298138>
- Albiger, B., Revez, J., Leitmeyer, K. C., & Struelens, M. J. (2018). Networking of Public Health Microbiology Laboratories Bolsters Europe's Defenses against Infectious Diseases. *Frontiers in Public Health*, 6. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2018.00046>
- Alshammari, W., Alhussain, H., & Rizk, N. M. (2021). Risk management assessments and recommendations among students, staffs, and health care workers in educational biomedical laboratories. *Risk Management and Healthcare Policy*, 14, 185–198. <https://doi.org/10.2147/RMHP.S278162>
- Amin, M. Al, Pasha, M. H., Hoque, M. N., Siddiki, A. Z., Saha, S., & Kamal, M. M. (2022). Methodology for laboratory-based antimicrobial resistance surveillance in animals. In *Veterinary World* (Vol. 15, Issue 4, pp. 1066–1079). Veterinary World. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.1066-1079>
- APA. (2024). *Produção e Gestão de Resíduos | Agência Portuguesa do Ambiente*. Produção e Gestão de Resíduos | Agência Portuguesa do Ambiente
- APA. (2025). *Resíduos Perigosos | Agência Portuguesa do Ambiente*. Resíduos Perigosos | Agência Portuguesa do Ambiente
- Arnolds, K. L., Higgins, R. C., Crandall, J., Li, G., Linger, J. G., & Guarnieri, M. T. (2024). Risk Assessment of Industrial Microbes Using a Terrestrial Mesocosm Platform. *Microbial Ecology*, 87(1). <https://doi.org/10.1007/s00248-023-02321-8>
- Athqiya, A. A., Haqi, D. N., Alayyannur, P. A., Paskarini, I., & Sugiharto, F. M. (2019). Hazard identification, risk assessment, and determining controls in laboratories. *Indian Journal of Public Health Research and Development*, 10(7), 877–883. <https://doi.org/10.5958/0976-5506.2019.01688.7>

-
- Broertjes, J., van Overbeek, E. C., Doesschate, T. Ten, Slieker, K., Hazenberg, E., Lutgens, S. P. M., Kolwijck, E., Leenders, A. C. A. P., & Wever, P. C. (2024). Implementation of a biosafety software pop-up after two *Brucella* laboratory exposures. *Microbial Risk Analysis*, 27–28. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2024.100307>
- Brookman, B., Bélavári, C., Butler, O., Corbí, R. M., Horsky, M., Jordan, H., Laurent, C., Patriarca, M., Tiikkainen, U., van Putten, K., Robouch, P., Sárkány, E., & Sorbo, A. (2024). Proficiency testing in analytical chemistry, microbiology and laboratory medicine: discussions on current practice and future directions. *Accreditation and Quality Assurance*, 29(5–6), 381–389. <https://doi.org/10.1007/s00769-024-01588-9>
- CIIMAR. (2021). *CIIMAR - AlgaValor*. <https://www.algavalor.pt/pt-pt/customer/ciimar/>
- CIIMAR. (2024a). *Blue Biobank – CIIMAR – Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research*. <https://www.ciimar.up.pt/pt-pt/platforms/blue-biobank/>
- CIIMAR. (2024b). *CIIMAR - AQUARIUS*. <https://aquarius-ri.eu/research-infrastructures-catalogue/ciimar/>
- CIIMAR. (2025). *CIIMAR – Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research – Working in the frontier of ocean knowledge and innovation*. <https://www.ciimar.up.pt/>
- Cimera, N., Haqi, D. N., Alayyannur, P. A., Denny Ardyanto, Y., & Rizkiawati, N. L. (2020). Risk analysis of occupational disease and accident in environmental health laboratory. *Indian Journal of Forensic Medicine and Toxicology*, 14(1), 327–331. <https://doi.org/10.37506/v14/i1/2020/ijfmt/192918>
- Decreto-Lei n.º 330/93 de 25 de setembro. (1993). *Diário da República n.º 226/1993, Série I-A de 1993-09-25, páginas 5391 - 5393. Decreto-Lei n.º 330/93, de 25 de setembro. Transpõe para a ordem jurídica interna a Directiva n.º 90/269/CEE, do Conselho, de 29 de maio, relativa às prescrições mínimas de s....* <https://files.diariodarepublica.pt/1s/1993/09/226a00/53915393.pdf>
- Decreto-Lei n.º 347/93 de 1 de outubro. (1993). *Diário da República n.º 231/1993, Série I-A de 1993-10-01, páginas 5552 - 5552. Decreto-Lei n.º 347/93, de 1 de outubro. Transpõe para a ordem jurídica interna a Directiva n.º 89/654/CEE, do Conselho, de 30 de novembro, relativa às prescrições mínimas de....* <https://files.diariodarepublica.pt/1s/1993/10/231a00/55525552.pdf>
- Decreto-Lei n.º 348/93 de 1 de outubro. (1993). *Diário da República n.º 231/1993, Série I-A de 1993-10-01, páginas 5553 - 5554. Decreto-Lei n.º 348/93, de 1 de outubro. Transpõe para a ordem jurídica interna a Directiva n.º 89/656/CEE, do Conselho, de 30 de novembro, relativa às prescrições mínimas de....* <https://files.diariodarepublica.pt/1s/1993/10/231a00/55535554.pdf>
- DGS. (2025). *Direção-Geral da Saúde*. <https://www.dgs.pt/normas-orientacoes-e-informacoes/normas-e-circulares-normativas>
-

