Universidade do Minho
Escola de Engenharia

Mariana Estrada de Oliveira

Caracterização da Flora Microbiana Presente nos Sistemas de Água de um Hospital

outubro de 2025

Caracterização da Flora Microbiana Presente nos Sistemas de Água de um Hospital

Mariana Oliveira

UMinho | 2025

Universidade do Minho
Escola de Engenharia

Mariana Estrada de Oliveira

Caracterização da Flora Microbiana Presente nos Sistemas de Água de um Hospital

Dissertação de Mestrado

Mestrado em Engenharia Biomédica

Especialização em Engenharia Clínica

Trabalho efetuado sob a orientação de

Doutora Isabel Soares Carvalho

Engenheira Ana Alexandra Costa e Silva

outubro de 2025

DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.
Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.
Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.

Licença concedida aos utilizadores deste trabalho:



CC BY-NC-ND
https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/

AGRADECIMENTOS

"Aqueles que passam por nós não vão sós, não nos deixam sós, deixam um pouco de si e levam um pouco de nós."

Inspirada por estas palavras, partilho a minha gratidão a todos os que, de uma forma ou de outra, deixaram a sua marca ao longo desta caminhada.

À minha orientadora na unidade hospitalar, Engenheira Ana Alexandra Costa e Silva, expresso o meu sincero agradecimento pelo apoio incansável e pela constante dedicação demonstrada em cada etapa deste trabalho. Agradeço a confiança depositada em mim desde o primeiro momento, bem como a forma generosa com que sempre partilhou o seu vasto conhecimento e experiência. A sua orientação, aliada à sabedoria, confiança e persistência, foram fundamentais, não apenas para a concretização desta dissertação, mas também para o meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço igualmente à unidade hospitalar, em particular à UL-PPCIRA e a todos os seus elementos, pela oportunidade de acompanhar o trabalho diário desenvolvido e pela permanente disponibilidade demonstrada. Uma palavra particular de apreço à Doutora Maria Alberta Ferreira Alves Faustino, médica microbiologista, por ter realizado o processamento de todas as amostras ambientais e pela prontidão e colaboração sempre manifestadas.

Um especial agradecimento à Doutora Isabel Soares Carvalho, pela disponibilidade constante e atenção a cada detalhe. A sua orientação académica e dedicação, marcada pela partilha de conhecimento, contribuíram certamente para que este trabalho atingisse o rigor e qualidade pretendidos. Agradeço a proposta de tema que serviu de base para o desenvolvimento desta dissertação, assim como a confiança e o incentivo depositados em mim.

Aos meus pais, dirijo o mais profundo agradecimento pelo amor, inspiração e dedicação. Agradeço-lhes por me apoiarem incondicionalmente e por todos os concelhos sábios que me incentivaram a seguir os meus sonhos. O carinho inabalável foi essencial neste percurso e em tantos outros da minha vida. A toda a minha família, agradeço por estarem sempre presentes. Cada palavra de incentivo representou uma motivação extra, tantas vezes necessária.

Ao meu namorado e aos amigos, deixo uma palavra de gratidão pelo amor, amizade, compreensão e pelas palavras que tantas vezes serviram de ânimo. O vosso companheirismo e a capacidade de ouvir, compreender e de apoiar fizeram toda a diferença nos dias mais difíceis. A partilha de sorrisos, conversas e o apoio constante tornaram, sem dúvida, esta jornada mais leve.

A todos, o meu sincero obrigada!

DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio, nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração.

Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

RESUMO

Caracterização da Flora Microbiana Presente nos Sistemas de Água de um Hospital

As infeções associadas aos cuidados de saúde (IACS) representam um dos principais desafios da medicina na atualidade, sendo que Portugal ocupa a terceira posição, na União Europeia, em termos de prevalência de infeções hospitalares. Nas unidades hospitalares, os reservatórios ambientais têm vindo a ser reconhecidos como fontes de microrganismos patogénicos. Dos variados reservatórios ambientais existentes, destacam-se os lavatórios por constituírem uma potencial fonte de disseminação microbiana. Este estudo teve como principal objetivo caracterizar a flora microbiana presente nos lavatórios de diferentes serviços de internamento, e adicionalmente, analisar a possível dispersão microbiana proveniente dos mesmos para as áreas adjacentes. Neste sentido, foram recolhidas amostras do interior dos ralos e tubagens de lavatórios e respetivas superfícies adjacentes, quando aplicável, em seis serviços durante um período de seis meses. A identificação microbiológica foi realizada por métodos culturais convencionais e foram utilizados métodos moleculares para determinação de mecanismos de resistência antimicrobiana. Por fim, procedeu-se à análise da correspondência microbiológica entre pares de amostras com o intuito de avaliar a projeção microbiana.

A caracterização da flora microbiana permitiu aferir a prevalência de bacilos gram-negativos no interior dos ralos e tubagens, destacando-se *Pseudomonas aeruginosa* (41,2 %), seguida de *Citrobacter freundii* (35,3 %). Nas superfícies adjacentes foram predominantes os estafilococos coagulase-negativos, particularmente *Staphylococcus epidermidis* (33,3 %) e *Staphylococcus haemolyticus* (25,0 %). No que concerne à correspondência microbiológica entre lavatórios e respetivas superfícies adjacentes, tal verificou-se em apenas 9,1 % dos pares de amostras, sendo que o microrganismo identificado em ambas as superfícies foi o *Bacillus cereus*.

Os resultados obtidos corroboram a hipótese de que os lavatórios hospitalares constituem reservatórios ambientais significativos de microrganismos patogénicos e oportunistas. A reduzida correspondência microbiológica observada permite inferir que a projeção de gotículas é limitada nas condições do estudo, contudo os microrganismos identificados evidenciam a necessidade de desenvolver procedimentos de higienização, de modo a contemplar os sistemas de água, nomeadamente o interior dos ralos e das tubagens de lavatórios.

Palavras-chave: Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde; Reservatórios Ambientais; Prevenção e Controlo de Infeções; Projeção Microbiana; Biofilmes.

ABSTRACT

Characterization of the Microbial Flora Present in the Water Systems of a Hospital

Healthcare-associated infections (HAIs) represent one of the main challenges in modern medicine, with Portugal ranking third in the European Union, in terms of the prevalence of hospital infections. In hospital settings, environmental reservoirs have been increasingly recognized as sources of pathogenic microorganisms. Among the various environmental reservoirs, sinks stand out as potential sources of microbial dissemination. This study had, as a main goal, the characterization of the microbial flora present in sinks from different inpatient units and, additionally, to analyze the possible microbial dispersion from these sinks to adjacent areas.

With this purpose, samples were collected from the interior of sink drains and pipes and their respective surrounding surfaces, when applicable, in six hospital units over a six-month period. Microbiological identification was performed using conventional culture methods and molecular methods were employed to determine antimicrobial resistance mechanisms. Finally, a comparative microbiological analysis between pairs of samples was conducted in order to assess microbial projection.

The characterization of the microbial flora revealed the prevalence of gram-negative bacilli in the interior of sink drains and pipes, with *Pseudomonas aeruginosa* (41.2%) being the most prominent species, followed by *Citrobacter freundii* (35.3%). On adjacent surfaces, coagulase-negative staphylococci were predominant, particularly *Staphylococcus epidermidis* (33.3%) and *Staphylococcus haemolyticus* (25.0%). Regarding the microbiological correspondence between sinks and their respective adjacent surfaces, this was verified in only 9.1% of the sample pairs, with *Bacillus cereus* being the microorganism identified on both surfaces.

The results obtained corroborate the hypothesis that hospital sinks constitute significant environmental reservoirs of pathogenic and opportunistic microorganisms. The limited microbiological correspondence observed suggests that droplet projection is limited under the study conditions. Nevertheless, the microorganisms identified highlight the need to develop cleaning procedures that encompass water systems, particularly the interior sink drains and pipelines.

Keywords: Healthcare-Associated Infections; Environmental Reservoirs; Infection Prevention and Control; Microbial Projection; Biofilms.

ÍNDICE

Direitos de Autor e Condições de Utilização do Trabalho por Terceiros iii

Agradecimentos iv

Declaração de Integridade v

Resumo vi

Abstract vii

Lista de Abreviaturas e Siglas xi

Lista de Figuras xiii

Lista de Tabelas xiv

Capítulo 1 15

1 Introdução 15

1.1 Principais Objetivos 16

Capítulo 2 18

2 Enquadramento 18

2.1 Ambiente Hospitalar 18

2.2 Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde 19

2.3 Cadeia Epidemiológica da Infeção 20

2.4 Agentes Infeciosos 22

2.5 Prevenção das Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde 23

Capítulo 3 26

3 Unidade Local de Saúde 26

3.1 Caracterização da Unidade Local de Saúde 26

3.2 Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos 28

3.2.1 Unidade Local do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos (UL-PPCIRA) 29

3.3 Vigilância Epidemiológica 30
3.3.1 Vigilância Epidemiológica no Hospital Terciário 31
3.4 Plano de Higienização 38
3.4.1 Higienização da Unidade do Doente 40
3.5 Rede Predial 40
3.6 Biofilmes 43
3.6.1 Lavatórios em contexto hospitalar 45
Capítulo 4 47
4 Materiais e Métodos 47
4.1 Amostragem 47
4.1.1 Pontos de Amostragem 47
4.1.2 Método de Recolha das Amostras 48
4.1.3 Processamento Laboratorial das Amostras 50
Capítulo 5 52
5 Apresentação de Resultados 52
5.1 Crescimento Microbiológico por Tipo de Superfície 52
5.2 Caracterização da Flora Microbiana Ambiental 53
5.2.1 Microrganismos Isolados em Ralos e Tubagens de Lavatórios 53
5.2.2 Microrganismos Isolados em Superfícies Adjacentes 54
5.2.3 Mecanismos de Resistência Antimicrobiana 56
5.3 Avaliação da Transmissão Microbiana entre Lavatórios e Superfícies Adjacentes 58
5.4 Comparação da Flora Microbiana entre Serviços Internamento 59
Capítulo 6 60
6 Discussão de Resultados 60
6.1 Flora Microbiana Ambiental 61

6.2 Perfis de Resistência Antimicrobiana 63
6.3 Projeção de Microrganismos a Partir de Lavatórios 64
6.4 Variabilidade da Flora Microbiana entre Serviços de Internamento 67
6.5 Limitações do Estudo 68
6.6 Recomendações e Perspetivas Futuras 68
Capítulo 7 70
7 Conclusões 70
Referências 72
Apêndices 93
Apêndice 1 – Procedimento de Higienização da Unidade do Doente 93
Apêndice 2 – Microrganismos Isolados em Ralos e Tubagens de Lavatórios 96
Apêndice 3 – Microrganismos Isolados nas Superfícies Adjacentes 97
Apêndice 4 – Correspondência Microbiológica entre Ralos e Tubagens de Lavatórios e Superfícies Adjacentes 98
Apêndice 5 – Determinação do Regime de Fluxo de Água 99

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABMR	*Acinetobacter baumannii* Multirresistente
ACSS	Administração Central do Sistema de Saúde
ATP	Adenosina Trifosfato
BHI	*Brain Heart Infusion*
CRE	*Enterobacterales* Resistente aos Carbapenemes
DGS	Direção-Geral da Saúde
ECDC	Centro Europeu de Prevenção e Controlo de Doenças
EEE	Espaço Económico Europeu
EPE	Entidade Pública Empresarial
EPI	Equipamento de Proteção Individual
EPS	Substâncias Poliméricas Extracelulares
ESBL	Beta-Lactamases de Espetro Estendido
HAIs	*Healthcare-associated Infections*
IACS	Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde
IMP	Imipenem Metalo-β-lactamase
INSA	Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
KPC	*Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase
MALDI-TOF	*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight*
MEI	Microrganismos Epidemiologicamente Importantes
MMR	Microrganismos Multirresistentes
MRSA	*Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina
NDM	*New Delhi* Metalo-β-lactamase
OMS	Organização Mundial de Saúde
OXA	Oxacilinase
PAMR	*Pseudomonas aeruginosa* Multirresistente
PBCI	Precauções Básicas de Controlo de Infeção
PEAD	Polietileno de Alta Densidade
PFGE	*Pulsed-Field Gel Electrophoresis*
PPCIRA	Programa Nacional de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos

PVC-U	Policloreto de Vinila não Plastificado
SABA	Solução Antissética de Base Alcoólica
SINAVE	Sistema Nacional de Vigilância em Saúde Pública
SMI	Serviço de Medicina Intensiva
SNS	Serviço Nacional de Saúde
UE	União Europeia
UL-PPCIRA	Unidade Local do Programa Nacional de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos
ULS	Unidade Local de Saúde
UR-PPCIRA	Unidade Regional do Programa Nacional de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos
VIM	*Verona Integron-encoded* Metalo-β-lactamase
VISA	*Staphylococcus aureus* Intermédio à Vancomicina
VRE	*Enterococcus* Resistente à Vancomicina
VRSA	*Staphylococcus aureus* Resistente à Vancomicina

LISTA DE FIGURAS

Figura 1| Cadeia Epidemiológica da Infeção. 21
Figura 2| Lavatório das instalações sanitárias da unidade do doente. 42
Figura 3| Lavatório das salas de preparação de medicação. 42
Figura 4| Sifão em forma de copo dos lavatórios das instalações sanitárias da unidade do doente. . 43
Figura 5| Sifão em forma de copo dos lavatórios das salas de preparação de medicação. 43
Figura 6| Microrganismos mais frequentemente isolados (> 8 %) em amostras do interior dos ralos e tubagens dos lavatórios considerados. Percentagem (%) de amostras positivas para cada microrganismo identificado. 54
Figura 7| Comparação da frequência relativa de microrganismos isolados no interior dos ralos e tubagens dos lavatórios selecionados e em superfícies adjacentes. 56
Figura 8| Correspondência microbiológica entre pares de amostras do interior dos ralos e tubagens de lavatórios e respetivas superfícies adjacentes, sendo indicada a frequência absoluta dos pares de amostras analisados e dos pares de amostras em que se verificou correspondência microbiológica... 58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1| Atividade diária média na Unidade Local de Saúde, em 2024 (adaptado de "Hospital Terciário") 27

Tabela 2| Distribuição das amostras recolhidas em cada serviço da unidade hospitalar 48

Tabela 3| Meios de cultura utilizados no processamento laboratorial das amostras, respetiva classificação e objetivo [191], [192], [193], [194] 51

Tabela 4|Percentagem de amostras positivas por tipo de superfície analisada. Número total de amostras recolhidas para cada tipo de superfície, número de amostras que apresentaram crescimento microbiológico e respetiva percentagem (%) 53

Tabela 5| Microrganismos mais frequentemente isolados (> 8 %) em amostras de superfícies adjacentes a lavatórios das salas de preparação de medicação. Número de amostras em que cada microrganismo foi isolado e respetiva percentagem (%) 55

Tabela 6| Mecanismos de resistência antimicrobiana identificados nos microrganismos clinicamente relevantes. É indicado, para cada microrganismo, o número de amostras em que foi identificado e a presença (+) ou ausência (-) do mecanismo de resistência 57

Tabela 7| Frequência absoluta e relativa (entre parêntesis) dos principais microrganismos isolados em cada serviço de internamento hospitalar. n corresponde ao número total de microrganismos identificados em cada serviço de internamento 59

Tabela 8| Microrganismos identificados nas amostras recolhidas no interior dos ralos e tubagens de lavatórios, indicando o número de amostras em que cada microrganismo foi isolado..... 97

Tabela 9| Microrganismos identificados nas amostras recolhidas em superfícies adjacentes, indicando o número de amostras em que cada microrganismo foi isolado..... 98

Tabela 10| Identificação microbiológica dos microrganismos isolados em cada par de amostras, especificamente microrganismos identificados nos ralos e tubagens de lavatórios das salas de preparação de medicação e na respetiva superfície adjacente 99

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

As infeções associadas aos cuidados de saúde (IACS) constituem, na atualidade, uma problemática que compromete a segurança dos doentes a nível mundial, afetando milhões de indivíduos anualmente [1]. Estas infeções são definidas como resultado da prestação de cuidados de saúde, não estando presentes, ou em período de incubação, no momento de admissão hospitalar [1]. De acordo com o terceiro inquérito de prevalência pontual de infeções associadas aos cuidados de saúde e de utilização de antimicrobianos, coordenado pelo Centro Europeu de Prevenção e Controlo de Doenças (ECDC), em 2022-2023, Portugal é o terceiro país da União Europeia com a mais elevada prevalência de infeções hospitalares [2].

As unidades hospitalares caracterizam-se por apresentarem um ambiente de elevada complexidade, estrutural e funcional, promovendo a disseminação cruzada de agentes infeciosos, incluindo microrganismos multirresistentes [3], [4], [5]. Microrganismos como *Clostridioides difficile*, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa* e Enterobacterales produtoras de carbapenemases são exemplos dos mais prevalentes em ambiente hospitalar [6], [7]. A grande maioria dos agentes infeciosos possui capacidade de adaptação a diversas condições ambientais, persistindo durante longos períodos [8], [9]. Assim, a adaptabilidade e a colonização de superfícies inanimadas constituem mecanismos determinantes na transmissão de infeções [10].

Com efeito, os lavatórios destacam-se entre os reservatórios ambientais em contexto hospitalar, tendo vindo a ser amplamente reconhecidos na literatura enquanto potenciais fontes de surtos [11], [12], [13]. Diversos estudos constataram a colonização do interior do ralo e tubagens de lavatórios hospitalares por microrganismos patogénicos, na medida em que este ambiente fornece condições favoráveis à persistência e proliferação, nomeadamente humidade, disponibilidade de nutrientes e superfícies que facilitam a adesão microbiana [12], [14], [15]. De entre as estratégias de adaptação desenvolvidas por agentes infeciosos, de forma aumentar a sua viabilidade e resistência em ambientes hostis, importa realçar o desenvolvimento de mecanismos de resistência aos antimicrobianos e a formação de biofilmes [8], [9]. Efetivamente, as tubagens e ralos dos lavatórios hospitalares revelam ser suscetíveis à proliferação de microrganismos patogénicos, eventualmente através da formação de biofilmes, por meio da adesão à superfície das tubagens e consequente formação de uma matriz polimérica protetora [16], [17]. A matriz polimérica extracelular confere proteção acrescida a agentes desinfetantes e

antimicrobianos e, adicionalmente, a elevada densidade celular promove a transmissão horizontal de genes de resistência antimicrobiana [18], [19], [20], [21] .

A transmissão de microrganismos a partir de reservatórios ambientais tem vindo a assumir particular importância no âmbito de estudos epidemiológicos, de modo a identificar possíveis fontes de contaminação e implementar estratégias para minimizar a transmissão cruzada de agentes infeciosos. As investigações mais recentes têm demonstrado que a utilização de lavatórios pode promover a dispersão de microrganismos mediada por gotículas, contaminando o ambiente circundante e constituindo um risco acrescido para a transmissão de infeções [12], [22]. Este mecanismo de projeção microbiana estabelece vias de transmissão que podem comprometer a segurança dos doentes e profissionais de saúde. São vários os estudos que evidenciam a existência de relações filogenéticas entre isolados ambientais e clínicos, enfatizando o papel dos reservatórios ambientais como fontes de infeções [14], [23], [24].

Neste contexto, torna-se fundamental proceder ao desenvolvimento, implementação e avaliação de estratégias de prevenção e controlo de infeções, de modo a mitigar os impactos sociais e económicos das IACS [1], [6]. A formação e sensibilização de todos os profissionais deve ser efetuada continuadamente, para assegurar o cumprimento de todas as medidas em vigor. Adicionalmente, a realização periódica de estudos epidemiológicos revela ser fundamental, permitindo determinar a incidência e prevalência de infeções específicas, bem como avaliar a sua evolução.

Apesar do reconhecimento crescente do impacto dos reservatórios ambientais, permanecem lacunas na compreensão dos mecanismos de colonização e transmissão em contexto hospitalar, com destaque para os lavatórios. Torna-se fundamental proceder à caracterização da flora ambiental hospitalar e avaliar o risco de dispersão de gotículas contaminadas a partir de lavatórios, de modo a desenvolver e implementar estratégias eficazes de controlo ambiental.

1.1 Principais Objetivos

O presente estudo tem como finalidade contribuir para o conhecimento científico, tendo como principal objetivo a caracterização da flora microbiana presente nos sistemas de água de um hospital terciário, mais especificamente a identificação dos principais microrganismos que colonizam o interior dos ralos e tubagens da instituição prestadora de cuidados de saúde. Deste modo, pretende-se estabelecer uma possível correlação entre a flora microbiana presente nos ralos e tubagens e a flora

microbiana das respetivas superfícies adjacentes, quando aplicável. Para tal, será avaliada a eventual projeção de gotículas, a partir de lavatórios, para o ambiente circundante, podendo constituir uma fonte de disseminação de agentes infeciosos. Adicionalmente, proceder-se-á à identificação dos principais microrganismos presentes nos diferentes serviços de internamento objetos de estudo.

Em última análise, a avaliação dos resultados obtidos irá possibilitar o desenvolvimento de estratégias eficazes no que concerne ao controlo ambiental.

CAPÍTULO 2

2 ENQUADRAMENTO

2.1 Ambiente Hospitalar

Os hospitais são estruturas complexas e essenciais para a comunidade, nos quais devem ser prestados cuidados de saúde com a máxima segurança e qualidade. O ambiente hospitalar inclui três componentes fundamentais: a infraestrutura física, incluindo o edifício onde são prestados cuidados de saúde; os dispositivos e equipamentos utilizados na prática clínica; e os indivíduos que nele circulam, nomeadamente doentes, profissionais de saúde e visitas [4]. Cada um destes elementos pode constituir um potencial reservatório ou fonte de agentes patogénicos, contribuindo para a transmissão cruzada de infeções [3], [25]. O risco de infeção em hospitais é particularmente elevado devido à suscetibilidade da maioria dos doentes, frequentemente imunocomprometidos, tornando a exposição a agentes patogénicos um problema de relevância na sociedade atual [10], [26].

A importância das unidades hospitalares enquanto reservatórios e fontes de agentes infeciosos foi, ao longo de várias décadas, subestimada. Evidências científicas têm vindo a demonstrar que, durante a hospitalização, os doentes eliminam naturalmente microrganismos para o ambiente, contaminando-o [5], [25]. A consequente disseminação pode ser explicada pela transmissão horizontal entre profissionais de saúde e visitas [26], bem como pela dispersão de microrganismos por via aérea, através de fluxos de ar e, ainda, por sistemas de água [27]. Assim, as superfícies de contacto direto com os doentes ou os dispositivos médicos utilizados na prestação de cuidados, podem representar focos de contaminação e constituir um potencial veículo de transmissão de agentes infeciosos [28], [29].

Diversos microrganismos eliminados por doentes infetados ou colonizados possuem a capacidade de permanecer viáveis por longos períodos em superfícies inanimadas, podendo ser de difícil erradicação, devido à resistência aos métodos convencionais de higienização [5], [30]. Um dos principais fatores que contribui para a persistência de microrganismos em ambiente hospitalar reside na formação de biofilmes [31]. Os biofilmes podem formar-se em superfícies inanimadas, como lavatórios, dispositivos médicos e sistemas de ventilação, dificultando a sua erradicação e favorecendo a transmissão cruzada de microrganismos patogénicos [32], [33]. Neste sentido, estudos indicam que a implementação de medidas adequadas de higienização ambiental, com especial atenção às áreas de maior contacto na unidade do doente, é essencial para a redução da incidência de IACS [30], [34].

Cada ambiente de prestação de cuidados de saúde possui uma microbiota característica, cuja composição pode evoluir com o tempo [25]. Entre os principais agentes identificados em ambientes hospitalares incluem-se *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE), *Mycobacterium* spp., *Clostridioides difficile*, e *Aspergillus spp.* [26], [35], [36], [37].

Fatores ambientais como a temperatura, sazonalidade, ventilação e características da infraestrutura hospitalar, influenciam a microbiota e o risco de transmissão de infeções, exigindo a implementação de estratégias de prevenção e controlo adequadas [8], [38], [39].

2.2 Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde

A Direção Geral da Saúde (DGS), define infeções associadas aos cuidados de saúde, como sendo infeções adquiridas pelos doentes na sequência dos cuidados e procedimentos de saúde prestados e que podem, de igual forma, afetar os profissionais de saúde durante o exercício da sua atividade. [40] As IACS mais comuns resultam, maioritariamente, da utilização de dispositivos invasivos, sendo frequentemente causadas por agentes infeciosos resistentes a antimicrobianos [41]. As infeções mais prevalentes incluem as infeções do local cirúrgico, as infeções do trato urinário associadas a cateter vesical, as pneumonias associadas a ventilação e as infeções sanguíneas associadas a cateter venoso central [2], [7], [42].

O desenvolvimento de infeções adquiridas em ambiente hospitalar resulta da interação entre fatores intrínsecos ao doente, características ambientais e relacionadas com a prática clínica. Mais especificamente, é possível realçar a complexidade clínica dos doentes, que apresentam múltiplas comorbilidades, e são, muitas vezes, submetidos a procedimentos invasivos. Simultaneamente, o recurso inadequado a terapêutica antimicrobiana, assim como as condições físicas das instituições prestadoras de cuidados de saúde, podem promover a disseminação de agentes infeciosos em unidades hospitalares [7].

A suscetibilidade dos pacientes às IACS pode estar associada a diversos fatores, nomeadamente imunossupressão, patologias crónicas, utilização de dispositivos médicos invasivos e terapêuticas agressivas [1], [6], [7]. Para além do mais, existem uma série de fatores intrínsecos às unidades hospitalares, que promovem a disseminação de microrganismos, como inadequação das infraestruturas,

políticas de prevenção e controlo de infeção ineficazes e rácio insuficiente entre profissionais de saúde e doentes [6], [7].

As IACS constituem, no âmbito da prestação de cuidados de saúde, um desafio crescente na medicina moderna, com impacto direto na qualidade dos cuidados de saúde prestados e na segurança dos doentes, profissionais e visitantes [1], [41]. Anualmente, milhões de pessoas são afetadas, com uma incidência estimada de 80.000 de novos casos diários na Europa [43]. Vários estudos demonstram que estas infeções representam a maioria das infeções registadas em unidades de saúde e estão associadas a elevadas taxas de morbilidade e mortalidade [6], [7], [44].

O impacto socioeconómico das infeções hospitalares é considerável, na medida em que estas contribuem para o aumento da taxa de mortalidade e morbilidade em ambiente hospitalar [6], [45]. O tratamento adequado de qualquer paciente é condicionado pelas IACS e a qualidade de vida pode ser afetada de maneira irreversível, podendo culminar em condições físicas incapacitantes, ou em danos psicológicos a longo prazo [46]. Estas infeções prolongam o tempo de internamento e, regularmente, exigem terapêutica antimicrobiana adicional, assim como aplicação de medidas de isolamento, contribuindo para o aumento dos custos econômicos associados [47], [48], [49]. Adicionalmente, a resistência aos antimicrobianos tem-se vindo a agravar, uma vez que o uso indiscriminado de antibióticos ao longo dos anos promoveu a disseminação de microrganismos multirresistentes, com especial destaque para o ambiente hospitalar [6], [50], [51].

Ressalva-se que, de acordo com o inquérito de prevalência de infeções associadas aos cuidados de saúde e de utilização de antimicrobianos em hospitais europeus, em 2022-2023, coordenado pelo ECDC, 11.6 % dos doentes internados em Portugal apresentavam uma infeção associada aos cuidados de saúde, quase o dobro da média dos países da União Europeia (UE) e do Espaço Económico Europeu (EEE) [2]. Estima-se ainda que cerca de 4,3 milhões de doentes internados em hospitais da UE e do EEE contraem pelo menos uma IACS durante o internamento hospitalar [2].

2.3 Cadeia Epidemiológica da Infeção

O estabelecimento de uma infeção é resultado da interação complexa entre um agente infecioso e um hospedeiro suscetível, sendo influenciada por fatores biológicos e ambientais [52]. A cadeia de transmissão de infeção é constituída por seis componentes interligados: agente infecioso, reservatório, porta de saída, modo de transmissão, porta de entrada e hospedeiro suscetível (Figura 1) [52], [53].



Figura 1 | Cadeia Epidemiológica da Infeção.

Os agentes infeciosos podem ser bactérias, vírus, fungos, parasitas ou priões, quer da flora endógena quer da flora exógena ao doente [53]. As mãos dos profissionais de saúde são a principal via de transmissão de microrganismos pelo que, uma higiene das mãos efetuada de forma correta, bem como o recurso a antimicrobianos e desinfetantes adequados, constitui uma estratégia eficaz para a interrupção da cadeia de transmissão de infeções [54], [55], [56]. Os microrganismos que persistem no ambiente do doente podem perpetuar a cadeia de transmissão [53], [57].

Os reservatórios correspondem ao local onde os agentes infeciosos se mantêm viáveis, podendo ser humanos, animais ou ambientais [52], [53].

As portas de saída e de entrada constituem, respetivamente, a via pela qual o agente deixa o reservatório e a via pela qual o agente infecioso entra no hospedeiro [3], [53]. Os microrganismos encontram-se, essencialmente, em fluídos biológicos, pele, mucosas e no ambiente do doente, constituindo as principais portas de saída. São exemplos de portas de entrada de agentes infeciosos as membranas mucosas, a pele não íntegra e os dispositivos invasivos [3].

O modo de transmissão dos microrganismos varia consoante o tipo de microrganismo, podendo ocorrer por mais do que uma via. As principais vias de transmissão consistem no contacto direto ou indireto, via gotículas ou via aérea. [3], [53].

Para que ocorra infeção o indivíduo tem de ser suscetível ao agente infecioso [52], [53]. A resistência individual à infeção é variável, sendo a idade e as comorbilidades associadas, características do hospedeiro que podem determinar a sua suscetibilidade [6].

A prevenção e controlo da transmissão de infeções passa pela interrupção da cadeia de transmissão, por meio da quebra de qualquer um dos elos mencionados [58]. Neste sentido, o desenvolvimento e implementação de estratégias eficazes é prioritário nas instituições prestadoras de cuidados de saúde.

2.4 Agentes Infeciosos

As infeções associadas aos cuidados de saúde são causadas por microrganismos patogénicos, nomeadamente bactérias, vírus, parasitas ou fungos. Cada agente infecioso possui características intrínsecas próprias, influenciando os tipos de infeção que desencadeiam no hospedeiro. Tipicamente, as infeções causadas por bactérias são as mais frequentes, contudo, a prevalência de agentes infeciosos varia consoante a população, a unidade hospitalar e o contexto geográfico [1].

Grande parte das IACS são provocadas por agentes patogénicos nosocomiais, tais como *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, *Enterococcus* resistente à vancomicina, *Acinetobacter baumannii*, *Clostridioides difficile* e *Pseudomonas aeruginosa* [29], [59], [60]. Tais microrganismos podem persistir no ambiente hospitalar por longos períodos, constituindo uma fonte de transmissão cruzada de infeções [4], [5], [26], [57].

A sobrevivência dos mesmos em superfícies inanimadas deve-se a diversos fatores ambientais, com especial destaque para a temperatura e a humidade [10], [57]. De modo geral, as bactérias gram-positivas persistem em ambientes e superfícies secas, enquanto fungos, bem como, bactérias gram-negativas, resistem, essencialmente, em ambientes e superfícies húmidas [57], podendo estas últimas, persistir em superfícies hospitalares durante vários meses, de que são exemplo *Acinetobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* e *Pseudomonas aeruginosa* [26], [61]. As superfícies de elevado contacto quando contaminadas, mesmo após os procedimentos de higienização, constituem potenciais reservatórios de microrganismos, facilitando a sua disseminação no ambiente [5], [62], [63].

Os fungos são frequentemente associados a infeções oportunistas, sobretudo em doentes imunocomprometidos ou nos que possuem dispositivos invasivos, tais como cateteres venosos centrais ou urinários [6]. As infeções fúngicas mais comuns são causadas por *Candida spp.*, sendo que *Candida*

albicans é constituinte da microbiota natural da pele, conduzindo frequentemente a infeções do local cirúrgico ou infeções associadas à utilização de cateteres [6], [64], [65].

As espécies microbianas possuem diversos fatores de virulência que potenciam a sua patogenicidade e sobrevivência perante condições adversas, permitindo que um dado agente infecioso invada um hospedeiro, multiplicando-se e causando dano [66], [67], [68]. Tais fatores, incluem a produção de enzimas proteolíticas, mecanismos de adesão e invasão tecidular, parede celular rica em lipopolissacarídeos, captação de nutrientes essenciais e formação de biofilmes [68], [69], [70], [71].

Os biofilmes são comunidades complexas e altamente estruturadas de microrganismos aderidos a superfícies e embebidos numa matriz polimérica extracelular tridimensional [31], [33]. A formação de um biofilme ocorre em várias etapas, iniciando-se com a adesão microbiana à superfície e posterior produção e acumulação de uma matriz extracelular, constituída por substâncias poliméricas [33]. Os biofilmes conferem vantagens biológicas significativas, nomeadamente resistência aos antimicrobianos e maior viabilidade perante condições desaforáveis à sua sobrevivência [31], [32], [33], [71].

Neste seguimento, a crescente utilização de agentes antimicrobianos, soluções desinfetantes e o estabelecimento de procedimentos de higienização, constituem adversidades presentes no ambiente hospitalar para com os microrganismos, e influenciam a expressão dos seus fatores de virulência [72], [73]. Assim, os microrganismos vão desenvolvendo mecanismos de adaptabilidade, nomeadamente expressão de fatores de virulência e resistência aos antimicrobianos, constituindo uma ameaça eminente em ambiente hospitalar [71], [74].

2.5 Prevenção das Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde

A prestação de cuidados de saúde está inerentemente associada ao risco de desenvolvimento de IACS, quer para os doentes como para os profissionais de saúde. Para mitigar o risco existente, é essencial a implementação das Precauções Básicas de Controlo de Infeção, estabelecidas na Norma nº 029/2012, atualizada a 31/10/2013, de modo a potenciar a prevenção da transmissão cruzada de agentes infeciosos [75].

A formação e informação contínua de todos os profissionais de saúde, relativamente aos princípios e práticas básicas de prevenção e controlo de infeção, é necessária e fundamental, devendo ser foco tanto a segurança do profissional de saúde como a segurança do doente. Estas medidas devem ser aplicadas a todos os doentes, independentemente do estado clínico ou infecioso dos mesmos [75], [76].

No momento da admissão hospitalar, deve assumir-se que todo o doente está potencialmente colonizado ou infetado com microrganismos, podendo constituir um reservatório ou fonte de transmissão cruzada de infeções [75].

As Precauções Básicas de Controlo de Infeção seguem os seguintes pressupostos:

- Alocação adequada dos doentes;
- Higiene das mãos;
- Etiqueta respiratória;
- Utilização de equipamento de proteção individual (EPI);
- Descontaminação do equipamento clínico;
- Controlo ambiental;
- Manuseamento seguro da roupa;
- Gestão adequada de resíduos;
- Práticas seguras na preparação e administração de medicamentos injetáveis;
- Minimização da exposição a agentes microbianos no local de trabalho.

Ao nível da adequada alocação do doente, verifica-se que esta deve ser efetuada de modo a colocar o doente com elevado risco de transmissão de microrganismos num local que minimize o risco associado e que permita evitar as deslocações desnecessárias entre enfermarias ou serviços.

A higiene das mãos assume um pepel central na prevenção de IACS, uma vez que as estas constituem a principal via de transmissão de microrganismos entre doentes e profissionais de saúde. Neste sentido, a adesão às boas práticas de higienização das mãos é crucial para interromper a cadeia de transmissão de agentes infeciosos, durante a prestação de cuidados de saúde [54], [75]. A escolha do método de higienização deve ser realizada consoante o risco associado ao procedimento efetuado, podendo incluir a lavagem das mãos com água e sabão, a fricção com solução antissética de base alcoólica (SABA) ou a lavagem cirúrgica [54] .

Em 2009, a OMS estabeleceu os "Cinco Momentos para a Higiene das Mãos", recomendando que esta deve ser realizada [77]:

- Antes do contacto com o doente;
- Antes de um procedimento limpo ou antissético;
- Após o risco de exposição a fluidos orgânicos;
- Após o contacto com o doente;
- Após o contacto com objetos e equipamentos do ambiente envolvente do doente.

Para além dos momentos mencionados, deve proceder-se à higienização das mãos sempre que estas se encontrem visivelmente sujas ou contaminadas com sangue ou outros fluídos orgânicos.

A etiqueta respiratória deve ser cumprida por doentes, profissionais de saúde, visitantes e comunidade em geral, de modo a conter as secreções respiratórias e minimizar a propagação de microrganismos por via aérea ou através de gotículas [75]. Ademais, a correta utilização de EPIs, como luvas, máscaras, aventais e óculos de proteção, visa a redução do risco de contaminação de mucosas, vias aéreas, pele e vestuário [45], [75].

No que concerne ao controlo ambiental, é essencial garantir que os espaços de prestação de cuidados de saúde se encontrem organizados e livres de objetos e equipamentos desnecessários, a fim de facilitar a limpeza e desinfeção. A manutenção de um ambiente seco, higienizado e em conformidade com as normas de conservação contribui para a minimização do risco de contaminação ambiental [75].

Em situações específicas, as PBCI podem não ser suficientes para prevenir eficazmente a transmissão de todos os agentes infeciosos, sendo, consequentemente, indicada a implementação de medidas adicionais complementares, baseadas nas vias de transmissão do agente em questão. Assim, as medidas adicionais têm como principais objetivos:

- Implementar barreiras físicas de níveis variáveis para isolamento de proteção ou de contenção;
- Prevenir a transmissão cruzada de microrganismos entre doentes, visitantes e profissionais de saúde;
- Reforçar medidas básicas para a prevenção da transmissão de cada tipo de infeção.

A aplicação rigorosa e sistemática de medidas de prevenção e controlo de transmissão de infeções associadas aos cuidados de saúde constitui um pilar crucial para a melhoria contínua da qualidade dos cuidados de saúde prestados.

CAPÍTULO 3

3 UNIDADE LOCAL DE SAÚDE

3.1 Caracterização da Unidade Local de Saúde

A Unidade Local de Saúde (ULS), criada pelo Decreto-Lei n.º 102/2023, de 7 de novembro, é uma Entidade Pública Empresarial (EPE) integrada no Serviço Nacional de Saúde (SNS), constituída por um Hospital Terciário e dois Agrupamentos de Centros de Saúde [78]. A área de influência da ULS abrange dois distritos, servindo como hospital de primeira linha para seis concelhos e como hospital de segunda linha para a área geográfica remanescente. Desta forma, a instituição presta cuidados de saúde, de forma direta, a uma população de 317 766 utentes e, de forma indireta, a cerca de 1.2 milhões de habitantes.

A unidade hospitalar dispõe de 41 especialidades médicas e cirúrgicas, unidades de cuidados intensivos e intermédios, bem como uma unidade de cuidados especiais neonatais. Com 704 camas, distribuídas por quartos individuais ou duplos, assegura um ambiente adequado para a prestação de cuidados hospitalares. À data de 31 de janeiro de 2024, o hospital possuía cerca de 4458 colaboradores, abrangendo diferentes categorias profissionais, desde médicos, enfermeiros, técnicos superiores, assistentes técnicos e operacionais, técnicos de diagnóstico e terapêutica, técnicos superiores de saúde, entre outros.

A missão da ULS centra-se na prestação de cuidados de saúde de excelência, através de uma prática centrada no cidadão e caracterizada pela qualidade, competência, rigor, eficiência e diferenciação. A instituição promove, ainda, a humanização dos cuidados e o envolvimento com a comunidade, fomentando, simultaneamente, o ensino pré e pós-graduado e a investigação científica, em colaboração com instituições universitárias, nas várias vertentes das ciências da saúde. O seu objetivo passa por consolidar-se como um modelo de excelência no SNS e ser reconhecida como uma organização de referência na promoção de saúde, prevenção da doença e prestação de cuidados de saúde centrados na pessoa, na comunidade e na sustentabilidade financeira e ambiental. Os profissionais de saúde da ULS regem-se, no desenvolvimento da sua atividade, por um conjunto de valores e princípios como respeito, responsabilidade, compromisso, transparência e humanismo, assegurando a dignidade humana.

O hospital caracteriza-se por apresentar uma elevada atividade assistencial, justificada pelo seu âmbito geográfico alargado e pelo conjunto diversificado de especialidades. No primeiro ano, após a

integração na ULS, a unidade hospitalar registou um aumento significativo na prestação de cuidados de saúde. Ao nível das intervenções cirúrgicas, em 2024, o hospital realizou 45 094 cirurgias, representando um aumento de 1 692 em comparação ao período homólogo. Na consulta externa, foram realizadas um total de 567 249 consultas, com um acréscimo de 36 mil em relação a 2023. No que à atividade do Hospital de Dia Médico diz respeito, foram realizadas 89 630 sessões de tratamento, mais 5 247 do que no ano anterior. No Serviço de Urgência foram contabilizados 213 454 episódios de urgência. Ao nível dos exames de diagnóstico, efetuaram-se 4 800 266, mais 218 829 face a 2023.

A atividade diária média na ULS, em 2024, encontra-se representada na Tabela 1, sendo de realçar que os valores médios apresentados para os Cuidados de Saúde Primários são referentes ao ano de 2023.

Tabela 1 | Atividade diária média na Unidade Local de Saúde, em 2024 (adaptado de "Hospital Terciário")

Um Dia na ULS	
Cirurgias	148
Consultas Hospitalares	2242
Consultas Cuidados de Saúde Primários	4705
Sessões de Hospital de Dia	426
Exames e Análises	632
Internamento (Doentes Saídos)	92
Urgências Adultos	447
Urgências Crianças	137
Refeições Servidas	3348
Kg de Resíduos	1982
Kg de Roupa Lavada	3451

O presente projeto de dissertação foi desenvolvido na Unidade Local do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos (UL-PPCIRA). Esta possui o propósito

promover a segurança e a qualidade dos cuidados prestados aos doentes, garantindo a segurança dos doentes, profissionais e visitas. Para tal, tem como objetivos a prevenção das infeções associadas aos cuidados de saúde e a preservação da eficácia dos antimicrobianos, fomentando a adequada utilização dos mesmos. A UL-PPCIRA desempenha um papel fundamental no desenvolvimento e implementação de estratégias de controlo de infeção e resistência antimicrobiana, alinhando-se com as diretrizes nacionais e internacionais.