-
- Dong, Z., Yin, W., Yang, J., Zhang, J., & Jiang, C. (2019). Risk assessment and inactivation of invertebrate-internalized bacteria in pilot-scale biological activated carbon filtration. *Science of the Total Environment*, 676, 321–332. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.209>
- DPRP. (2025). *Boletim Estatístico. Doenças Profissionais -2023*. <https://www.ugt.pt/publicfiles/71e62f5a9a2d8cfa596d3cb8e99ac0404c3a84fc.pdf>
- ECHA. (2023). *Informação sobre substâncias químicas*. Informação sobre substâncias químicas - ECHA
- El Hajjaji, S., Sendide, K., & Ouardaoui, A. (2020). Enhancing Security and Chemicals Management in University Science Laboratories: Creating a Secure Environment for Students and Researchers in Morocco. *Journal of Chemical Education*, 97(7), 1799–1803. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.9b00915>
- EU-OSHA. (2021). *European guidelines | Safety and health at work EU-OSHA*. European guidelines | Safety and health at work EU-OSHA
- Farnsworth, C. W., Wallace, M. A., Liu, A., Gronowski, A. M., Burnham, C. A. D., & Yarbrough, M. L. (2020). Evaluation of the Risk of Laboratory Microbial Contamination during Routine Testing in Automated Clinical Chemistry and Microbiology Laboratories. *Clinical Chemistry*, 66(9), 1190–1199. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvaa128>
- Fatemi, F., Dehdashti, A., & Jannati, M. (2022). Implementation of Chemical Health, Safety, and Environmental Risk Assessment in Laboratories: A Case-Series Study. *Frontiers in Public Health*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.898826>
- Feng, Y. X., Feng, N. X., Zeng, L. J., Chen, X., Xiang, L., Li, Y. W., Cai, Q. Y., & Mo, C. H. (2020). Occurrence and human health risks of phthalates in indoor air of laboratories. *Science of the Total Environment*, 707. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135609>
- GEP. (2025). *Acidentes de Trabalho*. <https://www.gep.mtsss.gov.pt/documents/10182/26338/at2023sint.pdf/22ebe6d0-7d99-4f0b-9e55-d1085e45b61f>
- Ghosh, C., Bisht, K., Shelly, A., & Kumari, R. (2024). Evaluation of size-segregated bioaerosols concentration, deposition fraction and inhalation dose in individuals of an educational institute: a case study for health risk assessment. *Air Quality, Atmosphere and Health*, 17(11), 2693–2709. <https://doi.org/10.1007/s11869-024-01601-7>
- Giménez, J., Bayarri, B., Malato, S., Peral, J., & Esplugas, S. (2024). Occupational risk assessment in AOPs labs and management system that comply with UN sustainable development goals. *Process Safety and Environmental Protection*, 182, 903–917. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2023.12.033>
- Gui, Z. cheng, Li, X., Liu, M. li, Peng, Z. di, Yan, C., Nasir, Z. A., Alcega, S. G., & Coulon, F. (2022). Seasonal variation of quantitative microbial risk assessment for three airborne enteric
-

-
- bacteria from wastewater treatment plant emissions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 240. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113689>
- Güney, G., & Kahraman, B. (2022). Implementation of the analytic hierarchy process (AHP) and Fine–Kinney method (FKM) against risk factors to determine the total cost of occupational health and safety precautions in environmental research laboratories. *International Journal of Occupational Safety and Ergonomics*, 28(4), 2606–2622. <https://doi.org/10.1080/10803548.2021.2010969>
- Hamilton, K. A., Hamilton, M. T., Johnson, W., Jjemba, P., Bukhari, Z., LeChevallier, M., & Haas, C. N. (2018). Health risks from exposure to *Legionella* in reclaimed water aerosols: Toilet flushing, spray irrigation, and cooling towers. *Water Research*, 134, 261–279. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.022>
- HSE. (2025). *Control of Substances Hazardous to Health (COSHH)* - HSE. Control of Substances Hazardous to Health (COSHH) - HSE
- ILO. (1993). *Safety in the use of chemicals at work* | International Labour Organization. <https://www.ilo.org/resource/safety-use-chemicals-work>
- ISO 31000:2018. (2018). *Norma Portuguesa ISO 31000:2018*. www.ipq.pt
- ISO 45001:2019. (2019). *Norma Portuguesa ISO 45001: 2019 - Sistemas de gestão da segurança e saúde no trabalho. Requisitos e orientação para a sua utilização*. www.ipq.pt
- Kantaş Yılmaz & Karakus S. (2024). Laboratory risk analysis in branch hospital: The L-type matrix. *Int. J. Occup. Safety Health*, 14(2), 194–200. <https://doi.org/10.3126/ijosh>
- Kumar Teotia, A., Singh Chauhan, A., Thota, P., Kumari, B., kumar, P., Verma, O., Phathak, C., Kumar Pandey, M., & Singh Raghuvanshi, R. (2024). Engineering advances in safe laboratory design for pharmaceutical microbiology and assessment of their biohazard risk measures. *Safety Science*, 174. <https://doi.org/10.1016/j.ssci.2024.106458>
- Kurniawati, A. T., Alayyannur, P. A., Haqi, D. N., Martiana, T., Arini, S. Y., & Alfin, W. F. (2020). Risk management by implementing hazard identification, risk assessment and determinant control (Hiradc) method in the research center of the university in surabaya, indonesia. *Indian Journal of Forensic Medicine and Toxicology*, 14(1), 195–200. <https://doi.org/10.37506/v14/i1/2020/ijfmt/192894>
- Lei n.º 7/2009 de 12 de fevereiro. (2009). *Diário da República n.º 30/2009, Série I de 2009-02-12, páginas 926 - 1029. Lei n.º 7/2009, de 12 de fevereiro. Aprova a revisão do Código do Trabalho*. <https://files.diariodarepublica.pt/1s/2009/02/03000/0092601029.pdf>
- Lei n.º 102/2009 de 10 de setembro. (2009). *Diário da República n.º 176/2009, Série I de 2009-09-10, páginas 6167 - 6192. Lei n.º 102/2009, de 10 de setembro. Regime jurídico da promoção da segurança e saúde no trabalho*. <https://files.dre.pt/1s/2009/09/17600/0616706192.pdf>
- Lessa, F. S., Succi, I. B., & da Silva, G. M. S. (2024). Evaluation of underreporting occupational accidents among workers who handle laboratory animals. *Revista Brasileira de Medicina Do Trabalho*, 22(4). <https://doi.org/10.47626/1679-4435-2024-1275>
-