3.2 Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos

O Programa Nacional de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos (PPCIRA) foi instituído pelo Despacho n.º 2902/2013, de 22 de fevereiro, resultando da fusão dos anteriores programas nacionais de Controlo de Infeções e Prevenção das Resistências aos Antimicrobianos [79]. Os objetivos gerais deste programa residem na redução da incidência de infeções associadas aos cuidados de saúde, promovendo, simultaneamente, a utilização correta e responsável de antimicrobianos e a diminuição da taxa de microrganismos com resistência a agentes antimicrobianos [80].

A prevenção e controlo de infeção são elementos fundamentais na prestação de cuidados de saúde, na medida em que as IACS constituem um dos principais desafios para a segurança do doente [7]. Estas infeções estão geralmente associadas a elevadas taxas de morbilidade e mortalidade, bem como a um impacto significativo nos custos económicos e sociais, prolongando o tempo de internamento e aumentando a necessidade de recursos terapêuticos mais complexos [7].

A governação do PPCIRA assenta numa estrutura com três níveis:

- Nível central, através da Direção Nacional do Programa, integrada na Direção Geral da Saúde e responsável pela definição de políticas e estratégias nacionais;
- Nível regional, através das Unidades Regionais PPCIRA (UR-PPCIRA), que asseguram a coordenação e execução das diretrizes a nível regional;
- Nível local, através das Unidades Locais do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos (UL-PPCIRA), integradas nos estabelecimentos e serviços prestadores de cuidados de saúde do SNS, com a responsabilidade de aplicar as medidas preventivas e monitorizar a sua eficácia [80].

3.2.1 Unidade Local do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos (UL-PPCIRA)

As UL-PPCIRA hospitalares, implementadas em todos os estabelecimentos hospitalares do SNS, promovem e supervisionam as práticas locais de prevenção e controlo de infeção, assim como a utilização responsável de antimicrobianos [80]. Estas unidades são responsáveis por assegurar o cumprimento obrigatório das precauções básicas de controlo de infeção, das precauções baseadas nas vias de transmissão e dos programas de vigilância epidemiológica [80].

Do ponto de vista organizacional, as UL-PPCIRA constituem uma unidade orgânica da instituição hospitalar, tendo um diretor médico e um enfermeiro gestor, ou com funções de gestão, nomeados pelo Concelho de Administração [80]. A sua composição deve ser de natureza multidisciplinar, incluindo, obrigatoriamente, médicos, enfermeiros, farmacêuticos e outros técnicos de saúde ligados à área de intervenção. A diversidade das áreas representadas é essencial para fomentar uma cultura de segurança do doente e garantir uma comunicação eficaz entre todas as partes envolvidas no processo de melhoria contínua da qualidade assistencial [80].

Na ULS em questão, os elementos da UL-PPCIRA são responsáveis pela assessoria técnica em matérias relacionadas com a vigilância epidemiológica, uso de antimicrobianos e prevenção de infeções. Adicionalmente, a UL-PPCIRA dispõem de um núcleo de elementos dinamizadores, formado por representantes de diversos serviços hospitalares, que têm como função facilitar a implementação das estratégias do PPCIRA nos diferentes contextos. A UL-PPCIRA trabalha em parceria com áreas específicas como a Gestão do Risco, Qualidade, Ambiente e Medicina do Trabalho.

De entre os seus principais objetivos incluem-se:

- Prevenção, deteção e controlo de infeções, de modo a reduzir a incidência de IACS;
- Implementação de uma cultura de segurança, parte integrante das atividades diárias dos profissionais;
- Promoção do uso correto de antimicrobianos, de forma a diminuir as resistências antimicrobianas;
- Garantir a segurança dos doentes, profissionais e visitas, minimizando o risco de transmissão de agentes patogénicos.

A estratégia da UL-PPCIRA está organizada em oito vertentes:

- Vigilância epidemiológica;
- Elaboração de orientações e recomendações de boas práticas de prevenção e controlo de infeção e de resistência aos antimicrobianos;
- Consultoria e apoio técnico na prescrição e monitorização da utilização de antibióticos;
- Consultoria e apoio técnico na área de prevenção e controlo de infeção;
- Elaboração e concretização de programas de auditorias;
- Formação e informação a profissionais de saúde, doentes e visitantes;
- Promoção da investigação;
- Elaboração e participação em projetos de melhoria;

3.3 Vigilância Epidemiológica

A vigilância epidemiológica constitui um pilar fundamental para a promoção da saúde pública, sendo coordenada, a nível nacional, pela DGS. Este processo contínuo e sistemático envolve a recolha, análise e interpretação de dados, permitindo a monitorização de eventos de saúde e a implementação de medidas preventivas e corretivas adequadas [1]. Adicionalmente, possibilita a identificação de tendências e padrões epidemiológicos, essenciais para a formulação de estratégias eficazes de controlo de infeções associadas aos cuidados de saúde e resistência antimicrobiana. O objetivo central consiste na monitorização, investigação e controlo de eventos de saúde, que possam representar riscos para a saúde pública.

No âmbito das infeções associadas aos cuidados de saúde, é possível considerar diversos métodos e estratégias de vigilância epidemiológica, nomeadamente vigilância ativa ou passiva, com base no doente ou no laboratório e prospetiva ou retrospetiva. No que concerne à vigilância passiva, profissionais de saúde não relacionados diretamente ao controlo de infeção notificam a ocorrência de infeções. Simultaneamente, profissionais de controlo de infeção realizam auditorias periódicas de adesão às PBCI, entre outras ações direcionadas à prevenção e controlo de infeção. A vigilância efetuada com base no doente compreende a avaliação dos fatores de risco, monitorização de práticas de adesão às PBCI e contabilização da IACS. Quando a monitorização é efetuada de acordo com os resultados das análises laboratoriais, a vigilância é baseada no laboratório. Relativamente à vigilância prospetiva, esta refere-se ao acompanhamento dos doentes enquanto se encontram no ambiente de prestação de cuidados de

saúde, enquanto que a vigilância retrospetiva recorre à verificação dos processos clínicos dos doentes após a alta.

A realização de vigilância epidemiológica tem como intuito quantificar a incidência e a prevalência de infeções associadas aos cuidados de saúde, identificando fatores de risco e eventuais cadeias de transmissão. Adicionalmente, os dados gerados possibilitam a comparação do grau de desempenho a nível nacional e internacional. Neste sentido, são estabelecidos indicadores de desempenho, particularmente a taxa de incidência de IACS por mil dias de internamento, bem como taxas de adesão às PBCI.

A base legal para a vigilância epidemiológica em Portugal está estabelecida na Lei nº 81/2009, de 21 de agosto, que estabelece o Sistema Nacional de Vigilância em Saúde Pública (SINAVE). Este sistema tem como principais funções a identificação e análise de situações de risco, a recolha e atualização de dados epidemiológicos relativos a doenças transmissíveis e outros riscos para a saúde pública, bem como a elaboração de planos de contingência face a situações de emergência [81]. Paralelamente, a vigilância epidemiológica das resistências aos antimicrobianos é assegurada pelo Sistema de Vigilância Epidemiológica das Resistências aos Antimicrobianos, que promove a notificação imediata, à DGS e ao Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), de microrganismos classificados como "alerta" e a notificação periódica de microrganismos designados como "problema", de acordo com os critérios estabelecidos na Norma 004/2013 da DGS [82]. Os microrganismos "alerta" são aqueles que apresentam um padrão de resistência aos antimicrobianos pouco habitual ou cuja prevalência, embora baixa, tem mostrado tendência crescente, em Portugal [82]. Os microrganismos "problema" incluem agentes frequentemente implicados em infeções e com taxas de resistência epidemiologicamente significativas [82]. Esta norma tem como finalidade primordial a redução da transmissão cruzada de microrganismos com resistência aos agentes antimicrobianos, no ambiente hospitalar e comunitário [82].

3.3.1 Vigilância Epidemiológica no Hospital Terciário

A vigilância epidemiológica efetuada no Hospital Terciário tem como principal finalidade a identificação de doentes suscetíveis, bem como de áreas hospitalares de maior risco, de modo a avaliar continuamente a eficácia das medidas de intervenção adotadas, recursos atribuídos e prioridades nas práticas de prevenção da transmissão cruzada. A monitorização de indicadores possibilita a deteção de

mudanças epidemiológicas relevantes ao longo do tempo, bem como a identificação de oportunidades de melhoria na prestação de cuidados de saúde.

A UL-PPCIRA efetua vigilância ativa e sistemática de microrganismos multirresistentes (MMR) ou epidemiologicamente importantes (MEI) em toda a unidade hospitalar. Estes microrganismos encontram-se associados a infeções potencialmente graves, de difícil tratamento, resultando num aumento da morbilidade e mortalidade, assim como do tempo de internamento e dos custos associados. Uma vez que a transmissão pode ocorrer por diferentes vias, incluindo contacto direto entre profissionais de saúde e doentes, transmissão cruzada entre doentes ou por contaminação ambiental, a UL-PPCIRA adota medidas que previnem a sua disseminação, tais como: i) o cumprimento das precauções básicas, nomeadamente a higiene das mãos; ii) o isolamento de contacto dos doentes colonizados e infetados; iii) a higienização ambiental e iv) o uso criterioso de antimicrobianos.

Os MMR para os quais a UL-PPCIRA preconizou a aplicação de medidas adicionais de contenção, procedendo ao isolamento dos doentes, são o *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina (VRSA), *Staphylococcus aureus* intermédio à vancomicina (VISA), *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE), *Acinetobacter baumannii* multirresistente (ABMR) e *Enterobacterales* resistentes aos carbapenemes (CRE). Adicionalmente, microrganismos gram-negativos produtores de β-lactamases de espetro estendido (ESBL) não são, por rotina, alvo de isolamento de contacto, exceto nos casos em que a estirpe apresente resistência aos carbapenemes e na situação específica da Unidade de Cuidados Intensivos Pediátricos e Neonatais

De mencionar a realização de estudos de incidência de infeção de acordo com os dados epidemiológicos obtidos em estudos de prevalência, sendo estas análises conduzidas de forma contínua ou com uma duração mínima de três meses em serviços específicos. Adicionalmente, é efetuada a monitorização regular da adesão às boas práticas de higiene das mãos, de acordo com os cinco momentos preconizados pela OMS, bem como a avaliação dos procedimentos de higienização e o cumprimento dos protocolos de isolamento de contacto, fornecendo os respetivos feedbacks aos profissionais envolvidos.

A estratégia de vigilância epidemiológica estabelecida pela UL-PPCIRA inclui as seguintes ações:

- Realização de vigilância ativa de microrganismos epidemiologicamente importantes;
- Monitorização das resistências aos antimicrobianos, com especial atenção ao MRSA e CRE;
- Investigação e contenção de surtos hospitalares;
- Avaliação da taxa de infeção adquirida no hospital e do consumo de antimicrobianos;

- Realização de estudo de incidência de infeções de acordo com os resultados identificados no estudo de prevalência;
- Realização de estudos de incidência de infeção, de modo contínuo, para as seguintes infeções: infeção do local cirúrgico, infeção urinária associada a cateter vesical, infeção da corrente sanguínea relacionada com cateter venoso central, pneumonia associada a intubação e infeção por *Clostridioides difficile*;
- Monitorização do consumo de antibióticos;
- Monitorização dos indicadores que integram o Programa de Apoio à Prescrição de Antimicrobianos;
- Realização de estudos adicionais que a UL-PPCIRA julgue oportunos, de acordo com as necessidades identificadas;
- Realização de estudos emanados pela DGS e PPCIRA;
- Divulgação periódica dos indicadores de qualidade da UL-PPCIRA.

De seguida, serão enunciados os microrganismos predominantes na unidade hospitalar, cuja monitorização é essencial no âmbito da vigilância epidemiológica de infeções associadas aos cuidados de saúde.

3.3.1.1 *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina (MRSA)

Staphylococcus aureus é uma bactéria gram-positiva, de morfologia cocóide, que integra a microbiota comensal da pele e mucosas de indivíduos saudáveis [83], [84], [85]. Este microrganismo oportunista, de metabolismo anaeróbio facultativo, possui elevada capacidade de adaptação a condições ambientais adversas, persistindo em ambientes com pH moderadamente ácido (4,0 – 6,0), temperaturas entre os 7 ℃ e os 46 ℃ e em meios com concentrações salinas elevadas (5 - 7 % de NaCL) [86], [87]. A sua patogenicidade deve-se à produção de diversos fatores de virulência, incluindo enzimas e toxinas, e à possibilidade de formação de biofilmes, o que favorece a adesão e persistência em superfícies abióticas, como dispositivos médicos, em ambientes de prestação de cuidados de saúde [83], [88], [89].

Nos últimos anos, esta espécie bacteriana tem revelado a aquisição de mecanismos de resistência antimicrobianos, com destaque para as estirpes resistentes à meticilina, MRSA [83], [85], [86]. As primeiras estirpes de MRSA foram identificadas na década de 1960, pouco tempo após a introdução da meticilina na prática clínica [90]. Estas estirpes são, atualmente, uma das principais

causas de infeções associadas aos cuidados de saúde, bem como de infeções adquiridas na comunidade [86], [91]. Na Europa, de acordo com o terceiro inquérito de prevalência pontual de infeções associadas aos cuidados de saúde e de utilização de antimicrobianos, coordenado pelo Centro Europeu de Prevenção e Controlo de Doenças (ECDC), em 2022-2023, foi reportada uma taxa de resistência à meticilina em 27,3 % dos isolados de *S. aureus* [91].

3.3.1.2 *Enterobacterales* Resistentes aos Carbapenemes (CRE)

As *Enterobacterales* constituem uma família de bactérias gram-negativas, facultativamente anaeróbias, com distribuição ubíqua no ambiente e habituais constituintes da microbiota intestinal de humanos e outros animais [92], [93], [94]. Estas bactérias intervêm em processos fisiológicos, mas também constituem agentes patogénicos oportunistas, particularmente em infeções associadas aos cuidados de saúde [93], [95]. Entre as principais infeções, de origem nosocomial, causadas por *Enterobacteriales*, são de realçar as infeções do trato urinário, pneumonias associadas à ventilação, bacteriemias e endocardites [93], [96].

A resistência aos carbapenemes, neste grupo bacteriano, resulta de dois mecanismos principais, distinguindo a resistência adaptativa, não transmissível entre bactérias e que surge como resposta à pressão seletiva induzida pelo uso de antibióticos, e a resistência adquirida, mediada por elementos genéticos móveis, como plasmídeos, que frequentemente codificam enzimas hidrolíticas [97], [98], [99]. Estas enzimas, designadas carbapenemases, hidrolisam antibióticos β-lactâmicos de espetro alargado, comprometendo a eficácia terapêutica [100], [101]. De entre os principais agentes envolvidos destacam-se espécies como *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, associadas frequentemente a surtos em contexto hospitalar [98], [102]. As *Enterobacterales* resistentes aos carbapenemes apresentam perfis de resistência distintos, consoante elementos genéticos e o tipo de carbapenemase produzida, como *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC), Imipenem Metalo-β-lactamase (IMP), *Verona Integron-encoded* Metalo-β-lactamase (VIM), *New Delhi* Metalo-β-lactamase (NDM) e Oxacilinase (OXA-78) [103], [104].

3.3.1.3 *Enterococcus* Resistente à Vancomicina (VRE)

Os *Enterococcus* são cocos gram-positivos, anaeróbios facultativos, que colonizam predominantemente o trato gastrointestinal humano e de diversos animais [105], [106]. Embora constituam parte do microbioma intestinal normal, podem causar infeções graves em doentes

hospitalizados e submetidos a terapêutica antimicrobiana [105]. As principais manifestações clínicas associadas a estes microrganismos incluem infeções do trato urinário, bacteriemias e infeções do local cirúrgico [105], [107].

Estudos demonstram que *Enterococcus spp.*, nomeadamente *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*, possuem uma elevada capacidade de adaptação a condições ambientais desfavoráveis [105]. Estes microrganismos apresentam tolerância a sais biliares e detergentes, o que lhes permite persistir no trato gastrointestinal e em superfícies hospitalares [107]. Além do mais, exibem elevada resistência a antissépticos e desinfetantes comuns, bem como à radiação ultravioleta, o que contribui para a sua sobrevivência em ambientes hospitalares por longos períodos [107], [108]. A capacidade de formação de biofilmes em superfícies abióticas, como dispositivos médicos, constitui um fator adicional de resistência aos procedimentos de higienização, promovendo a manutenção destes microrganismos em contextos de prestação de cuidados de saúde e representando um desafio adicional no controlo de infeções hospitalares [105], [109].

O principal desafio clínico associado aos *Enterococcus*, reside na sua reduzida suscetibilidade a antibióticos, em consequência da combinação de resistências intrínsecas e adquiridas [105], [110]. Estes microrganismos têm desenvolvido mecanismos de resistência a aminoglicosídeos, penicilinas, cefalosporinas e glicopeptídeos, destacando-se estirpes resistentes à vancomicina (*Enterococcus* resistente à vancomicina - VRE) [105], [110], [111]. O mecanismo de resistência à vancomicina resulta da modificação da estrutura do peptidoglicano na parede celular bacteriana, reduzindo a afinidade pelo antibiótico e comprometendo a sua eficácia terapêutica. A primeira estirpe de VRE foi isolada em 1986, na França, e, no início do século XXI, a sua disseminação assumiu uma escala global, com isolamentos reportados em todos os continentes [105], [112].

3.3.1.4 *Clostridioides difficile*

O *Clostridioides difficile* é um bacilo gram-positivo, anaeróbio obrigatório, que apresenta duas formas principais, a forma vegetativa e a forma de esporo [113], [114]. A forma vegetativa integra a microbiota intestinal de aproximadamente 5 % dos adultos saudáveis e 15-70 % das crianças [115]. A forma vegetativa é sensível à exposição ao oxigénio, enquanto os esporos demonstram elevada resistência a condições adversas, nomeadamente agentes antimicrobianos, desinfetantes, variações extremas de temperatura e radiação ultravioleta [113], [116], [117]. Esta capacidade de esporulação confere ao microrganismo uma notável persistência ambiental, contribuindo para a sua disseminação.

A sua virulência tem por base a produção de toxinas que induzem a inflamação e dano tecidual no trato gastrointestinal, conduzindo ao desenvolvimento de infeções sintomáticas [113], [118]. A transmissão de *C. difficile* ocorre, predominantemente, por via fecal-oral, através da inalação ou ingestão de esporos presentes em superfícies contaminadas, onde podem permanecer viáveis por meses ou anos [113], [115], [119]. Os esporos são altamente resistentes a muitos desinfetantes comuns, sendo recomendado o uso de produtos à base de cloro para a descontaminação eficaz de superfícies em ambientes de prestação de cuidados de saúde [114]. Após a ingestão, os esporos germinam no intestino delgado, dando origem às formas vegetativas que colonizam o trato gastrointestinal [119], [120]. Em hospedeiros saudáveis, essa colonização é, geralmente, assintomática, uma vez que a microbiota comensal exerce um efeito protetor, inibindo a proliferação excessiva do patógeno [117]. No entanto, a terapêutica antibiótica de largo espetro pode comprometer esse equilíbrio, favorecendo a proliferação de *C. difficile* e o desenvolvimento de infeções [119], [120], [121], [122].

No âmbito da vigilância epidemiológica, a ULS colabora com o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) na vigilância de infeções por *C. difficile*, integrando o Programa Europeu de Vigilância de Infeção por *Clostridioides difficile*. Esta colaboração reforça a capacidade de deteção precoce e resposta a surtos, contribuindo para a prevenção e controlo de disseminação deste agente infecioso.

3.3.1.5 Acinetobacter baumannii Multirresistente

Durante décadas, o *Acinetobacter baumannii* foi considerado um agente de reduzida patogenicidade. Contudo, atualmente revela múltiplos fatores de virulência, que possibilitam a sua sobrevivência e adaptação a ambientes hostis, incluindo o ambiente hospitalar [123], [124]. Entre estes fatores destacam-se a formação de biofilmes, a produção de enzimas hidrolíticas e a resistência intrínseca a desinfetantes e antissépticos, o que favorece a sua persistência em superfícies e dispostos médicos [124], [125], [126].

As estirpes multirresistente (ABMR) são definidas pela resistência a, pelo menos, três classes de antibióticos comumente utilizadas no tratamento de infeções provocadas por este agente, incluindo carbapenemes, aminoglicosídeos e fluoroquinolonas [127], [128]. Esta multirresistência resulta, frequentemente, da aquisição de mecanismos genéticos, como a produção de β-lactamases de espetro estendido (ESBL) e carbapenemases [129], [130]. A disseminação de estirpes de ABMR constitui um desafio significativo para a saúde pública, limitando as opções terapêuticas e contribuindo para o

aumentando da morbilidade e mortalidade associadas [131]. Indivíduos imunocomprometidos, como doentes oncológicos, transplantados, com queimaduras extensas ou com utilização de dispositivos médicos invasivos são particularmente suscetíveis a infeções por ABMR [132]. A implementação de programas de gestão de antimicrobianos e a adoção de medidas rigorosas de prevenção e controlo de infeção são fundamentais para mitigar a sua transmissão [126].

3.3.1.6 Pseudomonas aeruginosa Multirresistente

A *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente (PAMR) apresenta resistência a quase todas as classes de antimicrobianos, devido a múltiplos mecanismos de resistência, incluindo a produção de ESBL, carbapenemases e expressão de bombas de efluxo que expulsam o fármaco do interior da célula bacteriana [133], [134], [135]. A sua capacidade de formação de biofilmes promove a persistência em superfícies hospitalares e dispositivos médicos [136], [137].

Os indivíduos mais suscetíveis a infeções por este microrganismo incluem doentes imunocomprometidos, como doentes com neoplasias, transplantados ou sob terapêutica imunossupressora, bem como doentes internados em unidades de cuidados intensivos [135], [138]. Além do mais, a exposição prévia a antibióticos de largo espetro, como carbapenemes ou fluoroquinolonas nos últimos três meses, constitui um fator de risco considerável para a colonização e infeção por PAMR [139], [140].

Na unidade hospitalar, recomenda-se o isolamento de doentes com infeção ou colonização por agentes multirresistentes, devendo ser colocados em quartos individuais ou em coorte com outros doentes portadores do mesmo agente. De mencionar que o rastreio de ABMR é realizado simultaneamente com os rastreios de CRE e VRE, através de exames culturais, reforçando a importância de uma abordagem integrada para o controlo de infeções por agentes multirresistentes.

3.3.1.7 *Enterobacterales* Produtoras de Beta - Lactamases de Espetro Estendido (ESBL)

As *Enterobacterales* produtoras de β-lactamases de espetro estendido (ESBL) constituem um grupo de bactérias caracterizadas pela produção de enzimas que conferem resistência a uma vasta gama de antimicrobianos β-lactâmicos, nomeadamente penicilinas, cefalosporinas de terceira geração e monobactâmicos, através da hidrólise do anel β-lactâmico, inativando a ação dos fármacos [100], [141].

A disseminação dos mecanismos de resistência em ambientes hospitalares e comunitários deve-se, essencialmente, à transferência horizontal de elementos genéticos móveis, os plasmídeos, que codificam genes de ESBL, facilitando a dispersão entre espécies bacterianas diferentes [141], [142]. Estes microrganismos apresentam, regularmente, mecanismos de resistência adicionais, como a produção de carbapenemases, o que condiciona as opções terapêuticas disponíveis [142], [143].

As *Enterobacterales* produtoras de ESBL causam, frequentemente, infeções associadas aos cuidados de saúde, que podem afetar diversos sistemas orgânicos, em especial infeções do trato urinário, infeções respiratórias e da corrente sanguínea, particularmente em doentes imunocomprometidos [144], [145]. De entre as espécies de maior relevância clínica incluem-se os géneros *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, responsáveis por uma elevada proporção dessas infeções [104], [145].

A transmissão deste grupo de microrganismos ocorre, essencialmente, de forma horizontal, através do contacto direto com superfícies contaminadas, entre doentes e profissionais de saúde, ou ainda por meio de dispositivos médicos invasivos contaminados [142], [145], [146]. Fatores de risco, como a utilização prolongada de antibióticos, comorbilidades e imunossupressão aumentam a probabilidade de colonização e infeção por estes agentes infeciosos [146].

Na unidade hospitalar a estratégia de isolamento de doentes colonizados ou infetados por estas bactérias é apenas efetuada, atualmente, no Serviço de Neonatologia. Este procedimento visa proteger os neonatos, particularmente suscetíveis a infeções graves, devido à imaturidade do seu sistema imunológico.

3.4 Plano de Higienização

A higienização das diferentes áreas hospitalares é crucial para prevenir e controlar a transmissão de IACS, constituindo umas das Precauções Básicas de Controlo de Infeção [45], [75]. O desenvolvimento e implementação de um plano de higienização hospitalar é um processo complexo que envolve várias entidades responsáveis, na medida em que é imprescindível a adaptação dos procedimentos de higienização consoante a criticidade das diferentes áreas hospitalares.

As áreas hospitalares podem ser classificadas em três categorias, consoante o risco de transmissão de microrganismos:

- Áreas não críticas, onde o risco de transmissão é praticamente nulo, particularmente em salas de espera e corredores administrativos;

- Áreas semicríticas, nas quais o risco de transmissão de agentes infeciosos existe, embora seja reduzido, incluindo consultórios médicos;
- Áreas críticas, caracterizadas por um elevado risco de transmissão de doenças infeciosas, nomeadamente bloco operatório [30], [45].

A higienização deve ser realizada, no mínimo, uma vez por dia e sempre que as superfícies se encontrem visivelmente sujas ou contaminadas com fluidos orgânicos [30]. A contaminação com sangue ou outros fluidos orgânicos requer a atenção de todos os profissionais, sendo crucial a existência de procedimentos pré-definidos e a formação contínua dos profissionais, assegurando uma ação rápida e eficaz [45].

Neste sentido, de modo a reduzir o risco de transmissão de infeções associadas aos cuidados de saúde e melhorar os resultados obtidos, a elaboração e implementação de um plano de higienização deve envolver quatro etapas principais: avaliação, seleção, implementação e monitorização. Primeiramente, é necessário avaliar as necessidades e objetivos da instituição, observar as práticas de limpeza e desinfeção atuais e identificar eventuais áreas de melhoria [147]. Posteriormente, devem ser selecionados os métodos e produtos de higienização, respondendo a quaisquer requisitos individuais para redução do risco, melhoria dos resultados e eficiência operacional [30]. A formação de todos os profissionais envolvidos, relativamente à utilização dos produtos e implementação dos procedimentos, torna-se fundamental, de modo a garantir a correta utilização e implementação. A realização de formações contínuas a profissionais de saúde, deve abranger temas como a higienização das mãos, correta utilização de equipamentos de proteção individual e aplicação adequada de produtos de limpeza e desinfeção, assegurando a adesão às boas práticas e a redução do risco de transmissão de IACS. Por fim, a validação da eficácia de higienização permite medir objetivamente o desempenho da higienização e identificar novas áreas de intervenção. Para monitorizar a eficiência e eficácia da higienização, podem ser utilizadas técnicas como a avaliação microbiológica das superfícies, por meio da recolha de amostras, ou o recurso a técnicas de marcação fluorescente com adenosina trifosfato (ATP), que possibilitam a obtenção rápida de resultados [148], [149].

A formação contínua de todos os profissionais, bem como a monitorização ambiental são essenciais para a obtenção de um ambiente corretamente higienizado. A UL-PPCIRA, em colaboração com o Serviço de Gestão Hoteleira, é responsável pela implementação e monitorização de tais procedimentos, através da realização de auditorias periódicas, nas quais se avaliam indicadores de desempenho, como a taxa de contaminação microbiológica e a adesão aos procedimentos de higienização.

No que ao plano de higienização do hospital terciário diz respeito, constata-se a existência de procedimentos gerais e específicos que estabelecem a metodologia a seguir para uma correta higienização dos diversos espaços.

3.4.1 Higienização da Unidade do Doente

A higienização da unidade do doente constitui uma precaução básica e fundamental ao nível da prevenção e controlo da transmissão cruzada de infeções, encontrando-se descritos os procedimentos a adotar na higienização diária, higienização após a alta do doente e higienização em caso de isolamento de contenção, sendo estes aplicados a todos os serviços de internamento. De notar a existência de procedimentos específicos para determinadas áreas, tais como o Serviço de Medicina Intensiva e a Neonatologia. Tais procedimentos específicos são elaborados pela UL-PPCIRA em colaboração com os respetivos serviços e o Serviço de Gestão Hoteleira, de forma a existir uma política global de controlo de infeção, no que respeita à higiene e segurança ambiental.

No Apêndice 1 encontra-se parte do procedimento de higienização da unidade do doente, atualmente em vigor na unidade hospitalar em questão.

3.5 Rede Predial

A rede predial hospitalar consiste no conjunto integrado de instalações e equipamentos que asseguram o funcionamento adequado de todas as infraestruturas hidráulicas e sanitárias no interior de um edifício hospitalar [150], [151]. Esta compreende as instalações técnicas que garantem o abastecimento de água, a drenagem de águas residuais e pluviais, bem como os dispositivos de controlo e manutenção necessários para o cumprimento das exigências operacionais [151]. Os constituintes da rede predial hospitalar incluem a rede de distribuição de água, nomeadamente a rede de água fria e de água quente, bem como a rede de águas residuais e pluviais. Adicionalmente, consta de instalações complementares [151].

A construção de um edifício hospitalar é efetuada tendo em consideração o documento desenvolvido pela Administração Central do Sistema de Saúde (ACSS), designado Recomendações e Especificações Técnicas do Edifício Hospitalar, 2022, de modo a assegurar níveis de qualidade [150]. Entre as especificações técnicas constam aspetos de conceção, construção e manutenção do edifício hospitalar na especialidade de arquitetura, bem como recomendações e especificações referentes às

instalações e equipamentos de águas e esgotos, equipamentos elétricos e de comunicações e equipamentos mecânicos [150].

No que concerne aos equipamentos sanitários, mais especificamente lavatórios, estes devem ser, preferencialmente, suspensos e as torneiras deverão ser de comando não manual (acionadas por pedal, cotovelo, sensor ou temporizador) em lavatórios de uso clínico e em locais que se destinem à lavagem das mãos de profissionais, pacientes e visitantes [151], [152]. Tal especificação visa minimizar o risco de transmissão cruzada através do contacto manual com as superfícies das torneiras. Os lavatórios de uso clínico devem apresentar dimensões suficientemente amplas para conter os salpicos produzidos durante a aplicação da técnica de lavagem das mãos e a sua bacia deve ser curva para prevenir salpicos e acumulação de resíduos [151], [152].

Os materiais selecionados para a execução das redes de distribuição de água, incluindo os constituintes das tubagens integradas nas redes prediais de distribuição não deverão ser suscetíveis de alterar a qualidade da água [151]. Devem também ser selecionados em função da compatibilidade com as características da água a conduzir, prevenindo a ocorrência de fenómenos de degradação e corrosão [151]. Adicionalmente, os materiais que constituem as redes de distribuição devem ser resistentes à ação de agentes biocidas e, simultaneamente, tolerar temperaturas elevadas [151]. Entre os materiais constituintes das tubagens frequentemente recomendados são de realçar o aço inoxidável, polietileno de alta densidade (PEAD) e policloreto de vinila não plastificado (PVC-U), sendo estabelecidas pela ACSS as condições específicas de soldadura e monitorização, entre outras [151], [152]. Na rede de águas residuais e pluviais, os ramais de descarga devem ser executados em PVC rígido, enquanto os tubos de queda e coletores prediais elevados para águas residuais domésticas devem ser executados em ferro fundido ou PVC rígido, garantindo adequada resistência e durabilidade [151], [152].

A forma e características das tubagens e ralos dos lavatórios hospitalares são determinantes para prevenir a colonização microbiana e a formação de biofilmes [153]. As tubagens devem apresentar superfícies internas lisas, sem qualquer rugosidade [154]. Adicionalmente, o sifão deverá ser do tipo copo ou garrafa, *bottle-trap*, ao invés dos tradicionais em forma de "P", *P-trap*, ou "S" [155], [156]. Este consiste num copo cilíndrico acoplado diretamente à saída do lavatório, possibilitando a inspeção e higienização regulares, bem como a retenção de pequenos resíduos sólidos evitando eventuais entupimentos [157]. Os sifões tradicionais dificultam a higienização e promovem a formação de biofilmes [158]. No que concerne ao ralo dos lavatórios, este deve apresentar uma grelha côncava sem retenção de água e sem parafuso central, evitando assim a incrustação de resíduos e facilitando a manutenção e higienização [159], [160].

No que diz respeito à ULS em que foi efetuado o estudo em questão, a rede predial foi executada tendo em consideração as Recomendações e Especificações Técnicas do Edifício Hospitalar, bem como as Especificações Técnicas para Instalações e Equipamentos de Águas e Esgotos em Edifícios Hospitalares preconizadas pela ACSS. Contudo, são de realçar alguns aspetos que devem ser tidos em consideração. Os lavatórios da unidade hospitalar em estudo apresentam configurações distintas, diferindo maioritariamente entre os lavatórios existentes nas instalações sanitárias da unidade do doente e os lavatórios presentes nas salas de preparação de medicação. Os primeiros são constituídos por torneiras de contacto manual e pias curtas, verificando-se, ainda, a presença de sifões em forma de copo e de ralos com parafuso central (Figura 2 e 4). Relativamente aos lavatórios das salas de preparação de medicação, estes possuem torneiras de contacto não manual, com bacias amplas, sifões em forma de copo e ralos com ausência de grelha côncava e existência de parafuso central (Figura 3 e 5).



Figura 2| Lavatório das instalações sanitárias da unidade do doente.



Figura 3| Lavatório das salas de preparação de medicação.



Figura 4| Sifão em forma de copo dos lavatórios das instalações sanitárias da unidade do doente.



Figura 5| Sifão em forma de copo dos lavatórios das salas de preparação de medicação.

3.6 Biofilmes

Na natureza os microrganismos podem existir na sua forma planctónica, ou seja, numa suspensão em meio líquido, ou na forma de agregados celulares, constituindo biofilmes. Maioritariamente, os microrganismos não se encontram na forma planctónica, mas sim integrados numa matriz de material polimérico, isto é, na forma de biofilme [161], [162], [163]. A definição de biofilme tem evoluído ao longo do tempo, acompanhando os avanços na compreensão da sua estrutura e dinâmica. Os biofilmes são comunidades de células microbianas, organizadas numa estrutura tridimensional complexa, aderidas a uma superfície, biótica ou abiótica, e envoltas numa camada heterogénea de compostos extracelulares, definida matriz do biofilme [161], [162], [163]. A matriz extracelular é constituída por substâncias poliméricas, sendo predominantes os polissacarídeos, mas também contém outras biomoléculas como proteínas, lípidos e ácidos nucleicos [19], [162], [163]. Um biofilme pode ser composto por uma única espécie microbiana ou constituir uma comunidade heterogénea, formada por diferentes espécies de microrganismos [19].

A formação e estabilização de um biofilme requer interações entre células e superfícies, bem como interações intercelulares [19]. Este processo é complexo e envolve várias etapas, sendo estas adesão reversível das células às superfícies, adesão irreversível, maturação do biofilme e, por fim,

dispersão [161], [162], [163], [164]. Numa primeira fase, verifica-se a adesão reversível de microrganismos planctónicos às superfícies, mediada por organelos extracelulares e proteínas [165], [166]. Posteriormente, a secreção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) promove a adesão celular irreversível [167], [168]. Na terceira etapa, correspondente à maturação do biofilme, as EPS desempenham um papel crucial, auxiliando a fixação microbiana e a estabilização da estrutura tridimensional do biofilme [169], [170]. Por fim, as células microbianas podem destacar-se da estrutura do biofilme ou dispersar-se em agregados, de modo a colonizar outras superfícies [171], [172], [173].

A estrutura do biofilme proporciona diversas vantagens aos microrganismos, em comparação com as suas formas planctónicas [174], [175]. Os biofilmes auxiliam a proliferação de bactérias no ambiente, favorecendo a sua fixação em diversas superfícies e protegendo-as contra predação, dessecação, ação de antibióticos e resposta imunológica do hospedeiro [19], [176]. As células bacterianas em biofilme apresentam alterações fenotípicas, nomeadamente alterações no metabolismo, modificações na velocidade de crescimento, diferenças na transcrição genética e aumento da resistência a agentes antimicrobianos [161], [162], [177]. Os microrganismos presentes num biofilme apresentam diferentes taxas de crescimento, encontrando-se em diferentes fases do ciclo celular, o que torna mais complexa a sua erradicação completa por antibióticos e/ou desinfetantes [179]. A maior resistência a agentes antimicrobianos deve-se à modificação na expressão genética e ao desenvolvimento de barreiras físicas e químicas, que condicionam a penetração desses compostos [165], [180], [181]. A regulação da expressão genética pode ser positiva ou negativa, permitindo que os microrganismos ajustem as suas características conforme as condições ambientais [178].

Além do mais, um biofilme constitui o ambiente ideal para a transferência de elementos genéticos móveis, incluindo genes de resistência a agentes antimicrobianos [181], [182]. O mecanismo de transferência horizontal de elementos genéticos, frequentemente mediado por plasmídeos, contribui para a transmissão de mecanismos de resistência, tornando os biofilmes um fator crítico na seleção de microrganismos multirresistentes [165], [183]. Dado que estes plasmídeos podem codificar a resistência a múltiplos agentes antimicrobianos, os biofilmes fornecem um mecanismo para selecionar e promover a disseminação da resistência aos agentes antimicrobianos [165], [180], [184]. Em reservatórios ambientais, como os lavatórios hospitalares, esta dinâmica microbiológica assume especial importância, visto que estes microrganismos têm a capacidade de persistir, neste ambiente, por longos períodos, conduzindo, eventualmente à transmissão de IACS [185].

Os biofilmes podem formar-se em várias superfícies, incluindo tecidos vivos, dispositivos médicos, como implantes, cateteres e lentes de contacto e equipamentos dos sistemas de água [165],

[180], [186]. A interface sólido-líquido entre uma superfície e um meio aquoso (por exemplo, água ou sangue) favorece a fixação e crescimento de microrganismos [165]. As propriedades físico-químicas das superfícies influenciam esse processo [165], [187]. Estudos indicam que a extensão de colonização microbiana aumenta com a rugosidade da superfície, devido à redução das forças de cisalhamento e ao aumento da área de superfície disponível para adesão [165], [187]. Além do mais, os microrganismos tendem a aderir mais rapidamente a superfícies hidrofóbicas e não polares, como materiais poliméricas, em comparação com materiais hidrofílicos, como o vidro ou os metais [188], [189]. A disponibilidade de nutrientes, o pH e a temperatura são fatores que influenciam a adesão celular a superfícies [190].

3.6.1 Lavatórios em contexto hospitalar

Neste contexto, surge a necessidade de avaliar o impacto dos lavatórios, em particular dos seus ralos e tubagens, como potenciais reservatórios de microrganismos patogénicos e a sua possível contribuição para a contaminação de superfícies adjacentes, podendo eventualmente levar à colonização e/ou infeção de doentes ou profissionais de saúde [191], [192], [193]. Efetivamente, estes sistemas constituem um ambiente ideal, promovendo condições favoráveis, para o crescimento e proliferação de microrganismos, essencialmente através da formação de biofilmes [12], [193], [194]. A interface solído-líquido entre uma superfície e um meio aquoso, tal como a que se estabelece nas tubagens e ralos de lavatórios, a temperatura e pH adequados e a disponibilidade de nutrientes proporcionam um ambiente propício para a adesão e crescimento de microrganismo, promovendo a estruturação de comunidade microbianas organizadas em biofilmes [165], [190].

Estes podem não só conter microrganismos clinicamente relevantes, como também constituir um reservatório de elementos genéticos móveis, incluindo genes de resistência a antibióticos ou virulência [195], [196], [197]. Adicionalmente, os lavatórios podem ser indicativos da flora endémica hospitalar, sendo fortemente influenciada por pressões seletivas, nomeadamente as que resultam da utilização de agentes antimicrobianos [196], [197].

As células bacterianas, que compõem o biofilme, podem eventualmente disseminar-se, durante a utilização dos lavatórios, por meio de gotículas, contaminando as superfícies adjacentes [22], [198]. Deste modo, surge uma preocupação crescente relativamente ao impacto da projeção de gotículas contaminadas para as superfícies adjacentes e consequente transmissão cruzada de infeções, em contexto hospitalar.

Os microrganismos que colonizam estes ambientes variam desde agentes patogénicos oportunistas a comensais, incluindo bactérias resistentes a antibióticos. A maioria dos estudos concentra-se na colonização de lavatórios por bactérias como *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas spp.* e *Enterobacter spp.*, mas também *Stenotrophomonas maltophilia* e *Citribacter freundii*, bem como outros microrganismos gram-negativos que proliferam, predominantemente, em ambientes húmidos [185], [191], [195], [199], [200]. São vários os fatores que contribuem para a colonização microbiológica dos lavatórios, nomeadamente a lavagem das mãos, eliminação de fluídos químicos e biológicos, a sua configuração e os procedimentos de higienização aplicados [15].

A crescente disseminação de microrganismos resistentes aos agentes antimicrobianos tem levado à investigação do papel das instalações sanitárias, nomeadamente dos lavatórios, como fontes de infeções associadas aos cuidados de saúde, essencialmente entre indivíduos imunocomprometidos. Alguns dos estudos efetuados demonstram o isolamento de bactérias clinicamente relevantes a partir de lavatórios, bem como a associação destes microrganismos à ocorrência de surtos em ambiente hospitalar [14], [183], [191], [201], [202]. No entanto, existe dificuldade em estabelecer a direccionalidade da transmissão, isto é, estabelecer uma sequência temporal dos acontecimentos, de modo a identificar se colonização ou infeção do indivíduo ocorreu após a exposição ao lavatório ou superfícies adjacentes contaminadas ou o contrário [203], [204]. Para tal, seria necessário proceder à análise microbiológica dos lavatórios por rotina, a fim de determinar se a contaminação do lavatório ocorreu previamente à aquisição da infeção ou colonização [191].