-
- Liu, Z., Lv, J., Zhang, Z., Ma, J., Song, Y., Wu, M., Cao, G., & Guo, J. (2023). Three Experimental Common High-Risk Procedures: Emission Characteristics Identification and Source Intensity Estimation in Biosafety Laboratory. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(5). <https://doi.org/10.3390/ijerph20054479>
- Miller, M. B., Watts, M. L., & Samuel, L. (2024). FDA's proposed rule for the regulation of laboratory-developed tests. *Journal of Clinical Microbiology*, 62(2). <https://doi.org/10.1128/jcm.01488-23>
- Muniesa, A., Furones, D., Rodgers, C., & Basurco, B. (2022). An assessment of health management and biosecurity procedures in marine fish farming in Spain. *Aquaculture Reports*, 25. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101199>
- Munson, E., Bowles, E. J., Dern, R., Beck, E., Podzorski, R. P., Bateman, A. C., Block, T. K., Kropp, J. L., Radke, T., Siebers, K., Simmons, B., Smith, M. A., Spray- Larson, F., & Warshauer, D. M. (2018). Laboratory Focus on Improving the Culture of Biosafety: Statewide Risk Assessment of Clinical Laboratories That Process Specimens for Microbiologic Analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(9). <https://doi.org/10.1128/JCM>
- Nasrallah, I. M., El Kak, A. K., Ismail, L. A., Nasr, R. R., & Bawab, W. T. (2022). Prevalence of Accident Occurrence Among Scientific Laboratory Workers of the Public University in Lebanon and the Impact of Safety Measures. *Safety and Health at Work*, 13(2), 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.shaw.2022.02.001>
- NI 31010:2019. (2019). *Norma Internacional 31010:2019: Risk management — Risk assessment techniques*. <https://www.iso.org/obp/ui/en/#iso:std:iec:31010:ed-2:v1:en,fr>
- NIOSH. (2020). *Pocket Guide to Chemical Hazards* | NIOSH | CDC. Pocket Guide to Chemical Hazards | NIOSH | CDC
- NP ISO 9001:2015. (2015). *Norma Portuguesa 9001:2015: Sistemas de Gestão da Qualidade Requisitos*. www.iso.org/iso/foreword.html.
- OIRA. (2025). *Online interactive Risk Assessment* |. <https://oira.osha.europa.eu/en>
- OSHA. (2023). *Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories*. | *Occupational Safety and Health Administration*. 1910.1450 - Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. | Occupational Safety and Health Administration
- Ou, Y. H., Chang, Y. T., Chen, D. P., Chuang, C. W., Tsao, K. C., Wu, C. H., Kuo, A. J., You, H. L., & Huang, C. G. (2024). Benefit analysis of the auto-verification system of intelligent inspection for microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1334897>
- Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., Shamseer, L., Tetzlaff, J. M., Akl, E. A., Brennan, S. E., Chou, R., Glanville, J., Grimshaw, J. M., Hróbjartsson, A., Lalu, M. M., Li, T., Loder, E. W., Mayo-Wilson, E., McDonald, S., ... Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting
-

systematic reviews. *PLOS Medicine*, 18(3), e1003583.
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PMED.1003583>