A existência de lavatórios nos ambientes de prestação de cuidados de saúde, apesar do seu potencial enquanto reservatórios de microrganismos patogénicos, é essencial e consta das diretrizes nacionais e internacionais, de modo a promover a higienização das mãos, quer por doentes e visitas, quer por profissionais de saúde.

CAPÍTULO 4

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo encontram-se descritos os procedimentos metodológicos adotados para a caracterização da flora microbiana presente na rede predial do hospital em estudo. Especificamente, incluem-se o método de recolha, transporte, armazenamento das amostras, bem como as técnicas de processamento laboratorial empregues e a identificação dos pontos de amostragem e respetivas características.

4.1 Amostragem

A etapa de amostragem é determinante para o estudo em questão, na medida em que permite assegurar a representatividade das amostras e a consistência e fiabilidade dos resultados obtidos. Com a finalidade de caracterizar a flora microbiana presente na rede predial e avaliar a existência de projeção de gotículas a partir de lavatórios, foram recolhidas amostras durante um período de seis meses (janeiro a junho de 2025), em cinco serviços de internamento da unidade hospitalar e na Unidade de Cuidados Intensivos Neonatais e Pediátricos, perfazendo um total de 29 amostras.

4.1.1 Pontos de Amostragem

A seleção dos pontos de amostragem teve em consideração a representatividade de diferentes contextos hospitalares, abrangendo cinco serviços de internamento médicos e cirúrgicos, nomeadamente o Serviço de Infeciologia, Cirurgia Geral, Ortopedia, Medicina Interna e Pediatria, e a Unidade de Cuidados Intensivos Neonatais e Pediátricos, com especificidades estruturais e funcionais distintas. Estes locais foram selecionados por apresentarem perfis clínicos diversos associados à realização de procedimentos invasivos, assim como um elevado fluxo de doentes, incluindo indivíduos imunocomprometidos. Neste sentido, constituem áreas de reconhecida criticidade no que diz respeito ao risco de infeções associadas aos cuidados de saúde.

Em cada Serviço de Internamento foram estabelecidos três pontos de amostragem, correspondentes a: i) lavatório das instalações sanitárias da unidade do doente (previamente higienizado após a alta); ii) lavatório da sala de preparação de medicação e iii) superfície adjacente na qual se procede

à preparação de medicação, higienizada de acordo com os planos de higienização em vigor. Estes locais foram selecionados por constituírem simultaneamente superfícies de contacto frequente e áreas expostas à projeção de gotículas, tornando-se potenciais reservatórios de microrganismos viáveis. Ressalva-se que tais lavatórios se destinam à lavagem das mãos, por parte de utentes e profissionais de saúde, respetivamente, não estando preconizada qualquer outra utilização.

Na Unidade de Cuidados Intensivos Neonatais e Pediátricos, atendendo às especificidades do espaço, procedeu-se à recolha de um maior número de amostras: sete lavatórios e sete superfícies adjacentes, distribuídos pelas áreas de Cuidados Intensivos e Intermédios Neonatais, perfazendo um total de catorze amostras. A Tabela 2 indica a distribuição do número de amostras recolhidas em casa serviço hospitalar incluído no estudo.

Tabela 2| Distribuição das amostras recolhidas em cada serviço da unidade hospitalar

Serviço	Número de amostras recolhidas
Infeciologia	3
Cirurgia Geral	3
Ortopedia	3
Medicina Interna	3
Pediatria	3
UCI Neonatais e Pediátricos	14
Total	29

Esta distribuição permitiu assegurar uma cobertura transversal dos serviços de internamento, comtemplando especialidades médicas e cirúrgicas e garantindo representatividade na análise da flora microbiana ambiental.

4.1.2 Método de Recolha das Amostras

As amostras foram recolhidas a partir do interior dos ralos de lavatórios das instalações sanitárias da unidade do doente e salas de preparação de medicação, incluindo a parte proximal da tubagem, uma

vez que a superfície do ralo já se encontra incluída no plano de higienização. Adicionalmente, procedeu-se à recolha de amostras nas superfícies adjacentes aos lavatórios das salas de preparação de medicação, nos serviços de internamento da unidade hospitalar.

Antes do início de cada procedimento e entre as respetivas recolhas, foi efetuada a higiene adequada das mãos utilizando uma solução antissética de base alcoólica. Adicionalmente, foram utilizados equipamentos de proteção individual adequados, nomeadamente máscara cirúrgica e luvas descartáveis.

As colheiras foram realizadas com zaragatoas de algodão estéreis e meio de cultura *Brain Heart Infusion* (BHI, Frilabo®), um meio líquido, rico e não seletivo, utilizado no cultivo de vários microrganismos fastidiosos e não fastidiosos, incluindo bactérias aeróbicas, anaeróbicas, espécies com elevadas exigências nutricionais ou submetidas a condições de stress ambiental [205]. A utilização deste meio visou maximizar a recuperação de microrganismos viáveis nas superfícies hospitalares monitorizadas.

Nas amostras provenientes do interior dos ralos, as zaragatoas estéreis, previamente impregnadas em 10 mL do meio de cultura utilizado, foram inseridas no ralo e tubagem do lavatório até cerca de 8 cm, e friccionadas cuidadosamente nas paredes internas com movimentos rotacionais, durante aproximadamente 30 segundos. Nas superfícies adjacentes, o procedimento de recolha aplicado foi semelhante, tendo-se verificado a passagem da zaragatoa pela superfície, com movimentos únicos em zig-zag, numa área de 40 cm x 45 cm, a 15-60 cm de distância, relativamente ao lavatório [206].

Após a recolha, as zaragatoas foram imediatamente colocadas em tubos de ensaio contendo o meio de cultura, de modo a preservar a viabilidade microbiana até à análise laboratorial. De salientar que todas as amostras foram devidamente identificadas com informação referente à data, hora e local de recolha, bem como ao momento da última higienização. Importa mencionar, que em alguns locais de recolha constatou-se que as higienizações das superfícies adjacentes tinham sido efetuadas, segundo informação facultada pelos serviços, porém foi possível visualizar vestígios de resíduos provenientes da atividade laboral efetuada por profissionais clínicos.

As amostras recolhidas foram transportadas para o laboratório de Microbiologia do hospital, sendo o espaço de tempo compreendido entre a recolha e a chegada a laboratório inferior a 15 minutos, assegurando-se condições de temperatura controlada até à sua chegada ao laboratório.

4.1.3 Processamento Laboratorial das Amostras

O processamento laboratorial das amostras foi efetuado por uma médica Microbiologista, elemento efetivo da UL-PPCIRA, com vasta experiência na área. Após a receção das amostras no laboratório, e tendo sido efetuada a pré-triagem por um elemento da secretaria do Laboratório de Patologia Clínica do hospital, iniciou-se o processamento laboratorial conforme protocolo padronizado.

As amostras foram incubadas em estufa a 37 ℃ , com humidade controlada, por cerca de 24 horas, utilizando o meio de cultura líquido BHI. Decorrido o tempo de incubação, procedeu-se à repicagem de cada amostra em dois meios de cultura sólidos: Ágar sangue, um meio rico e não seletivo; Ágar MacConkey, um meio seletivo e diferencial para bacilos gram-negativos [207], [208], [209], [210]. As placas foram incubadas em atmosfera suplementada com CO_2 a 5 %, a uma temperatura de 35 ℃ .

Findo o período de incubação, as culturas foram inspecionadas macroscopicamente para deteção de crescimento microbiano. Sempre que se observava elevada densidade de crescimento procedia-se a nova repicagem em meios seletivos e diferenciais, apropriados para isolamento, nomeadamente Ágar MacConkey ou Ágar CNA (*Colistin Nalidixic Acid Agar*, seletivo para gram-positivos) [207], [210], [211]. Na Tabela 3, encontram-se os meios de cultura utilizados para isolamento e a caracterização microbiológica, bem como as suas principais funções.

Independentemente do resultado das primeiras 48 horas, as culturas eram mantidas em incubação por até sete dias, possibilitando a deteção de microrganismos de crescimento lento.

A identificação microbiológica foi efetuada por espetrometria de massa (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry* – MALDI-TOF) (*Bruker®*), seguindo-se, se necessário, a aplicação de métodos fenotípicos complementares [212].

Tabela 3| Meios de cultura utilizados no processamento laboratorial das amostras, respetiva classificação e objetivo [191], [192], [193], [194]

Meio de Cultura	Classificação	Objetivo
Brain Heart Infusion (BHI)	Rico, não seletivo	Maximiza a recuperação de microrganismos potencialmente viáveis antes da inoculação em meios sólidos.
Ágar Sangue	Rico, não seletivo	Isolamento de diversos microrganismos, incluindo gram-positivos exigentes
Ágar *MacConkey*	Seletivo e diferencial	Isolamento de bactérias gram-negativas; permite identificar bactérias que fermentam lactose
Ágar CNA	Seletivo e diferencial	Isolamento de bactérias gram-positivas, inibindo o crescimento de gram-negativas

CAPÍTULO 5

5 APRESENTAÇÃO DE RESULTADOS

Em seguida proceder-se-á à apresentação dos resultados relativos à avaliação microbiológica das amostras recolhidas em diferentes serviços de internamento. A análise efetuada tem como principal objetivo a identificação da presença de microrganismos no interior dos ralos e tubagens de lavatórios e superfícies adjacentes, quando aplicável, e avaliação da eventual projeção de gotículas a partir dos lavatórios para as áreas contíguas.

O capítulo encontra-se organizado em quatro subcapítulos:

- Percentagem de amostras microbiológicas positivas, segundo o tipo de superfície;
- Caracterização da flora microbiana e percentagem dos microrganismos isolados em cada tipo de superfície;
- Correspondência microbiológica entre pares de amostras de ralos e tubagens de lavatórios e respetivas superfícies adjacentes;
- Comparação da flora microbiana entre os diferentes serviços de internamento objeto de estudo.

5.1 Crescimento Microbiológico por Tipo de Superfície

A análise das culturas microbiológicas permitiu constatar a presença de microrganismos viáveis nas superfícies objeto de estudo.

Na Tabela 4, é possível observar os dados referentes ao número e percentagem de amostras positivas, para cada tipo de superfície considerada. Na totalidade foram recolhidas 29 amostras, das quais 25 (86,2 %) apresentaram crescimento microbiológico, refletindo a presença de microrganismos na maioria das superfícies avaliadas. Adicionalmente, constata-se que a percentagem de amostras positivas foi superior nas amostras provenientes do interior dos ralos e tubagens (94,1 %), em comparação com as amostras obtidas a partir de superfícies adjacentes (75,0 %).

Tabela 4| Percentagem de amostras positivas por tipo de superfície analisada. Número total de amostras recolhidas para cada tipo de superfície, número de amostras que apresentaram crescimento microbiológico e respetiva percentagem (%)

Tipo de Superfície	Nº Total de Amostras	Nº de Amostras Positivas	Percentagem (%)
Ralos e Tubagens	17	16	94,1
Superfícies Adjacentes	12	9	75,0
Total	29	25	86,2

5.2 Caracterização da Flora Microbiana Ambiental

Com o intuito de caracterizar a flora microbiana ambiental, procedeu-se à determinação da composição microbiológica predominante e da frequência de deteção dos microrganismos isolados. Adicionalmente, foi analisada a presença de mecanismos de resistência antimicrobiana, frequentemente associados à produção de enzimas IMP, KPC e ESBL.

5.2.1 Microrganismos Isolados em Ralos e Tubagens de Lavatórios

Na Figura 6, é possível visualizar os microrganismos mais frequentemente identificados nas 17 amostras recolhidas no interior dos ralos e tubagens dos lavatórios considerados. Para cada microrganismo, é indicada a percentagem de amostras positivas. De mencionar que apenas foram considerados os microrganismos presentes em mais de 8 % das amostras, em consonância com o critério de relevância estatística estabelecido para a dimensão amostral do estudo.

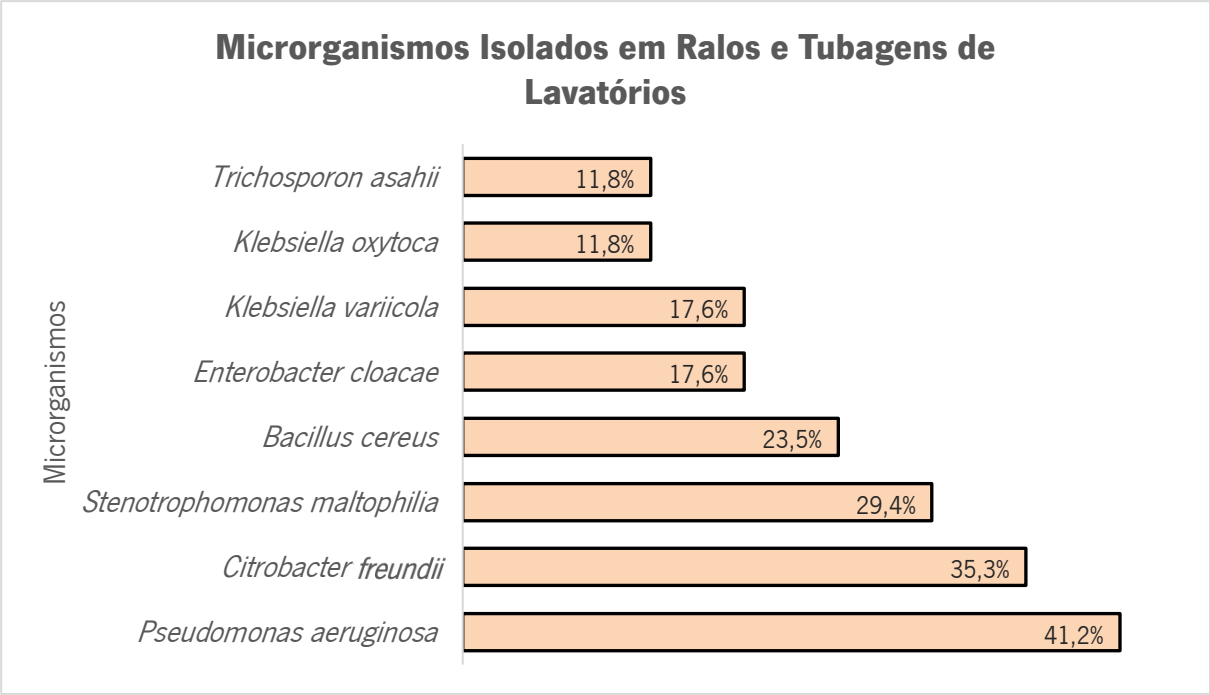


Figura 6| Microrganismos mais frequentemente isolados (> 8 %) em amostras do interior dos ralos e tubagens dos lavatórios considerados. Percentagem (%) de amostras positivas para cada microrganismo identificado.

A análise dos dados presentes na figura anterior revela que, entre as 17 amostras consideradas, *Pseudomonas aeruginosa* foi o microrganismo mais frequentemente isolado, presente em 41,2 % das amostras. Em seguida destacam-se as bactérias *Citrobacter freundii* (35,3 %), *Stenotrophomonas maltophilia* (29,4 %) e *Bacillus cereus* (23,5 %). Outros microrganismos, como *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella variicola*, *Klebsiella oxytoca* e *Trichosporon asahii*, foram identificados em menor proporção (< 20 %).

No Apêndice 2, encontra-se a tabela com informação detalhada relativamente a todos os microrganismos identificados nas amostras recolhidas em ralos de lavatórios.

5.2.2 Microrganismos Isolados em Superfícies Adjacentes

Na Tabela 5, apresentam-se os microrganismos predominantemente identificados nas 12 amostras recolhidas em superfícies adjacentes a lavatórios, nas salas de preparação de medicação. Nesta é indicado o número de amostras em que cada microrganismo foi identificado e a respetiva percentagem, calculada em relação ao total de superfícies avaliadas. Foram apenas incluídos os

microrganismos presentes em mais de 8 % das amostras, correspondendo a um critério de relevância estatística para a dimensão amostral do estudo.

Tabela 5| Microrganismos mais frequentemente isolados (> 8 %) em amostras de superfícies adjacentes a lavatórios das salas de preparação de medicação. Número de amostras em que cada microrganismo foi isolado e respetiva percentagem (%)

Microrganismo	Nº Amostras Positivas	Percentagem (%)
Staphylococcus epidermidis	4	33,3
Staphylococcus haemolyticus	3	25,0

A partir dos resultados é possível aferir que o microrganismo mais frequentemente isolado foi *Staphylococcus epidermidis*, identificado em 33,3 % das amostras. Seguiu-se *Staphylococcus haemolyticus*, presente em 25,0 % das amostras.

No Apêndice 3, encontra-se a tabela com informação detalhada relativamente a todos os microrganismos identificados nas amostras recolhidas em lavatórios.

De modo a facilitar a compreensão global da flora microbiana identificada nos dois tipos de superfícies, a Figura 7 apresenta a frequência relativa dos microrganismos isolados nos ralos e tubagens e em superfícies adjacentes. Constata-se a prevalência de bacilos ram-negativos nos ralos e tubagens de lavatórios, em particular *Pseudomonas aeruginosa* e *Citrobacter freundii*, e estafilococos coagulase-negativos nas superfícies.

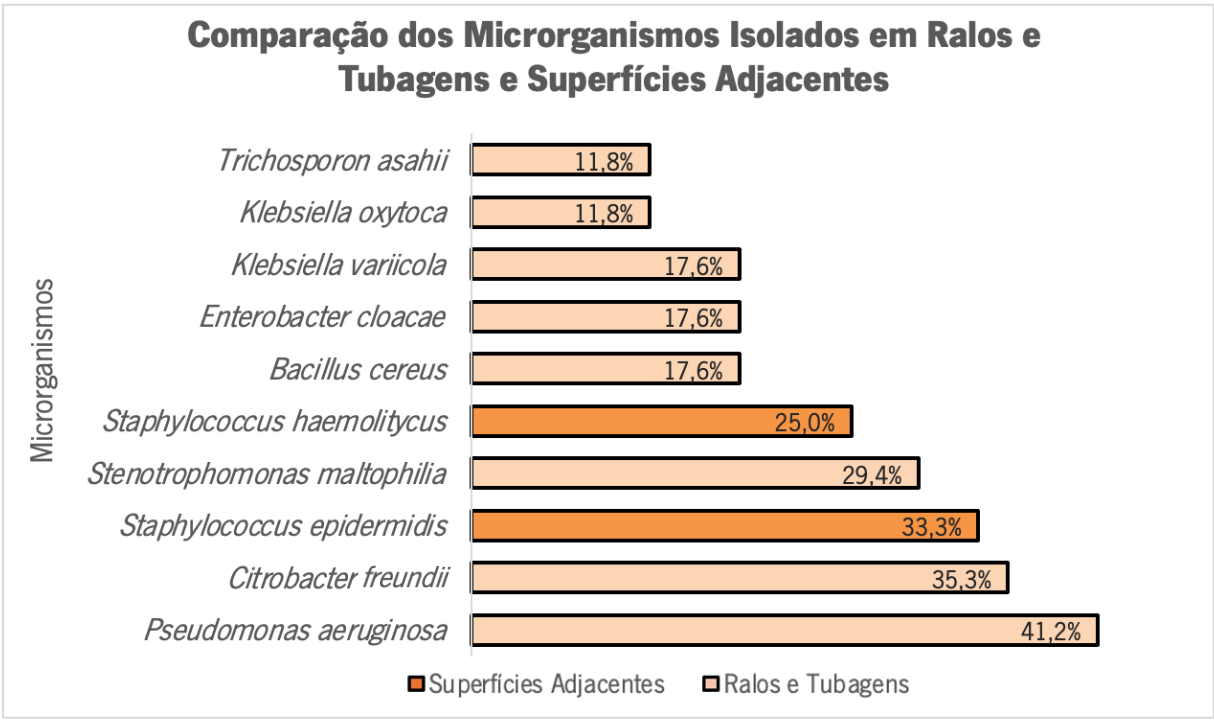


Figura 7| Comparação da frequência relativa de microrganismos isolados no interior dos ralos e tubagens dos lavatórios selecionados e em superfícies adjacentes.

5.2.3 Mecanismos de Resistência Antimicrobiana

A avaliação da presença de mecanismos de resistência antimicrobiana foi efetuada apenas para os microrganismos clinicamente relevantes isolados, não tendo sido analisadas todas as espécies identificadas. Foi dado especial ênfase à produção de enzimas β-lactâmicas IMP, KPC e ESBL, devido às suas implicações na resistência antibiótica e na gestão clínica de infeções.

Na Tabela 6, encontram-se os microrganismos para os quais foram identificados os mecanismos de resistência referidos, bem como o número de amostras em que se verificou a produção das respetivas enzimas.

Tabela 6| Mecanismos de resistência antimicrobiana identificados nos microrganismos clinicamente relevantes. É indicado, para cada microrganismo, o número de amostras em que foram identificados e a presença (+) ou ausência (-) dos mecanismos de resistência

Microrganismo	Nº Amostras Positivas	IMP	KPC	ESBL
Citrobacter freundii	2	+	-	-
Citrobacter freundii	1	-	+	-
Citrobacter freundii	1	-	-	+
Enterobacter cloacae	1	+	-	-
Enterobacter hormaechei	2	+	-	-
Klebsiella pneumoniae	1	+	+	-
Klebsiella pneumoniae	1	+	-	+
Klebsiella oxytoca	2	+	+	-
Klebsiella variicola	1	+	-	-

Analisando a tabela, é possível verificar a existência de diferentes perfis de resistência antibiótica na flora microbiana considerada. A produção da enzima IMP foi o mecanismo de resistência mais frequentemente identificado.