- Papadopoli, R., Nobile, C. G. A., Trovato, A., Pileggi, C., Pavia, M., & Pavia, M. (2020). Chemical risk and safety awareness, perception, and practices among research laboratories workers in Italy. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 15(1).
<https://doi.org/10.1186/s12995-020-00268-x>
- Paul, E., Zainal Abidin, E., Ahmad Mahmmud, N., & Ismail, N. H. (2022). Assessment of Knowledge, Attitude and Practice on Occupational Safety and Health Among Laboratory Workers in OSHMS Certified and Non-Certified Public Universities in Malaysia. *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences*, 18(5), 3–12. <https://doi.org/10.47836/mjmhs.18.5.2>
- Salazar-Escoboza, M. A., Laborin-Alvarez, J. F., Alvarez-Chavez, C. R., Noriega-Orozco, L., & Borbon-Morales, C. (2020). Safety climate perceived by users of academic laboratories in higher education institutes. *Safety Science*, 121, 93–99.
<https://doi.org/10.1016/j.ssci.2019.09.003>
- Santoso, J. W., Haqi, D. N., Alayyannur, P. A., Mulyono, & Wijaya, Y. R. (2019). Risk assessment in the laboratory of epidemiology. *Indian Journal of Public Health Research and Development*, 10(8), 982–985. <https://doi.org/10.5958/0976-5506.2019.02022.9>
- Sari, R. A., & Satrio, T. (2022). Optimization of Occupational Safety and Health Implementation in a Chemical Analytics Laboratory. *Indonesian Journal of Occupational Safety and Health*, 11(1), 72–82. <https://doi.org/10.20473/ijosh.v11i1.2022.72-82>
- Tait, F. N., Mburu, C., & Gikunju, J. (2018). Occupational safety and health status of medical laboratories in Kajiado county, Kenya. *Pan African Medical Journal*, 29.
<https://doi.org/10.11604/pamj.2018.29.65.12578>
- Ulu, M., & BiRgün, S. (2024). A case study on lean occupational safety. *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences*, 42(2), 534–548.
<https://doi.org/10.14744/sigma.2022.00108>
- Xiao, Y., Zhang, L., Yang, B., Li, M., Ren, L., & Wang, J. (2019). Application of next generation sequencing technology on contamination monitoring in microbiology laboratory. *Biosafety and Health*, 1(1), 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.bsheal.2019.02.003>
- Yan, C., Leng, Y. li, & Wu, J. ting. (2021). Quantitative microbial risk assessment for occupational health of temporary entrants and staffs equipped with various grade PPE and exposed to microbial bioaerosols in two WWTPs. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 94(6), 1327–1343. <https://doi.org/10.1007/s00420-021-01663-5>
- Yusuf, M., Haqi, D. N., Alayyannur, P. A., DwiYanti, E., & Nur Laili, R. (2019). Risk analysis of accidents and occupational disease in Ohs (occupational health and safety) laboratory. *Indian Journal of Public Health Research and Development*, 10(7), 884–888.
<https://doi.org/10.5958/0976-5506.2019.01689.9>

-
- Zhang, G., Liu, J., He, Y., Du, Y., Xu, L., Chen, T., Guo, Y., Fu, H., Li, A., Tian, Y., Hu, Y., Yang, C., Lu, M., Deng, X., Wang, J., & Lu, N. (2023). Modifying *Escherichia coli* to mimic *Shigella* for medical microbiology laboratory teaching: a new strategy to improve biosafety in class. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1257361>
- Zhang, X., Zhang, T., Wei, X., Xiao, Z., & Zhang, W. (2024). Reducing potential dual-use risks in synthetic biology laboratory research: a dynamic model of analysis. *Humanities and Social Sciences Communications*, 11(1). <https://doi.org/10.1057/s41599-024-03976-5>
- Zhao, C., Liu, B., Li, J., Li, S., Liu, Y., Guo, Y., & Zhang, X. (2022). Evaluation of Laboratory Management Based on a Combination of TOPSIS and RSR Methods: A Study in 7 Provincial Laboratories of China. *Frontiers in Public Health*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.883551>

8 APENDICES

Apêndice 1 – Matriz de Risco

Pode ser encontrado no documento Excel com o nome “Apêndice 1_ Matriz de Risco”.

ANEXOS

Anexo 1 – Método William T. Fine

O Método de Avaliação de William T. Fine é utilizado para priorizar ações de segurança, combinando o nível de risco com restrições financeiras. Ele permite planejar quando implementar medidas, quanto esforço dedicar e quanto dinheiro alocar, com base na periculosidade de cada risco.

Esse sistema de priorização é baseado em uma fórmula simples que calcula o nível de perigo de cada situação, resultando num grau de risco. Esse grau determina a urgência de agir, indicando se o risco requer atenção imediata ou pode ser tratado posteriormente. Os investimentos em segurança devem ser justificados com base nesse grau. Se, por exemplo, o risco é baixo e o investimento necessário em sistemas de segurança é alto, é preciso encontrar um equilíbrio. Este método fornece um parâmetro para realizar e justificar investimentos em segurança.

O método assenta na caracterização do nível de risco tendo por base três variáveis:

- a) Consequência (C) – o resultado mais provável de um potencial acidente;
- b) Exposição ao risco (E) – a frequência com que ocorre a situação de risco;
- c) Probabilidade (P) – representando a probabilidade associada à ocorrência do acidente.

Tendo por base as variáveis referidas, o nível de risco vem definido como o produto da extensão das consequências, pela exposição e pela probabilidade.

$$Risco = C \times E \times P$$

Consequência (C)

O valor do nível de consequência encontra-se expresso na seguinte tabela:

Tabela 9 - Níveis da consequência

Valor da Gravidade das Consequência (C)	
Classificação	Código numérico
Várias fatalidades ou danos na ordem dos 600000€	100
Fatalidades ou danos superiores a 300000€	40
Fatalidades ou danos superiores a 120000€	15
Lesões permanentes ou danos superiores a 60000€	7
Lesões de natureza temporária ou danos superiores a 6000€	3
Primeiros socorros ou danos superiores a 600€	1

Exposição (E)

O valor do nível de exposição encontra-se expresso na seguinte tabela:

Tabela 10 - Níveis da exposição
Valor da Exposição do Risco (E)

Classificação	Código numérico
Continuadamente – várias vezes ao dia	10
Frequentemente – aproximadamente uma vez por dia	6
Ocasionalmente – uma ou duas vezes por semana	3
Pouco usual – uma ou duas vezes por mês	2
Raramente – uma ou duas vezes por ano	1
Muito dificilmente – não se registou em anos, mas é possível	0,5

Probabilidade (P)

O valor do nível de probabilidade encontra-se expresso na seguinte tabela:

Tabela 11 - Níveis da probabilidade

Valor da Probabilidade do Risco (P)	
Classificação	Código numérico
Consiste no resultado mais provável e esperado se a situação de risco se regista – ocorre frequentemente	10
É perfeitamente possível e nada improvável – valor de probabilidade de cerca de 50%	6
Corresponde a uma sequência ou coincidência rara, não é expectável que ocorra – probabilidade de cerca de 10%	3
Corresponde a uma sequência remotamente possível. Sabe-se que já foi registada – probabilidade de cerca de 1%	2
Nunca ocorreu em muitos anos de exposição, mas pode registar-se	1
É praticamente impossível que se registre – probabilidade de cerca de um num milhão.	0,5

Risco

O valor do risco é calculado pela expressão: **Risco = C × E × P**. A definição da atuação em função do nível de risco identificado e quantificado pode ser efetuada através das orientações expressas na seguinte tabela:

Tabela 12 - Níveis de Risco

Classificação do Risco (R)	
Valor do Risco	Classificação
400	Extremo
$250 \leq \text{Risco} < 400$	Muito elevado
$200 \leq \text{Risco} < 250$	Elevado
$85 \leq \text{Risco} < 200$	Médio
< 85	Baixo

Justificação (J)

Com base nos critérios já mencionados, o método continua com a determinação de uma variável chamada "justificação" - esta pretende representar a relevância e eficácia das medidas que podem ser implementadas, considerando não só o nível de risco associado, mas também o custo da intervenção e os benefícios esperados.

$$\text{Justificação (J)} = R / (CC \times GC)$$

Legenda:

R – Representa o risco (Produto entre a Consequência, Probabilidade e Exposição)

CC – Representa o custo expectável da intervenção

GC – Representa o grau de correção

Tabela 13 - Custo e Grau de Correção

Método Matriarcal			
Custo de Correção		Grau de Correção	
Custo Estimado (€)	Pontuação	Correção	Pontuação
Superior a 30000	10	Esperada eficácia na ordem dos 100%	1
Entre 15000 e 30000	6	Eficácia na ordem dos 75%	2
Entre 6000 e 15000	4	Correção entre 50 e 75%	3
Entre 3000 e 6000	3	Correção entre 25% e 50%	4

Entre 600 e 3000	2	Correção inferior a 25%	6
Entre 300 e 600	1		
Inferior a 300	0,5		

Após determinar o valor para a justificação, sugerem-se os seguintes limites:

$J > 10$ Justificado

$J < 10$ Não justificado

Anexo 2 – Método NTP 330

O NTP 330 é um sistema simplificado de avaliação de riscos de acidentes desenvolvido pelo Instituto Espanhol de Segurança e Higiene no Trabalho. Esta metodologia permite quantificar a magnitude dos riscos existentes codificados como (NR) e classificar as medidas corretivas. Na primeira fase, o nível de probabilidade codificado como (NP) é obtido em função do nível de deficiência (ND) e do nível de exposição (NE) (Belloví & Malagón, 2019).

A Tabela 6 enquadra a avaliação num determinado nível de deficiência:

Tabela 14 -Nível de Deficiência

Nível de Deficiência	ND	Significado
Aceitável (A)	1	Não foram detetadas anomalias. O risco está controlado.
Insuficiente (I)	2	Foram detetados fatores de risco de menor importância. É de admitir que o dano possa ocorrer algumas vezes devido à não cumprimento das ordens expressas (Utilização de EPI).
Deficiente (D)	6	Foram detetados alguns fatores de risco significativos. O conjunto de medidas preventivas existentes tem a sua eficácia reduzida de forma significativa. Não cumprimento da legislação em vigor.
Muito deficiente (MD)	10	Foram detetados fatores de risco muito significativos. Não existe medidas preventivas implementadas. O dano ocorrerá na maior parte das circunstâncias.
Deficiência Total (DT)	14	Medidas preventivas inexistentes ou desadequadas. São esperados danos na maior parte das situações.

Relativamente ao nível de exposição, este é uma medida que traduz a frequência com que se está exposto ao risco, estando apresentados a escala de valores na tabela seguinte.

Tabela 15 - Nível de Exposição

Nível de Exposição	NE	Significado
Esporádica	1	Uma vez por mês ou menos e por pouco tempo (minutos).
Pouco frequente	2	Algumas vezes por semana e por período de tempo determinado.
Ocasional	3	Algumas vezes por dia.
Frequente	4	Várias vezes durante o período laboral, ainda que com tempos curtos – várias vezes por dia.
Continuada Rotina	5	Várias vezes por dia com tempo prolongado ou continuamente.

Depois, de aplicarmos as duas tabelas mencionadas, já é possível obter o valor do nível de probabilidade, sendo este determinado em função das medidas preventivas existentes e do nível de exposição ao risco. É expresso através de um produto de ambos os termos apresentados na tabela abaixo.

Tabela 16 -Cálculo do Nível de Probabilidade

			Nível de Exposição				
			Esporádica	Pouco frequente	Ocasional	Frequente	Continua
			1	2	3	4	5
Nível de Deficiência	Aceitável	1	1	2	3	4	5
	Insuficiente	2	2	4	6	8	10
	Deficiente	6	6	12	18	24	30
	Muito deficiente	10	10	20	30	40	50
	Deficiência Total	14	14	28	42	56	70

Após o cálculo do nível de probabilidade, já é possível enquadrar e interpretar o valor tendo em conta a tabela seguinte.