O microrganismo *Citrobacter freundii* foi isolado em quatro amostras, apresentando três perfis de resistência diferentes: em duas amostra foi detetada a produção da enzima IMP e nas restantes foi identifica a produção das enzimas KPC e ESBL, respetivamente. Relativamente à bactéria *Klebsiella oxytoca*, foi identificada, em duas amostras, a presença dos mecanismos IMP e KPC em simultâneo. Relativamente a *Klebsiella pneumoniae* detetaram-se dois perfis de resistência, a partir de duas amostras: a primeira apresentando produção de IMP e KPC e a segunda de IMP e ESBL. Adicionalmente, outras bactérias, como *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter hormaechei* e *Klebsiella variicola* revelaram a produção da enzima IMP.

5.3 Avaliação da Transmissão Microbiana entre Lavatórios e Superfícies Adjacentes

Com o intuito de avaliar a existência de projeção de gotículas contaminadas a partir de lavatórios, foram analisados 11 pares de amostras, cada um constituído por uma amostra da tubagem e ralo do lavatório e outra da respetiva superfície adjacente.

Entre o conjunto de amostras recolhidas, verificou-se correspondência microbiológica em apenas um par de amostras, no qual o mesmo microrganismo foi isolado simultaneamente no ralo e tubagem do lavatório e na superfície contígua. A Figura 8 apresenta, sob a forma de gráfico de barras, a distribuição da ocorrência de coincidência microbiana entre pares lavatório e superfície adjacente, permitindo constatar que em apenas um entre os 11 pares objeto de estudo foi isolado o mesmo microrganismo em ambas as amostras.

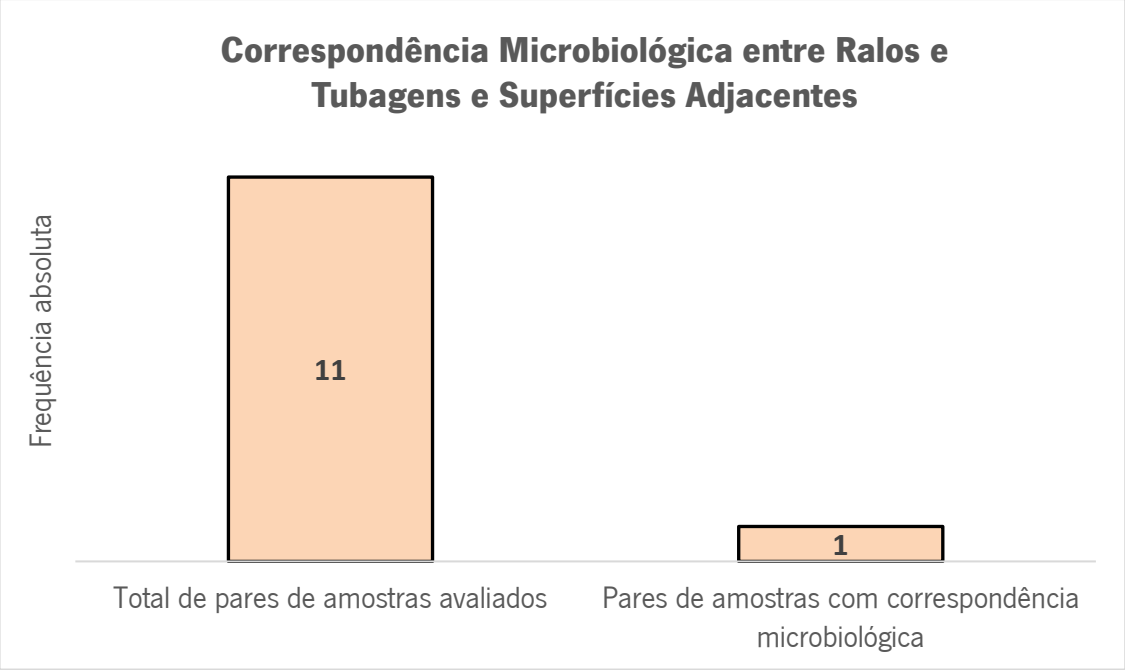


Figura 8| Correspondência microbiológica entre pares de amostras do interior dos ralos e tubagens de lavatórios e respetivas superfícies adjacentes, sendo indicada a frequência absoluta dos pares de amostras analisados e dos pares de amostras em que se verificou correspondência microbiológica.

O microrganismo identificado, no caso de correspondência microbiológica, tanto no interior do ralo e tubagem do lavatório como na respetiva superfície adjacente foi *Bacillus cereus*. A Tabela 10, presente no Apêndice 4, apresenta a identificação dos microrganismos isolados nos pares de amostras analisados.

5.4 Comparação da Flora Microbiana entre Serviços Internamento

Com o intuito de caracterizar a flora microbiana identificada nos distintos serviços de internamento selecionados, procedeu-se à comparação dos microrganismos isolados nos seis serviços estudados.

Na Tabela 7, encontra-se representada a distribuição dos principais microrganismos isolados em cada serviço, incluindo a frequência absoluta e relativa das principais espécies.

Tabela 7| Frequência absoluta e relativa (entre parêntesis) dos principais microrganismos isolados em cada serviço de internamento hospitalar. n corresponde ao número total de microrganismos identificados em cada serviço de internamento

Microrganismo	Infeciologia (n=6)	Cirurgia Geral (n=5)	Ortopedia (n=5)	Medicina Interna (n=10)	Pediatria (n=10)	UCINeoPed (n=25)
Pseudomonas aeruginosa	1 (16,7%)	1 (20%)	1 (20%)	1 (10%)	0	3 (12%)
Citrobacter freudii	0	1 (20%)	0	1 (10%)	1 (10%)	3 (12%)
Stenotrophomonas maltophilia	1 (16,7%)	0	1 (20%)	1 (10%)	1 (10%)	2 (8%)
Bacillus cereus	0	0	0	1 (10%)	1 (10%)	3 (12%)
Enterobacter cloacae	0	0	0	0	1 (10%)	2 (8%)
Klebsiella variicola	0	1 (20%)	1 (20%)	0	0	1 (4%)
Staphylococcus epidermidis	0	0	1 (20%)	0	1 (10%)	3 (12%)
Staphylococcus haemolyticus	0	0	0	1 (10%)	1 (10%)	1 (4%)
Outros	4 (66,7%)	2 (40%)	1 (20%)	5 (50%)	4 (40%)	7 (28%)

Pela observação da tabela anterior, constata-se que o serviço com maior diversidade de espécies microbianas identificadas foi a UCI Neonatais e Pediátricos, o que parece estar relacionado com o maior número de amostras recolhidas neste serviço, devido às suas especificidades. Neste serviço, as espécies identificadas com maior frequência foram *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii* e *Bacillus cereus*. Seguem-se os serviços de Pediatria e de Medicina Interna, nos quais foram identificados 10 microrganismos. De notar, que as bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Stenotrophomonas maltophilia* revelam ser transversais à maioria dos serviços, constituindo géneros presentes em todos os contextos avaliados à exceção de Pediatria e Cirurgia Geral, respetivamente.

CAPÍTULO 6

6 DISCUSSÃO DE RESULTADOS

A elevada incidência de IACS e o crescente aumento da taxa de microrganismos com resistência a agentes antimicrobianos, têm direcionado o foco da investigação científica para os reservatórios ambientais, em contexto de prestação de cuidados de saúde, considerados potenciais vetores de disseminação de microrganismos patogénicos [191]. Evidências científicas recentes reforçam o contributo de superfícies contaminadas na transmissão de agentes infeciosos em ambiente hospitalar, realçando o seu papel na cadeia de transmissão de infeções [195], [213]. Fatores como a frequência de contacto e a proximidade ao doente têm sido apontados como determinantes no risco de contaminação dessas superfícies [213]. Neste sentido, os lavatórios têm vindo a ser identificados como reservatórios críticos, facilitando a colonização microbiana devido ao frequente contacto com pacientes e profissionais de saúde [191].

Este estudo fornece uma investigação abrangente da flora microbiana presente em diversos serviços de internamento hospitalares ao longo de seis meses, tendo como principais objetivos caracterizar a flora microbiana ambiental presente no interior dos ralos e tubagens, bem como avaliar a existência de transmissão microbiana, por dispersão de gotículas, a partir dos mesmos.

Os resultados obtidos, no decorrer dos seis meses de amostragem, sugerem uma elevada prevalência de crescimento microbiano nas superfícies objeto de estudo (86,2 % das amostras), sendo superior nos ralos e tubagens de lavatórios (94,1 %), comparativamente às superfícies adjacentes (75,0 %). Relativamente à caracterização da composição microbiana, evidenciam-se padrões de colonização distintos entre ralos e tubagens de lavatórios e superfícies adjacentes. A *Pseudomonas aeruginosa* foi identificada como o microrganismo preponderante nos ralos e tubagens (41,2 %), seguida de *Citrobacter freundii* (35,3 %). Em contrapartida, nas superfícies adjacentes predominaram estafilococos coagulase-negativos, nomeadamente *Staphylococcus epidermidis* (33,3 %) e *S. haemolyticus* (25,0 %).

A discussão dos resultados obtidos centrar-se-á em quatro tópicos principais: caracterização da flora microbiana ambiental, perfis de resistência antimicrobiana e suas implicações clínicas, avaliação dos mecanismos de disseminação microbiana a partir de lavatórios e variabilidade da flora microbiana entre diferentes serviços de internamento. Em última análise, serão abordadas as principais limitações deste estudo e perspetivas futuras de investigação.

6.1 Flora Microbiana Ambiental

Os resultados obtidos, relativamente à avaliação microbiológica dos ralos de lavatórios hospitalares refletem uma elevada percentagem de crescimento microbiológico, com 16 amostras positivas (94,1 %) das 17 recolhidas nestas superfícies (Tabela 4). Tais resultados, encontram-se de acordo com os reportados na literatura, caracterizando os ralos de lavatórios como sendo reservatórios importantes de microrganismos oportunistas e patogénicos em ambientes de prestação de cuidados de saúde [191], [198], [214].

Entre os microrganismos isolados a partir dos ralos e tubagens de lavatórios são de realçar 9 espécies bacterianas distintas, entre as 18 identificadas, particularmente *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii* e *Stenotrophomonas maltophilia*, cada uma com percentagens de deteção de 41,2 %, 35,3 % e 29,4 %, respetivamente (Figura 6). A predominância destas bactérias gram-negativas resulta da capacidade de adaptabilidade e de subsistência em ambientes húmidos, como lavatórios e os seus sistemas de drenagem [156], [215], [216], [217]. Estes microrganismos caracterizam-se pela capacidade de formação e estabilização de biofilmes, um ambiente ideal para a sua persistência em ambiente hospitalar e que lhes confere proteção aos desinfetantes utilizados [218], [219], [220]. Assim, a elevada prevalência de *P. aeruginosa* vai de encontro a estudos científicos que identificam este microrganismo como sendo o agente predominante nos sistemas hídricos hospitalares [11], [12].

A colonização dos ralos e tubagens de lavatórios por múltiplos microrganismos pode ser influenciada por vários fatores, desde a frequência de utilização dos mesmos, materiais constituintes, exposição a nutrientes e biocidas, assim como fatores ambientais tais como temperatura e humidade [192]. Em instituições prestadoras de cuidados de saúde, os lavatórios presentes na unidade do doente são utilizados, essencialmente, para a lavagem das mãos e realização de atividade de higiene pessoal. Em relação aos lavatórios presentes nas salas de preparação de medicação, estes são usados também para a lavagem das mãos, por parte dos profissionais de saúde. As lavagens de mãos efetuadas proporcionam a eventual libertação de microrganismos da microbiota da pele e mucosas, refletindo a microbiota dos pacientes admitidos e profissionais de saúde [183], [191], [196], [197]. Contudo, a eliminação inadequada de fluidos biológicos e químicos disponibiliza os nutrientes necessários à proliferação de microrganismos [194].

No que diz respeito ao estudo microbiológico efetuado em superfícies adjacentes a lavatórios das salas de preparação de medicação, verificou-se crescimento microbiológica em 9 (75,0 %) das 12 amostras recolhidas (Tabela 4). Os resultados sugerem uma menor diversidade microbiológica, em comparação com os dados referentes a ralos de lavatórios, sendo que as espécies mais frequentemente

isoladas foram *S. epidermidis* (33,3 %) e *S. haemolyticus* (25, 0%) (Tabela 5). Estes constituem a microbiota comensal da pele e mucosas em indivíduos saudáveis [221], [222], [223]. A transmissão de microrganismos através das mãos dos profissionais de saúde, quer pela inadequada higienização das mãos ou desadequada higienização de superfícies, representa o principal veículo de transmissão de agentes microbianos em ambiente hospitalar, o que explica a presença dos microrganismos isolados a partir das bancadas de trabalho [14], [57]. As superfícies ambientais nas unidades hospitalares encontram-se entre os principais eventos de transmissão bacteriana entre superfícies de contacto frequente [57]. Estes microrganismos possuem a capacidade de sobreviver em condições ambientais adversas, nomeadamente superfícies secas onde persistem por longos períodos [224], [225]. Tais resultados, evidenciam a importância da higiene das mãos na prevenção da transmissão de microrganismos patogénicos, de acordo com os cinco momentos preconizados pela OMS [54], [78]. A ausência de bactérias gram-negativas em superfícies adjacentes, numa frequência superior a 8 %, sugere a limitada capacidade de sobrevivência destes microrganismos em superfícies secas.

No conjunto de amostras consideradas, a reduzida identificação de fungos, apenas *Trichosporon asahii* em 11,8 % dos ralos de lavatórios objeto de estudo (Figura 6), reflete a ausência de meios de cultura específicos para o isolamento deste tipo de microrganismos.

Os resultados assinalam a identificação de microrganismos clinicamente relevantes nos dois tipos de superfícies alvo de análise. Os ralos e tubagens de lavatórios revelam uma diversidade microbiológica superior, refletindo condições favoráveis à persistência e crescimento microbiano em ambientes húmidos (Figura 7). Tal é consistente com investigações que indicam que os sistemas de água hospitalares possuem um microbioma diversificado e complexo, enquanto superfícies secas tendem a ser colonizadas, predominantemente, pela flora cutânea.

Considerando os resultados microbiológicos deverão ser reforçadas as medidas de prevenção e controlo de infeção atualmente em vigor na unidade hospitalar. Especificamente deverão ser cumpridos todos os planos de higienização em vigor. Adicionalmente, deverá proceder-se à sensibilização dos profissionais para a adequada higienização das mãos, de acordo com os cinco momentos da higiene das mãos, assim como à consciencialização para a correta utilização dos lavatórios, não sendo permitida a eliminação indevida de fluidos biológicos ou químicos. Assim, por meio de uma abordagem multidisciplinar, existe a possibilidade de conter a transmissão cruzada de microrganismos entre doentes e o ambiente hospitalar [226].

6.2 Perfis de Resistência Antimicrobiana

No que concerne aos resultados dos perfis de resistência antimicrobiana, nos microrganismos clinicamente relevantes isolados, é de salientar a disseminação de enzimas β-lactâmicas, de elevada relevância clínica em ambiente hospitalar. A identificação de microrganismos produtores de β-lactamases e ESBL indica a existência de reservatórios ambientais de microrganismos multirresistentes, com potencial de transmissão cruzada de infeções [12], [227].

A heterogeneidade dos perfis de resistência antimicrobiana identificados parece indicar a existência de mecanismos complexos de aquisição e disseminação de genes de resistência, incluindo transferência horizontal de elementos genéticos móveis. Adicionalmente, a coexistência de múltiplos mecanismos de resistência num único género, tal como observado em *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca*, demonstra a capacidade de acumulação de determinantes de resistência em ambiente hospitalar [227], [228].

Entre os 12 microrganismos isolados nos quais foi detetada a presença de mecanismos de resistência antimicrobiana, 10 (83,3 %) apresentaram produção de β-lactamases do tipo IMP e 3 (25,0 %) expressaram, simultaneamente, IMP e KPC (Tabela 6). Além do mais, 2 microrganismos revelaram produção de ESBL (16,7 %). Deste modo, a enzima IMP revelou ser o mecanismo de resistência mais frequentemente identificado, estando presente em seis espécies diferentes: *C. freundii*, *E. cloacae*, *E. hormaechei*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* e *K. variicola*. A β-lactamase IMP confere resistência a antibióticos β-lactâmicos, incluindo carbapenemes, cefalosporinas, penicilinas e monobactâmicos. A elevada prevalência de microrganismos produtores de IMP demonstra concordância com estudos que descrevem as β-lactamases como sendo o mecanismo preponderante de resistência aos carbapenemes em ambiente hospitalar [12].

A carbapenemase KPC foi identificada em 4 microrganismos, nomeadamente *C. freundii*, *K. pneumoniae* e *K. oxytoca*. Estas enzimas têm sido frequentemente associadas a surtos hospitalares de elevada transmissibilidade [24], [227]. A espécie *K. pneumoniae* produtora de KPC quando identificada em reservatórios ambientais hospitalares sugere a possibilidade de pertencerem a linhagens de alto risco, com elevado potencial de disseminação [24].

A deteção de ESBL ocorreu em duas amostras, particularmente *C. freundii* e *K. pneumoniae*. A existência em simultâneo de ESBL e carbapenemases, tal como verificado em *K. pneumoniae*, resulta na resistência a praticamente todas as classes de β-lactâmicos, incluindo penicilinas, cefalosporinas e carbapenemes [11], [143], [183], [195], [214].

A análise dos perfis de resistência patentes na Tabela 6 permite constatar que algumas espécies bacterianas apresentam múltiplos perfis de resistência, o que revela concordância com a acumulação de determinantes de resistência. *Citrobacter freundii* evidenciou diversidade de mecanismos de resistência, particularmente dois isolados produziam enzimas IMP, um expressava KPC e outro ESBL. Tal versatilidade sugere a capacidade deste microrganismo conjugar múltiplos perfis de resistência, favorecendo a transferência horizontal de genes de resistência entre espécies bacterianas [229]. A espécie *K. pneumoniae* apresentou, em isolados distintos, a produção de IMP e KPC e IMP e ESBL, respetivamente, explicitando a heterogeneidade genética na mesma espécie. *K. oxytoca* evidenciou a produção simultânea de IMP e KPC em duas amostras distintas, o que é motivo de atenção devido à sua capacidade intrínseca de produção de β-lactamases através do gene OXY-2 [228]. Esta conjugação de carbapenemases constitui um desafio terapêutico, na medida em que condiciona as opções de antimicrobianos a agentes de última linha [227].

A existência de microrganismos produtores de carbapenemases em reservatórios ambientais representa desafios quer do ponto de vista terapêutico, quer em termos de vigilância epidemiológica [12], [230]. A monitorização ambiental torna-se assim fundamental, de forma a detetar precocemente reservatórios de resistência antimicrobiana e implementar medidas de contenção.

6.3 Projeção de Microrganismos a Partir de Lavatórios

De acordo com os resultados obtidos, quanto à correspondência microbiológica entre pares de amostras de ralos e tubagens de lavatórios e respetivas superfícies adjacentes, tal só se verificou em apenas 1 (9,1 %) par de entre os 11 analisados (Figura 8). O microrganismo isolado em ambos os locais de amostragem foi o *Bacillus cereus*. Estes dados sugerem que a dispersão microbiana, a partir do interior dos ralos e tubagens de lavatórios contaminados, mediada por gotículas, é limitada nas condições específicas do estudo efetuado, contrastando com os resultados documentados na literatura e obtidos em condições ambientais controladas [22], [156]. Esta discrepância pode ser explicada por especificidades das condições ambientais no momento de recolha, uma vez que estas recolhas foram efetuadas durante os turnos de trabalho.

A contaminação do ambiente circundante, através da utilização de um lavatório colonizado por microrganismos patogénicos, pode verificar-se através da dispersão mediada por gotículas contaminadas [185], [194]. A eventual formação de gotículas, com dimensões na ordem dos 5-50 □m deve-se, essencialmente, ao impacto do fluxo de água no ralo ou superfícies do lavatório, depositando-se por ação

da força gravítica [22], [191], [192]. Kotay et al. demonstrou que a projeção ocorre exclusivamente durante a abertura da torneira de um lavatório, não se verificando a disseminação espontânea a partir do ralo na ausência desta ação desencadeante [22]. A deposição das partículas projetadas ocorre preferencialmente na área adjacente ao lavatório, até 100 cm de distância e com concentração máxima entre os 40-80 cm, tal como demonstrado numa investigação na qual foi utilizada *Escherichia coli* que expressava a proteína verde fluorescente (GFP) [22], [231].