Tabela 17- Nível de Probabilidade

Nível de Probabilidade	NP	Significado
Muito Baixa	[1;3]	Não é de esperar que a situação perigosa se materialize, ainda que possa ser concebida
Baixa	[4;6]	A materialização da situação perigosa pode ocorrer.
Média	[8;20]	A materialização da situação perigosa é possível de ocorrer pelo menos uma vez com danos.
Alta	[24;30]	A materialização da situação perigosa pode ocorrer várias vezes durante o período de estudo
Muito alta	[40;70]	Normalmente a materialização da situação perigosa ocorre com frequência.

Posteriormente a este cálculo, é necessário enquadrar no nível de severidade, sendo este denominado como o dano que é razoável esperar de uma ocorrência envolvendo o risco avaliado:

Tabela 18- Nível de Severidade

Níveis de Severidade	NS	Significado	
		Danos Pessoais	Danos Materiais
Insignificante	10	Não há danos pessoais	Pequenas perdas materiais nas empresas
Leve	25	Pequenas lesões que não requerem hospitalização. Apenas primeiros socorros	Reparação dos danos, sem paragem das atividades, nas empresas.
Moderado	60	Lesões com incapacidade transitória. Requer tratamento médico	Requer a paragem das atividades para efetuar a reparação nas empresas
Grave	90	Lesões graves que podem ser irreparáveis.	Destruição parcial do sistema em estudo (reparação complexa e onerosa)
Mortal ou catastrófico	1240	Um morto ou mais. Incapacidade total ou permanente	Destruição de um ou mais sistemas (difícil renovação / reparação)

Por fim, tendo todos estes valores estabelecidos, será possível calcular o nível de risco de cada risco identificado, sendo este o resultado do produto do nível de probabilidade pelo nível das consequências:

$$NR = NP \times NS$$

Tabela 19- Nível de Risco

			Não é de esperar que o risco se materialize		A materialização do risco pode acontecer		A materialização do risco é possível de ocorrer		A materialização do risco pode ocorrer várias vezes durante o período de atividades		A materialização ocorre com frequência	
		NP	1 a 3		4 a 6		8 a 20		24 a 30		40 a 70	
Pessoas	Material	NS										
Não há danos pessoais	Pequenas perdas de material	10	10	30	40	60	80	180	240	300	400	700
Pequenas lesões que não requerem hospitalização	Reparação sem paragem das atividades	25	25	75	100	150	200	500	600	750	1000	1750

o												
Lesões com incapacidade temporária	Requer a paragem das atividades para efetuar a reparação	60	60	180	240	360	480	1200	1440	1800	2400	4200
Lesões graves que podem ser irreparáveis	Destruição parcial do sistema em estudo (reparação complexa e onerosa)	90	90	270	360	540	720	1800	2160	2700	3600	6300
Um morto ou mais. Incapacidade total ou permanente	Destruição de um ou mais sistemas (difícil renovação / reparação)	1240	1240	3720	4960	7440	9920	24800	29760	37200	49600	86800

Tabela 20-Nível de Controle

Nível de Controle	Nível de Risco	Significado
I – Extremo	3600-86800	Suspensão imediata da atividade
II – Muito elevado	1240-2700	Correção imediata
III- Elevado	360-1000	Correção necessária urgente
IV – Médio	90-300	Não é urgente, mas deve corrigir-se
V – Baixo	10-80	Pode omitir-se a correção

Anexo 3 – Método MIAR

A NP EN ISO 9001:2000 é a base do Método Integrado de Avaliação de Riscos (MIAR) que tem como objetivo inserir os impactos ambientais e ocupacionais, tendo sido pensado para pequenas e médias empresas.

Este método assenta em cinco parâmetros: “1. gravidade do aspeto (G); 2. extensão do impacto (E); 3. exposição/frequência de ocorrência do aspeto (EF); 4. desempenho dos sistemas de prevenção e controlo (PC); 5. custos e complexidade técnica das medidas de prevenção/correção do aspeto (C)”.

A gravidade pode ser obtida através da seguinte tabela:

Tabela 21 - Nível da Gravidade

Descrição	Ponderação
Aspetos que podem causar a morte.	16
Aspetos que podem causar lesões graves, com incapacidade permanente absoluta (IPA) para todo e qualquer trabalho.	
Aspetos que podem causar lesões graves, com incapacidade temporária absoluta (ITA) > 30 dias ou incapacidade permanente absoluta (IPA) não incluída no item anterior.	8
Aspetos que podem causar lesões menores com incapacidade temporária parcial (ITP) ou incapacidade temporária absoluta (ITA) <30 dias.	4
Aspetos que não apresentem perigosidade, unicamente podem causar lesões menores sem qualquer tipo de incapacidade associada.	2
Aspetos que podem causar um incidente, mas sem qualquer tipo de lesão.	1

Relativamente à extensão do impacto, pode ser obtido através da seguinte tabela:

Tabela 22- Nível da extensão do impacto

Descrição	Ponderação
Aspeto cuja extensão pode atingir 5 ou mais trabalhadores.	5
Aspeto cuja extensão pode atingir 4 trabalhadores.	4
Aspeto cuja extensão pode atingir 3 trabalhadores.	3
Aspeto cuja extensão pode atingir 2 trabalhadores.	2
Aspeto cuja extensão pode atingir 1 trabalhadores.	1

De seguida, para obter a frequência com que ocorre o aspeto, tem se em conta a seguinte tabela:

Tabela 23 - Nível da Frequência

Descrição	Ponderação
Periodicidade diária: correspondente a aspetos que ocorrem de forma contínua e diariamente	5
Aspetos que ocorrem ao longo do dia de forma não contínua, 3 ou mais dias por semana	4
Aspetos que ocorrem uma a duas vezes por semana	3
Aspetos que ocorre de forma pontual até 3 vezes por mês	2
Aspetos que corresponde a trabalhos de manutenção, a situações de emergência, acidentais ou pontuais	1

Para obter o nível de risco ponderado, é necessário multiplicar o valor dos três fatores descritos anteriormente (gravidade, extensão e frequência).

Tabela 24- Nível de Risco

Nível de Risco	
1 - Baixo	≤ 8
2 - Médio	$8 < \text{índice de risco} \leq 24$
3 - Elevado	$24 < \text{índice de risco} \leq 64$
4 – Muito elevado	$64 < \text{índice de risco} \leq 160$
5- Risco Extremo	≥ 160

Ainda se deve ter em conta o desempenho dos sistemas de prevenção e controlo:

Tabela 25- Nível de Desempenho dos sistemas de prevenção e controlo

Descrição	Ponderação
Não existe sistema de prevenção nem de controlo implementado	0.50
Não existe sistema de gestão da prevenção implementado e as práticas de segurança resumem-se à utilização pontual de EPI	0.75
Não existe sistema de gestão da prevenção implementado, mas existem práticas de segurança funcionais	1
Existe um sistema de gestão da prevenção implementado, mas sem evidências da sua adequada funcionalidade	1.1
Existe um sistema implementado de melhoria continua interligado ao sistema de gestão de segurança	1.25

Também, ter em conta os critérios de priorização da intervenção:

Tabela 26 - Nível de critérios de priorização da intervenção

Descrição	Ponderação
Medidas de prevenção de baixo investimento e complexidade técnica básica (resolvem-se com procedimentos e instruções de trabalho)	400
Medidas de prevenção/correção com baixo Investimento e complexidade técnica reduzidas (intervenção simples, pequenas alterações em equipamentos, EPI, formação)	72
Medidas de prevenção/correção de investimento médio e complexidade técnica média (Contratação de TSSHT, alterações pontuais em equipamentos ou nos processos...)	48
Metodologia de prevenção/correção com investimento e complexidade técnica alta (Proteções coletivas, pequenas alterações de processos)	12
Metodologia de prevenção/correção com investimento e complexidade técnica elevadas (Novas tecnologias, novos processos, alterações de Layout, Contratação de especialistas externos)	1

O nível do risco é obtido através da multiplicação dos fatores mencionados anteriormente e divide-se em 4 níveis:

Tabela 27- Níveis de priorização

Nível de priorização	
1 – Priorização Baixa	≤ 800
2 - Priorização Média	$800 < \text{índice de priorização} \leq 2\,500$
3 - Priorização Elevada	$2\,500 < \text{índice de priorização} \leq 15\,000$
4 – Priorização Muito elevada	$15\,000 < \text{índice de priorização} \leq 50\,000$
5- Situações urgentes	$\geq 50\,000$

Anexo 4 – Método HIRADC

O método *Hazard Identification, Risk Assessment and Determining Control (HIRADC)* surge precisamente como uma abordagem abrangente que conjuga estas três dimensões essenciais, sendo amplamente reconhecido por normas como a ISO 45001:2018 e aplicado em diversos setores, incluindo laboratórios.

O HIRADC estrutura-se em três etapas principais: a identificação dos perigos (*Hazard Identification*), a avaliação dos riscos (*Risk Assessment*) e a definição das medidas de controlo (*Determining Control*). Esta metodologia permite não apenas mapear os riscos existentes, mas também priorizá-los com base na sua gravidade e probabilidade de ocorrência, fundamentando a implementação de medidas preventivas proporcionais e eficazes.

A identificação dos perigos consiste na análise sistemática de todas as atividades desenvolvidas no local de trabalho, com o objetivo de detetar fatores que possam causar lesões, doenças ou outros danos à saúde dos trabalhadores. Segue-se a avaliação do risco, que envolve a determinação do nível de risco associado a cada perigo identificado, através da análise combinada de dois critérios: probabilidade e gravidade. A atribuição de níveis a estas variáveis pode seguir a norma AS/NZS 4360:1999, frequentemente aplicada em conjunto com o HIRADC. As tabelas abaixo representam a classificação usada.