A projeção de gotículas é influenciada por múltiplos fatores, incluindo as características físicas dos lavatórios, nomeadamente a sua configuração, bem como a frequência de utilização [191], [198]. No que concerne à configuração do lavatório, é de realçar o direcionamento do jato de água diretamente sobre o ralo, a reduzida profundidade do lavatório e a existência de sistemas de drenagem lentos [183], [191], [198]. Adicionalmente, o regime do fluxo de água - laminar, transiente ou turbulento - determina a dispersão, sendo que fluxos turbulentos aumentam significativamente a projeção em comparação com fluxos laminares [183], [191]. A presença de um sistema de drenagem lento ou obstruído, assim como de ralos posicionados diretamente sob a torneira aumenta substancialmente o risco de dispersão [232]. A sua localização nos ambientes de prestação de cuidados de saúde também influencia a eventual dispersão de microrganismos para o ambiente [192].

Na unidade hospitalar alvo de estudo, os lavatórios possuem tubagens com configurações distintas, consoante a sua tipologia e criticidade do serviço em que se encontram. No caso dos lavatórios das instalações sanitárias das unidades do doente, estes possuem o jato de água direcionado sobre o ralo, os lavatórios apresentam uma reduzida profundidade e o regime do fluxo de água é predominantemente transiente e intermitente, na medida em que o fluxo de água é acionado pelo utilizador e por um período reduzido de tempo. Em relação aos lavatórios das salas de preparação de medicação, os ralos não se encontram posicionados diretamente sob as torneiras, os lavatórios possuem uma profundidade adequada e o regime do fluxo de água é transiente, quando a torneira se encontra na sua abertura média. Os cálculos efetuados no sentido de determinar o regime do fluxo de água encontram-se em apêndice (Apêndice 5).

A correspondência microbiológica de *Bacillus cereus* entre o ralo e tubagem e respetiva superfície adjacente poderá refletir as características específicas deste microrganismo. O microrganismo em questão possui a capacidade para formar esporos e biofilmes, o que pode contribuir para a sua persistência em ambiente hospitalar, sendo a sua transmissão efetuada, maioritariamente, através das mãos dos profissionais de saúde [232], [233]. Os esporos, para além de apresentarem uma resistência superior aos procedimentos de higienização, aderem eficazmente a superfícies inertes, facilitando a

colonização ambiental [234], [235]. Além do mais, conferem resistência a procedimentos térmicos e a agentes desinfetantes à base de compostos fenólicos [234], [235]. No que concerne à identificação de *B. cereus* na área adjacente ao lavatório analisado, julga-se que esta poderá ter sido resultado de uma higienização de mãos efetuada de forma inadequada por parte dos profissionais, uma vez que foi possível visualizar esta prática durante a recolha realizada.

Embora muitos estudos tenham verificado o isolamento de microrganismos da mesma espécie quer em ralos e tubagens de lavatórios e no ambiente circundante, o modo e a direção de transmissão - lavatório para ambiente *versus* ambiente para lavatório - permanecem inconsistentes. A aplicação de técnicas moleculares avançadas, como a sequenciação genómica, tem permitido o estabelecimento de correlações entre os microrganismos isolados em lavatórios e os presentes em doentes infetados ou colonizados, sugerindo que os lavatórios poderiam constituir uma possível via de transmissão de IACS [23], [236]. No entanto, persiste a dificuldade em estabelecer a direccionalidade de transmissão, bem como uma relação causal evidente, na medida em que a sequenciação genómica permite identificar a presença de clones idêntico, mas não determina o modo de transmissão [11], [191].

Com o intuito de prevenir a ocorrência de dispersão de microrganismos a partir de lavatórios torna-se fundamental seguir as diretrizes de configuração dos lavatórios, mencionadas anteriormente. Adicionalmente, importa desenvolver e implementar protocolos de manutenção preventiva que incluam a higienização mecânica das tubagens dos lavatórios, utilizando desinfetantes de largo espetro de ação, uma vez que nesta unidade hospitalar não se encontram em vigor planos de higienização dos lavatórios, que contemplem a higiene dos ralos e tubagens através de ação mecânica e com recurso a desinfetantes de largo espetro de ação. A eficácia de um desinfetante depende de várias variáveis, nomeadamente o tempo de exposição, a frequência de utilização e a sua composição [237], [238], [239]. Muitos desinfetantes revelam ser ineficazes na eliminação microbiana, reduzindo temporariamente a carga bacteriana [240], [241]. Neste sentido, o tempo de exposição e o modo de ação de cada desinfetante será determinante na eliminação efetiva de microrganismos associados em biofilmes. A utilização de desinfetantes na forma de espuma expansiva em substituição dos produtos comumente empregues constitui uma alternativa viável, aumentando o tempo de exposição [219], [220]. Importa realçar que estas soluções devem ser compatíveis com os diferentes tipos de materiais que constituem os ralos e as tubagens, de modo a assegurar a sua integridade e respetivo tempo de vida útil, prevenindo assim custos não previstos.

Atualmente, na unidade hospitalar em questão não existe um procedimento de higienização mecânica e química das tubagens dos lavatórios. Para efetuar este plano de higienização, seria

necessária uma equipa para proceder à desmontagem das tubagens e tal implicaria um custo adicional para a unidade hospitalar, uma vez que o edifício pertence a outra gestão privada que não esta. Esta situação encontra-se, atualmente, em reflexão entre as duas gestões.

6.4 Variabilidade da Flora Microbiana entre Serviços de Internamento

A composição da flora microbiana ambiental nos diferentes serviços de internamento é determinada pelas características intrínsecas a cada serviço, refletindo as condições ambientais, os perfis dos doentes, bem como as práticas clínicas desenvolvidas e as estratégias de prevenção e controlo de infeção implementadas.

A análise da Tabela 7, permite constatar a existência de diversidade na composição microbiológica entre os seis serviços alvo de estudo. No presente estudo, a Unidade de Cuidados Intensivos Neonatais e Pediátricos revelou uma variabilidade microbiana superior, em comparação com os restantes serviços analisados. Este resultado pode ser explicado pelo maior número de amostras recolhidas neste serviço, e é corroborado pela informação que consta na literatura. De facto, estes são descritos como sendo reservatórios complexos de microrganismos devido, essencialmente, às múltiplas comorbilidades e imunossupressão dos neonatos, bem como à larga administração de terapêuticas antimicrobianas [183], [195], [201].

Nos serviços de Pediatria e de Medicina Interna foram isolados 10 microrganismos em cada serviço. Estes serviços apresentam diferenças intrínsecas evidentes, na medida em que o primeiro se destina ao internamento de crianças e adolescentes com patologias diversas e o segundo se destina ao internamento de doentes adultos com doenças agudas ou crónicas, muitas das vezes com comorbilidades associadas e utilização de dispositivos invasivos [242], [243].

Relativamente ao serviço de Infeciologia, foram identificados 6 microrganismos. Nos serviços de Cirurgia Geral e Ortopedia verificou-se o isolamento de 5 microrganismos em cada unidade, sendo que estes resultados podem estar relacionados com a existência de um conjunto de medidas pós intervenção cirúrgica instituídas nesta unidade hospitalar, de modo a prevenir a infeção do local cirúrgico.

Nos serviços em que foram isolados estafilococos coagulase-negativos, especificamente *S. epidermidis* e *S. haemolyticus*, é essencial promover ações de sensibilização aos profissionais de saúde,

enfatizando a importância da correta higienização das mãos e desinfeção das superfícies, enquanto medida de prevenção da transmissão cruzada de infeções.

O microbioma ambiental é influenciado por diversos fatores, sendo de realçar o tipo de procedimentos invasivos realizados, o tempo médio de internamento, a terapêutica antimicrobiana mais comumente empregue e fatores endógenos do doente, idade e comorbilidades associadas [25], [244]. Assim, é fundamental que os profissionais cumpram os planos de higienização em vigor, adequados ao tipo de especialidade médica ou cirúrgica, bem como dar continuidade aos protocolos de vigilância ambiental já instituídos, que incluem a realização de análises microbiológicas ambientais de forma a adequar as estratégias de prevenção e controlo de infeção.

6.5 Limitações do Estudo

O estudo desenvolvido apresenta limitações que devem ser tidas em consideração na avaliação dos resultados obtidos. As mais relevantes referem-se à dimensão e distribuição das amostras, além de particularidades das condições ambientais, devido à rotatividade dos profissionais de saúde durante a recolha das amostras.

No que concerne à dimensão amostral, apenas foi possível uma recolha em cada serviço de internamento selecionado, o que pode condicionar a robustez estatística do estudo. Não foram consideradas variações temporais ou sazonais.

Adicionalmente, a ausência de padronização das condições de utilização dos lavatórios, nomeadamente a diferença do fluxo de água, assim como a tipologia da torneira e ralo podem induzir variabilidade nas condições de recolha.

Os resultados obtidos são específicos da unidade hospital alvo de estudo, não devendo ser generalizados a outras instituições de prestação de cuidados de saúde com características estruturais distintas.

6.6 Recomendações e Perspetivas Futuras

A caracterização da flora microbiana ambiental e a avaliação da possível projeção microbiológica para as áreas adjacentes efetuadas, demonstram que a aquisição de um produto de largo espetro de ação para a higienização das tubagens constitui uma medida adicional valorizável no que concerne ao controlo ambiental.

No futuro devem ser promovidas investigações em hospitais com diferentes especificidades técnicas e estruturais, com o intuito de obter um conhecimento amplo, robusto e abrangente da diversidade bacteriana, padrões de resistência antimicrobiana e eventual projeção de gotículas para o ambiente envolvente. De notar, que a remoção de biofilmes estabelecidos revela ser mais eficaz quando efetuada com recurso a métodos mecânicos, tais como a sonicação e, deste modo, deverá ser considerada a possibilidade de adotar esta metodologia. Adicionalmente, a aplicação de métodos de fluorescência demonstra uma sensibilidade de cerca de 100 % na determinação da dispersão a partir de lavatórios.

Paralelamente, deve ser considerada a introdução de métodos moleculares, tais como a sequenciação genómica ou eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE), a fim de estabelecer relações clonais entre os isolados.

No âmbito da configuração adequada dos lavatórios, deverá ser considerada a necessidade de substituir aqueles que apresentem uma profundidade das pias inferior a 15 cm e cujas torneiras se encontram posicionadas diretamente sobre os ralos. O mesmo deverá ser aplicado aos lavatórios que se encontrem a menos de 1 m de distância da cama ou cadeirão do doente.

Atualmente, existem várias opções no mercado que visam conter a formação de biofilmes nos ralos e tubagens de lavatórios, desde o desenvolvimento de materiais com propriedades antimicrobianas, à existência de tubagens e sifões auto-desinfetantes, que combinam a ação mecânica através de vibrações, eletromagnética e revestimento antimicrobiano [245], [246]. Estas opções têm-se revelado eficazes na prevenção da formação de biofilmes, contudo estão associadas, muitas das vezes, a elevados custos de implementação e manutenção.

Considerando os resultados obtidos, recomenda-se a recolha de amostras microbiológicas ambientais do interior dos ralos, que deverá ser integrada no plano de auditorias ambientais já existente na unidade hospitalar.

Neste sentido, o investimento em investigações adicionais, tecnologia e recursos humanos, tendo em vista a criação de equipas multidisciplinares de profissionais de saúde, proporcionará o cumprimento do principal objetivo, a prevenção e o controlo das IACS.

CAPÍTULO 7

7 CONCLUSÕES

A presente dissertação teve como principal objetivo caracterizar a flora microbiana presente nos sistemas de água de uma unidade hospitalar, através da identificação de microrganismos presentes no interior dos ralos e tubagens de lavatórios e respetivas superfícies adjacentes, nas salas de preparação de medicação. Com efeito, os reservatórios ambientais têm vindo a ser reconhecidos como eventuais fontes de infeções associadas aos cuidados de saúde e, tendo em consideração que Portugal é o terceiro país da União Europeia com maior prevalência de IACS, este estudo destaca-se como complemento às medidas de prevenção e controlo de infeção já instituídas.

Os resultados demonstram que os ralos e as tubagens dos lavatórios hospitalares constituem reservatórios ambientais de agentes patogénicos relevantes, apresentando uma flora microbiana diversificada. Os microrganismos predominantes foram bacilos gram-negativos, tendo sido a *Pseudomonas aeruginosa* o microrganismo mais prevalente (41,2 %), seguindo de *Citrobacter freundii* (35,3 %) e *Stenotrophomonas maltophilia* (29,4 %). No que concerne às superfícies adjacentes, a flora microbiana isolada revelou ser essencialmente constituída por estafilococos coagulase-negativos, designadamente *Staphylococcus epidermidis* (33,3 %) e *Staphylococcus haemolyticus* (25,0 %). Tal discrepância, evidencia a existência de diferenças relativamente à colonização de ambientes húmidos, como os lavatórios, e superfícies secas em ambiente hospitalar.

Relativamente à avaliação da dispersão de microrganismos através de gotículas, a partir de lavatórios, foi observada uma taxa de correspondência microbiológica de 9,1 %, tendo sido identificado *Bacillus cereus*, em simultâneo, nos dois locais de amostragem. Este resultado é inferior às taxas de disseminação documentadas na literatura.

Entre os microrganismos isolados, o mecanismo de resistência antimicrobiana mais frequentemente detetado foi a produção de carbapenemases, mais especificamente a β-lactamase do tipo IMP. De realçar, que foram identificados microrganismos com vários mecanismos de resistência, sugerindo a acumulação progressiva de resistência em ambientes de prestação de cuidados de saúde.

A comparação da variabilidade da flora microbiana entre os serviços alvo de estudo evidenciou a existência de diferentes padrões de contaminação, tendo sido a Unidade de Cuidados Intensivos Neonatais e Pediátricos o serviço no qual foi identificada maior diversidade microbiana. A transversalidade de *P. aeruginosa* em praticamente todos os serviços analisados é indicativa da capacidade de adaptação deste microrganismo a diferentes ambientes hospitalares.

Este estudo enfatiza a necessidade de complementar as já existentes medidas de controlo ambiental, que tenham em consideração os ralos e tubagens dos lavatórios enquanto reservatórios ambientais de agentes infeciosos, passíveis de contaminação cruzada. Assim, torna-se relevante desenvolver procedimentos de higienização para o interior dos ralos e tubagens, que contemplem a utilização de desinfetantes de largo espetro de ação e com formulação capaz de exercer ação mecânica desincrustante em toda a superfície dos mesmos. Adicionalmente, importa sensibilizar os profissionais de saúde e doentes para a importância da correta higienização das mãos e correta utilização dos lavatórios, exclusivos para a lavagem das mãos ou atividade de higiene pessoal. A monitorização ambiental efetuada neste estudo deverá ser instituída de forma regular.

Em suma, este estudo sustenta a hipótese de que os lavatórios hospitalares constituem reservatórios de agentes patogénicos, pelo que deverá ser considerada a aquisição de produtos para os mesmos de forma a prevenir e controlar a contaminação ambiental.

REFERÊNCIAS

[1] World Health Organisation, "Prevention of hospital-acquired infections A Practical Guide 2nd edition.," *WHO*, vol. 2, no. 12, 2002.

[2] C. Suetens, T. Kärki, and P. Diamantis, "Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals 2022-2023," 2022, doi: 10.2900/88011.

[3] N. Blanco, L. M. O'hara, and A. D. Harris, "Transmission pathways of multidrug-resistant organisms in the hospital setting: A scoping review," 2019. doi: 10.1017/ice.2018.359.

[4] I. Chirca, "The hospital environment and its microbial burden: Challenges and solutions," 2019. doi: 10.2217/fmb-2019-0140.

[5] C. Protano, V. Cammalleri, V. Romano Spica, F. Valeriani, and M. Vitali, "Hospital environment as a reservoir for cross transmission: Cleaning and disinfection procedures," *Ann Ig*, vol. 31, no. 5, 2019, doi: 10.7416/ai.2019.2305.

[6] H. A. Khan, F. K. Baig, and R. Mehboob, "Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance," 2017. doi: 10.1016/j.apjtb.2017.01.019.

[7] J. A. Al-Tawfiq and P. A. Tambyah, "Healthcare associated infections (HAI) perspectives," *J Infect Public Health*, vol. 7, no. 4, 2014, doi: 10.1016/j.jiph.2014.04.003.

[8] S. Lax and J. A. Gilbert, "Hospital-associated microbiota and implications for nosocomial infections," 2015. doi: 10.1016/j.molmed.2015.03.005.

[9] M. M. Williams, C. R. Armbruster, and M. J. Arduino, "Plumbing of hospital premises is a reservoir for opportunistically pathogenic microorganisms: A review," 2013. doi: 10.1080/08927014.2012.757308.

[10] A. Facciolà *et al.*, "The role of the hospital environment in the healthcare-associated infections: A general review of the literature," *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, vol. 23, no. 3, 2019, doi: 10.26355/eurrev_201902_17020.

[11] M. Choquet and C. Mullié, "Down the Drain: A Systematic Review of Molecular Biology Evidence Linking Sinks with Bacterial Healthcare-Associated Infections in Intensive Care Units," 2022. doi: 10.3390/hygiene2020008.

[12] A. E. Kizny Gordon *et al.*, "The Hospital Water Environment as a Reservoir for Carbapenem-Resistant Organisms Causing Hospital-Acquired Infections - A Systematic Review of the Literature," 2017. doi: 10.1093/cid/cix132.

[13] A. Jeanvoine, A. Meunier, H. Puja, X. Bertrand, B. Valot, and D. Hocquet, "Contamination of a hospital plumbing system by persister cells of a copper-tolerant high-risk clone of Pseudomonas aeruginosa," *Water Res*, vol. 157, 2019, doi: 10.1016/j.watres.2019.04.011.

[14] E. Leitner *et al.*, "Contaminated handwashing sinks as the source of a clonal outbreak of KPC-2-producing Klebsiella oxytoca on a hematology ward," *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 59, no. 1, 2015, doi: 10.1128/AAC.04306-14.

[15] L. Amoureux *et al.*, "Nosocomial infections with IMP-19-producing pseudomonas aeruginosa linked to contaminated sinks, France," *Emerg Infect Dis*, vol. 23, no. 2, 2017, doi: 10.3201/eid2302.160649.

[16] W. A. Rutala and D. J. Weber, "Water as a Reservoir of Nosocomial Pathogens," *Infect Control Hosp Epidemiol*, vol. 18, no. 9, 1997, doi: 10.2307/30141486.

[17] D. J. Weber, W. A. Rutala, D. J. Anderson, and E. E. Sickbert-Bennett, "Biofilms on medical instruments and surfaces: Do they interfere with instrument reprocessing and surface disinfection," *Am J Infect Control*, vol. 51, no. 11, 2023, doi: 10.1016/j.ajic.2023.04.158.

[18] A. L. S. Dos Santos *et al.*, "What are the advantages of living in a community? A microbial biofilm perspective!," 2018. doi: 10.1590/0074-02760180212.

[19] S. Vani, K. Vadakkan, and B. Mani, "A narrative review on bacterial biofilm: its formation, clinical aspects and inhibition strategies," *Futur J Pharm Sci*, vol. 9, no. 1, 2023, doi: 10.1186/s43094-023-00499-9.

[20] L. Karygianni, Z. Ren, H. Koo, and T. Thurnheer, "Biofilm Matrixome: Extracellular Components in Structured Microbial Communities," 2020. doi: 10.1016/j.tim.2020.03.016.

[21] J. Böhning, A. K. Tarafder, and T. A. M. Bharat, "The role of filamentous matrix molecules in shaping the architecture and emergent properties of bacterial biofilms," 2024. doi: 10.1042/BCJ20210301.

[22] S. M. Kotay, R. M. Donlan, C. Ganim, K. Barry, B. E. Christensen, and A. J. Mathers, "Droplet- Rather than Aerosol-Mediated Dispersion Is the Primary Mechanism of Bacterial Transmission from Contaminated Hand-Washing Sink Traps," *Appl Environ Microbiol*, vol. 85, no. 2, 2019, doi: 10.1128/AEM.01997-18.

[23] C. Lowe *et al.*, "Outbreak of extended-spectrum β-lactamase-producing Klebsiella oxytoca infections associated with contaminated handwashing sinks," *Emerg Infect Dis*, vol. 18, no. 8, 2012, doi: 10.3201/eid1808.111268.

[24] D. Peres *et al.*, "Outbreak of KPC-producing Klebsiella pneumoniae at a Portuguese university hospital: Epidemiological characterization and containment measures," *Porto Biomed J*, vol. 7, no. 6, 2022, doi: 10.1097/j.pbj.0000000000000186.

[25] F. Cruz-López, A. Martínez-Meléndez, and E. Garza-González, "How Does Hospital Microbiota Contribute to Healthcare-Associated Infections?," 2023. doi: 10.3390/microorganisms11010192.

[26] L. Bonadonna, R. Briancesco, and A. M. Coccia, "Analysis of microorganisms in hospital environments and potential risks," in *SpringerBriefs in Public Health*, no. 9783319491592, 2017. doi: 10.1007/978-3-319-49160-8_5.

[27] E. Creamer *et al.*, "Air and surface contamination patterns of meticillin-resistant Staphylococcus aureus on eightacute hospital wards," *Journal of Hospital Infection*, vol. 86, no. 3, pp. 201–208, 2014, doi: 10.1016/j.jhin.2013.12.005.

[28] U. S. Department of Health, H. Services, and C. for Disease Control, "Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC)," 2019.

[29] R. F. Chemaly *et al.*, "The role of the healthcare environment in the spread of multidrug-resistant organisms: Update on current best practices for containment," 2014. doi: 10.1177/2049936114543287.