Tabela 28 -Níveis de Probabilidade

Nível	Descrição	Explicação
5	Quase certo	Espera-se que ocorra na maioria das circunstâncias
4	Provável	Provavelmente ocorrerá na maioria das circunstâncias
3	Possível	Pode ocorrer em algum momento
2	Improvável	Poderá ocorrer em algum momento
1	Raro	Pode ocorrer apenas em circunstâncias excecionais

Tabela 29- Níveis de gravidade

Nível	Descrição	Explicação
5	Catastrófico	Morte, libertação tóxica com efeitos críticos, perda financeira muito elevada
4	Grave	Lesões extensas, libertação de agentes fora do local, impacto organizacional elevado
3	Moderado	Necessário tratamento médico, perda de produção, assistência externa, perdas elevadas
2	Menor	Tratamento de primeiros socorros, libertação no local contida, perda financeira média
1	Insignificante	Sem lesões, perda financeira baixa

Com base na combinação de probabilidade e gravidade, utiliza-se uma **matriz de risco** para determinar o nível final de risco:

Tabela 30- Nível de Risco

Probabilidade	Gravidade				
	1	2	3	4	5
5	5 -Alto	10 - Alto	15- Extremo	20- Extremo	25- Extremo
4	4- Médio	8- Alto	12- Alto	16- Extremo	20- Extremo
3	3- Baixo	6- Médio	9- Alto	12- Extremo	15- Extremo
2	2- Baixo	4- Médio	6- Médio	8- Alto	10- Extremo
1	1- Baixo	2- Baixo	3- Médio	4- Alto	5- Alto

Anexo 5- Perigos existentes em cada subprocesso

Tabela 31 - Perigos identificados para cada subprocesso

Perigos	Subprocessos	Nº de Subprocessos
Agulha	Inoculação experimental com a bactéria - Inserção da bactéria no peixe	3
	Amostragem - Colheita de sangue e tecidos	
	Amostragem	
Seringa com agulha	Amostragem - Colheita de sangue e tecidos	2
	Amostragem	
Bisturi/ lâmina de bisturi / tesoura	Repicagem e purificação de isolados	6
	Preparação do plasmídeo - Recorte da banda	
	Clonagem e preparação do vetor	
	Amostragem - Colheita de sangue e tecidos	
	Amostragem	
	Realização do corte longitudinal	
Objetos cortantes	Análise da composição corporal	1
Canivetes	Amostragem	1
Balões de cultivo de vidro e nalgens	Crescimento no biotério	2
	Crescimento das algas nas fitoclimas	

Pipeta de vidro	Micromanipulação	2
	Exposição das linhas celulares ao composto ou extrato	
Tubo de vidro	Colocação dos meios e da alga nos balões	3
	Crescimento das algas nas fitoclimas	
	Monitorização dos balões de cultivo	
Vidro da CSB	Colocação dos meios e da alga nos balões	1
Frascos de vidro	Isolamento e identificação dos microrganismos	2
	Incubação e crescimento em condições controladas	
Autoclave	Isolamento e identificação dos microrganismos	6
	Preparação do meio de cultivo	
	Preparação do material para o isolamento	
	Preparação de meios	
	Inoculação experimental com a bactéria - Preparação da bactéria	
	Preparação do meio de crescimento	
Frascos de vidro quente	Confirmação do sucesso da extração	3

	Preparação das amostras	
	Preparação do plasmídeo	
Arca ultracongeladora	Colheita da biomassa	6
	Criopreservação-conservação das estirpes isoladas	
	Incorporação do plasmídeo nas bactérias	
	Armazenamento	
	Amostragem - Colocar amostras na arca ultracongeladora	
	Análise da composição corporal	
Azoto líquido	Extração de DNA	4
	Preparação das linhas celulares	
	Amostragem - Colheita de sangue e tecidos	
	Amostragem	
Frascos de vidro a baixa pressão	Liofilização inicial	1
Piso molhado	Incubação e crescimento em condições controladas	5
	Receção de Peixes	
	Transporte de Peixes	
	Amostragem	
	Crescimento das algas nas fitoclimas	

Banco/escada	Inoculação em recipientes de cultivo	4
	Crescimento no biotério	
	Quantificação	
	Inoculação experimental com a bactéria - Preparação da bactéria	
Porta	Inoculação experimental com a bactéria - Preparação da bactéria	2
	Parte escrita	
Rochas	Amostragem	1
Escadas	Inoculação experimental com a bactéria - Preparação da bactéria	2
	Parte escrita	
Bombas de circulação da água	Crescimento das algas nas fitoclimas	2
	Monitorização dos balões de cultivo	
Instalações elétricas	Montagem dos sistemas	1
Resistência elétrica	Ensaio de crescimento	1
Tomadas elétricas	Montagem dos sistemas	3
	Crescimento das algas nas fitoclimas	
	Monitorização dos balões de cultivo	
Bico de bunsen	Inoculação em recipientes de cultivo	5
	Indução da expressão da proteína	

	Inoculação experimental com a bactéria - Preparação da bactéria	
	Amostragem - Colheita de sangue e tecidos	
	Amostragem	
Lamparina	Plaqueamento	5
	Incorporação do plasmídeo nas bactérias	
	Colocação de antibiótico nas placas	
	Plaqueamento da bactéria	
	Colony screening	
Rota vapores	Extração de compostos	1
Liofilizador	Liofilização inicial	1
Furadora	Montagem dos sistemas	1
Estrutura de agitação	Incorporação do plasmídeo nas bactérias	1
Sonicador	Colheita e lise celular	1
Serrote	Montagem dos sistemas	1
Soprador de ar quente	Montagem dos sistemas	1
Trituradora	Análise da composição corporal	1
Radiação UV	Preparação do plasmídeo - Realização da eletroforese	2
	Clonagem e preparação do vetor	
Material de laboratório	Preparação do material para o isolamento	2

	Inoculação experimental com a bactéria - Preparação da bactéria	
Material de vidro	Inoculação em recipientes de cultivo	2
	Lavagem de material	
Formaldeído	Contagem das larvas	1
Local de armazenamento	Extração de compostos	1