[30] Centers for Disease Control and Prevention (CDC), "Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities: Updated 2017," *Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee*, no. May, 2017.

[31] M. H. Muhammad *et al.*, "Beyond Risk: Bacterial Biofilms and Their Regulating Approaches," 2020. doi: 10.3389/fmicb.2020.00928.

[32] L. K. Vestby, T. Grønseth, R. Simm, and L. L. Nesse, "Bacterial biofilm and its role in the pathogenesis of disease," 2020. doi: 10.3390/antibiotics9020059.

[33] S. Sharma, J. Mohler, S. D. Mahajan, S. A. Schwartz, L. Bruggemann, and R. Aalinkeel, "Microbial Biofilm: A Review on Formation, Infection, Antibiotic Resistance, Control Measures, and Innovative Treatment," 2023. doi: 10.3390/microorganisms11061614.

[34] P. Y. Chia, S. Sengupta, A. Kukreja, S. S.I. Ponnampalavanar, O. T. Ng, and K. Marimuthu, "The role of hospital environment in transmissions of multidrug-resistant gram-negative organisms," 2020. doi: 10.1186/s13756-020-0685-1.

[35] M. Alebachew Woldu, "Klebsiella pneumoniae and Its Growing Concern in Healthcare Settings," *Clin Exp Pharmacol*, vol. 06, no. 01, 2016, doi: 10.4172/2161-1459.1000199.

[36] Y. Gan *et al.*, "The fate and risk of nontuberculous mycobacteria in the water supply system: a review," 2022. doi: 10.2166/h2oj.2022.144.

[37] S. Roy, G. Chowdhury, A. K. Mukhopadhyay, S. Dutta, and S. Basu, "Convergence of Biofilm Formation and Antibiotic Resistance in Acinetobacter baumannii Infection," 2022. doi: 10.3389/fmed.2022.793615.

[38] S. Lax *et al.*, "Bacterial colonization and succession in a newly opened hospital," *Sci Transl Med*, vol. 9, no. 391, 2017, doi: 10.1126/scitranslmed.aah6500.

[39] T. Ramos, S. Dedesko, J. A. Siegel, J. A. Gilbert, and B. Stephens, "Spatial and temporal variations in indoor environmental conditions, human occupancy, and operational characteristics in a new hospital building," *PLoS One*, vol. 10, no. 3, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0118207.

[40] Direção Geral da Saúde, *Documentos da Direção Geral da Saúde* . Portugal : https://www.dgs.pt/documentos-e-publicacoes/programa-nacional-de-prevencao-e-controlo-da-infeccao-associada-aos-cuidados-de-saude.aspx, 2007.

[41] M. Haque, M. Sartelli, J. McKimm, and M. A. Bakar, "Health care-associated infections – An overview," 2018. doi: 10.2147/IDR.S177247.

[42] S. Raoofi *et al.*, "Global prevalence of nosocomial infection: A systematic review and meta-analysis," *PLoS One*, vol. 18, no. 1 January, 2023, doi: 10.1371/journal.pone.0274248.

[43] F. Murphy, A. Tchetchik, and I. Furxhi, "Reduction of health care-associated infections (Hais) with antimicrobial inorganic nanoparticles incorporated in medical textiles: An economic assessment," *Nanomaterials*, vol. 10, no. 5, 2020, doi: 10.3390/nano10050999.

[44] S. C. M. Gonçalves and T. I. G. do Carmo, "Implicações das Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde na Gestão em Saúde," *Enfermería: Cuidados Humanizados*, vol. 11, no. 1, 2022, doi: 10.22235/ech.v11i1.2746.

[45] M. Haque *et al.*, "Strategies to prevent healthcare-associated infections: A narrative overview," 2020. doi: 10.2147/RMHP.S269315.

[46] A. M. Koch, R. M. Nilsen, H. M. Eriksen, R. J. Cox, and S. Harthug, "Mortality related to hospital-associated infections in a tertiary hospital; repeated cross-sectional studies between 2004-2011," *Antimicrob Resist Infect Control*, vol. 4, no. 1, 2015, doi: 10.1186/s13756-015-0097-9.

[47] S. Stewart *et al.*, "Impact of healthcare-associated infection on length of stay," *Journal of Hospital Infection*, vol. 114, 2021, doi: 10.1016/j.jhin.2021.02.026.

[48] A. Cassini *et al.*, "Burden of Six Healthcare-Associated Infections on European Population Health: Estimating Incidence-Based Disability-Adjusted Life Years through a Population Prevalence-Based Modelling Study," *PLoS Med*, vol. 13, no. 10, 2016, doi: 10.1371/journal.pmed.1002150.

[49] A. Marchetti and R. Rossiter, "Economic burden of healthcare-associated infection in US acute care hospitals: Societal perspective," *J Med Econ*, vol. 16, no. 12, 2013, doi: 10.3111/13696998.2013.842922.

[50] K. Kumar Jha, S. Saini, A. Raj, . S., and H. Bishnoi, "The Antibiotic Resistance Crisis," *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, vol. 11, no. 5, 2023, doi: 10.22270/ajprd.v11i5.1321.

[51] F. Prestinaci, P. Pezzotti, and A. Pantosti, "Antimicrobial resistance: A global multifaceted phenomenon," 2015. doi: 10.1179/2047773215Y.0000000030.

[52] J. M. van Seventer and N. S. Hochberg, "Principles of Infectious Diseases: Transmission, Diagnosis, Prevention, and Control," in *International Encyclopedia of Public Health*, 2016. doi: 10.1016/B978-0-12-803678-5.00516-6.

[53] CDC, "Chain of Infection Components," *The National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH)*, 2022.

[54] World Health Organization, "WHO guidelines on hand hygiene in health care," *World Health*, 2009.

[55] T. Vermeil, A. Peters, C. Kilpatrick, D. Pires, B. Allegranzi, and D. Pittet, "Hand hygiene in hospitals: anatomy of a revolution," *Journal of Hospital Infection*, vol. 101, no. 4, 2019, doi: 10.1016/j.jhin.2018.09.003.

[56] W. H. O. WHO, "Standard precautions for the prevention and control of infections: aide-memoire," *World Health Organization*, 2022.

[57] G. Suleyman, G. Alangaden, and A. C. Bardossy, "The Role of Environmental Contamination in the Transmission of Nosocomial Pathogens and Healthcare-Associated Infections," 2018. doi: 10.1007/s11908-018-0620-2.

[58] S. Stewart *et al.*, “Epidemiology of healthcare-associated infection reported from a hospital-wide incidence study: considerations for infection prevention and control planning,” *Journal of Hospital Infection*, vol. 114, 2021, doi: 10.1016/j.jhin.2021.03.031.

[59] S. J. Dancer, “Controlling hospital-acquired infection: Focus on the role of the environment and new technologies for decontamination,” *Clin Microbiol Rev*, vol. 27, no. 4, 2014, doi: 10.1128/CMR.00020-14.

[60] L. Porter *et al.*, “How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A scoping review,” 2024. doi: 10.1016/j.jhin.2024.01.023.

[61] S. Li, Z. Yang, D. Hu, L. Cao, and Q. He, “Understanding building-occupant-microbiome interactions toward healthy built environments: A review,” 2021. doi: 10.1007/s11783-020-1357-3.

[62] P. H. Rampelotto, A. F. R. Sereia, L. F. V. De Oliveira, and R. Margis, “Exploring the hospital microbiome by high-resolution 16s rRNA profiling,” *Int J Mol Sci*, vol. 20, no. 12, 2019, doi: 10.3390/ijms20123099.

[63] J. M. Boyce, “Environmental contamination makes an important contribution to hospital infection,” *Journal of Hospital Infection*, vol. 65, no. SUPPL. 2, 2007, doi: 10.1016/S0195-6701(07)60015-2.

[64] M. H. Kollef, A. Torres, A. F. Shorr, I. Martin-Loeches, and S. T. Micek, “Nosocomial Infection,” *Crit Care Med*, vol. 49, no. 2, 2021, doi: 10.1097/CCM.0000000000004783.

[65] E. S. Spivak and K. E. Hanson, “Candida auris: An emerging fungal pathogen,” 2018. doi: 10.1128/JCM.01588-17.

[66] I. Jurado-Martín, M. Sainz-Mejías, and S. McClean, “Pseudomonas aeruginosa: An audacious pathogen with an adaptable arsenal of virulence factors,” 2021. doi: 10.3390/ijms22063128.

[67] J. W. Wilson, M. J. Schurr, C. L. LeBlanc, R. Ramamurthy, K. L. Buchanan, and C. A. Nickerson, “Mechanisms of bacterial pathogenicity,” 2002. doi: 10.1136/pmj.78.918.216.

[68] M. Jackson, S. Vineberg, and K. R. Theis, “The Epistemology of Bacterial Virulence Factor Characterization,” Jul. 01, 2024, *Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*. doi: 10.3390/microorganisms12071272.

[69] A. França, V. Gaio, N. Lopes, and L. D. R. Melo, “Virulence factors in coagulase-negative staphylococci,” 2021. doi: 10.3390/pathogens10020170.

[70] B. Pakbin, W. M. Brück, and J. W. A. Rossen, “Virulence factors of enteric pathogenic Escherichia coli: A review,” 2021. doi: 10.3390/ijms22189922.

[71] R. García-Contreras and M. Tomás, "Editorial: Molecular Mechanisms of Bacterial Clinical Pathogens Tolerance and Persistence Under Stress Conditions: Tolerant and Persister Cells," 2021. doi: 10.3389/fmicb.2021.705092.

[72] V. G. Kastbjerg, M. H. Larsen, L. Gram, and H. Ingmer, "Influence of sublethal concentrations of common disinfectants on expression of virulence genes in Listeria monocytogenes," *Appl Environ Microbiol*, vol. 76, no. 1, 2010, doi: 10.1128/AEM.00925-09.

[73] P. Gao *et al.*, "Subinhibitory Concentrations of Antibiotics Exacerbate Staphylococcal Infection by Inducing Bacterial Virulence," *Microbiol Spectr*, vol. 10, no. 4, 2022, doi: 10.1128/spectrum.00640-22.

[74] M. Kirchner, J. Nunez-Garcia, N. Duggett, R. J. Gosling, and M. F. Anjum, "Use of transcriptomics and genomics to assess the effect of disinfectant exposure on the survival and resistance of Escherichia coli O157:H7, a human pathogen," *Front Microbiol*, vol. 15, 2024, doi: 10.3389/fmicb.2024.1477683.

[75] J. M. Munita and C. A. Arias, "Mechanisms of Antibiotic Resistance," *Microbiol Spectr*, vol. 4, no. 2, Mar. 2016, doi: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.

[76] D. DIREÇÃO GERAL DE SAÚDE, "Precauções básicas do controlo de infeção," *Direção Geral da Saúde*, 2013.

[77] Centers for Disease Control and Prevention (CDC), "Standard Precautions for All Patient Care."

[78] UNICEF, "State of the World's Hand Hygiene: A global call to action to make hand hygiene a priority in policy and practice.," *United Nations Children's Fund*, 2021.

[79] Presidência do Conselho de Ministros, *Decreto-Lei n.º 102/2023, de 7 de novembro*. Portugal: https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/decreto-lei/102-2023-223906278, 2023, pp. 4–20.

[80] Ministério da Saúde - Gabinete do Secretário de Estado Adjunto do Ministro da Saúde, *Despacho n.º 2902/2013, de 22 de fevereiro*. Portugal: https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/despacho/2902-2013-1937340, 2013, pp. 7179–7180.

[81] Saúde - Gabinete do Secretário de Estado Adjunto e da Saúde, *Despacho n.º 10901/2022, de 8 de setembro*. Portugal: https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/despacho/10901-2022-200789503, 2022, pp. 93–99.

[82] Assembleia da República, *Lei n.º 81/2009, de 21 de agosto*. Portugal : https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/lei/81-2009-488301, 2009, pp. 5491–5495.

[83] Departamento da Qualidade na Saúde, *Vigilância Epidemiológica das Resistências aos Antimicrobianos*. Portugal : https://normas.dgs.min-saude.pt/wp-content/uploads/2013/02/norma_004_2013_resistencias_antibioticos_atualizada_27_07_2022.pdf, 2013.

[84] G. Y. C. Cheung, J. S. Bae, and M. Otto, "Pathogenicity and virulence of Staphylococcus aureus," 2021. doi: 10.1080/21505594.2021.1878688.

[85] B. P. Howden *et al.*, "Staphylococcus aureus host interactions and adaptation," 2023. doi: 10.1038/s41579-023-00852-y.

[86] S. Y. C. Tong, J. S. Davis, E. Eichenberger, T. L. Holland, and V. G. Fowler, "Staphylococcus aureus infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management," *Clin Microbiol Rev*, vol. 28, no. 3, pp. 603–661, 2015, doi: 10.1128/CMR.00134-14.

[87] S. Lakhundi and K. Zhang, "Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology," 2018. doi: 10.1128/CMR.00020-18.

[88] S. Sarwar, S. Saleem, F. Shahzad, and S. Jahan, "Identifying and elucidating the resistance of Staphylococcus aureus isolated from hospital environment to conventional disinfectants," *Am J Infect Control*, vol. 51, no. 2, 2023, doi: 10.1016/j.ajic.2022.05.018.

[89] K. Schilcher and A. R. Horswill, "Staphylococcal Biofilm Development: Structure, Regulation, and Treatment Strategies," *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, vol. 84, no. 3, 2020, doi: 10.1128/mmbr.00026-19.

[90] M. Otto, "Staphylococcal Biofilms," *Microbiol Spectr*, vol. 6, no. 4, 2018, doi: 10.1128/microbiolspec.gpp3-0023-2018.

[91] C. P. Harkins *et al.*, "Methicillin-resistant Staphylococcus aureus emerged long before the introduction of methicillin into clinical practice," *Genome Biol*, vol. 18, no. 1, 2017, doi: 10.1186/s13059-017-1252-9.

[92] European Centre for Disease Prevention and Control and World Health Organization, *Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023 : 2021 data*. 2023.

[93] G. T. Hansen, "Continuous Evolution: Perspective on the Epidemiology of Carbapenemase Resistance Among Enterobacterales and Other Gram-Negative Bacteria," 2021. doi: 10.1007/s40121-020-00395-2.

[94] L. K. Logan and R. A. Weinstein, "The epidemiology of Carbapenem-resistant enterobacteriaceae: The impact and evolution of a global menace," *Journal of Infectious Diseases*, vol. 215, 2017, doi: 10.1093/infdis/jiw282.

[95] M. I. Moreira de Gouveia, A. Bernalier-Donadille, and G. Jubelin, "Enterobacteriaceae in the Human Gut: Dynamics and Ecological Roles in Health and Disease," 2024. doi: 10.3390/biology13030142.

[96] B. K. Tadese, C. Darkoh, S. M. DeSantis, O. Mgbere, and K. Fujimoto, "Clinical epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacterales in the Greater Houston region of Texas: a 6-year trend and surveillance analysis," *J Glob Antimicrob Resist*, vol. 30, pp. 222–227, Sep. 2022, doi: 10.1016/j.jgar.2022.06.019.

[97] J. Tischendorf, R. A. De Avila, and N. Safdar, "Risk of infection following colonization with carbapenem-resistant Enterobactericeae: A systematic review," *Am J Infect Control*, vol. 44, no. 5, 2016, doi: 10.1016/j.ajic.2015.12.005.

[98] K. Bush and P. A. Bradford, "β-lactams and β-lactamase inhibitors: An overview," *Cold Spring Harb Perspect Med*, vol. 6, no. 8, 2016, doi: 10.1101/cshperspect.a025247.

[99] D. M. P. De Oliveira *et al.*, "Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens," *Clin Microbiol Rev*, vol. 33, no. 3, 2020, doi: 10.1128/CMR.00181-19.

[100] Y. Liao, J. Gong, X. Yuan, X. Wang, Y. Huang, and X. Chen, "Virulence Factors and Carbapenem-Resistance Mechanisms in Hypervirulent Klebsiella Pneumoniae," 2024, *Dove Medical Press Ltd*. doi: 10.2147/IDR.S461903.

[101] K. Bush and P. A. Bradford, "Epidemiology of β-lactamase-producing pathogens," 2020. doi: 10.1128/CMR.00047-19.

[102] J. H. Jeon *et al.*, "Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance," 2015. doi: 10.3390/ijms16059654.

[103] H. Grundmann *et al.*, "Occurrence of carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective, multinational study," *Lancet Infect Dis*, vol. 17, no. 2, 2017, doi: 10.1016/S1473-3099(16)30257-2.

[104] R. A. Bonomo *et al.*, "Carbapenemase-Producing Organisms: A Global Scourge," 2018. doi: 10.1093/cid/cix893.

[105] D. van Duin and Y. Doi, "The global epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae," 2017. doi: 10.1080/21505594.2016.1222343.

[106] E. Fiore, D. Van Tyne, and M. S. Gilmore, "Pathogenicity of Enterococci," *Microbiol Spectr*, vol. 7, no. 4, 2019, doi: 10.1128/microbiolspec.gpp3-0053-2018.

[107] B. Krawczyk, P. Wityk, M. Gałęcka, and M. Michalik, “The many faces of enterococcus spp.—commensal, probiotic and opportunistic pathogen,” Sep. 01, 2021, *MDPI*. doi: 10.3390/microorganisms9091900.

[108] M. García-Solache and L. B. Rice, “The enterococcus: A model of adaptability to its environment,” 2019. doi: 10.1128/CMR.00058-18.

[109] E. Sadowy and A. Luczkiewicz, “Drug-resistant and hospital-associated Enterococcus faecium from wastewater, riverine estuary and anthropogenically impacted marine catchment basin,” 2014. [Online]. Available: http://www.biomedcentral.com/1471-2180/14/66

[110] P. Şchiopu *et al.*, “An Overview of the Factors Involved in Biofilm Production by the Enterococcus Genus,” Jul. 01, 2023, *Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*. doi: 10.3390/ijms241411577.

[111] B. L. Hollenbeck and L. B. Rice, “Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus,” 2012, *Taylor and Francis Inc.* doi: 10.4161/viru.21282.

[112] M. L. Faron, N. A. Ledeboer, and B. W. Buchan, “Resistance mechanisms, epidemiology, and approaches to screening for vancomycin-resistant Enterococcus in the health care setting,” 2016. doi: 10.1128/JCM.00211-16.

[113] G. Werner *et al.*, “Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe.,” 2008. doi: 10.2807/ese.13.47.19046-en.

[114] J. E. Buddle and R. P. Fagan, “Pathogenicity and virulence of Clostridioides difficile,” 2023. doi: 10.1080/21505594.2022.2150452.

[115] S. Di Bella *et al.*, “Clostridioides difficile infection: history, epidemiology, risk factors, prevention, clinical manifestations, treatment, and future options,” 2024. doi: 10.1128/cmr.00135-23.

[116] J. Czepiel *et al.*, “Clostridium difficile infection: review,” 2019. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6.

[117] D. Paredes-Sabja, A. Shen, and J. A. Sorg, “Clostridium difficile spore biology: Sporulation, germination, and spore structural proteins,” 2014. doi: 10.1016/j.tim.2014.04.003.

[118] S. Johnson *et al.*, “Clinical Practice Guideline by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA): 2021 Focused Update Guidelines on Management of Clostridioides difficile Infection in Adults,” *Clin Infect Dis*, vol. 73, no. 5, 2021, doi: 10.1093/cid/ciab549.

[119] C. Janoir, “Virulence factors of Clostridium difficile and their role during infection,” *Anaerobe*, vol. 37, 2016, doi: 10.1016/j.anaerobe.2015.10.009.

[120] M. J. T. Crobach *et al.*, "Understanding clostridium difficile colonization," 2018. doi: 10.1128/CMR.00021-17.

[121] L. Furuya-Kanamori *et al.*, "Asymptomatic Clostridium difficile colonization: Epidemiology and clinical implications," *BMC Infect Dis*, vol. 15, no. 1, 2015, doi: 10.1186/s12879-015-1258-4.

[122] C. M. Theriot *et al.*, "Antibiotic-induced shifts in the mouse gut microbiome and metabolome increase susceptibility to Clostridium difficile infection," *Nat Commun*, vol. 5, Jan. 2014, doi: 10.1038/ncomms4114.

[123] A. M. Seekatz and V. B. Young, "Clostridium difficile and the microbiota," Oct. 01, 2014, *American Society for Clinical Investigation*. doi: 10.1172/JCI72336.

[124] I. Kyriakidis, E. Vasileiou, Z. D. Pana, and A. Tragiannidis, "Acinetobacter baumannii antibiotic resistance mechanisms," 2021. doi: 10.3390/pathogens10030373.

[125] M. Lucidi *et al.*, "Pathogenicity and virulence of Acinetobacter baumannii: Factors contributing to the fitness in healthcare settings and the infected host," 2023. doi: 10.1080/21505594.2023.2289769.

[126] Z. Jian-Xia, F. Ding-Yun, L. Xia, Z. Jia-Xin, W. Wen-Bin, and Z. Tian-Tuo, "Advances in research on virulence factors of Acinetobacter baumannii and their potential as novel therapeutic targets," 2023. doi: 10.1093/jambio/lxac089.

[127] M. Lucidi *et al.*, "Pathogenicity and virulence of Acinetobacter baumannii: Factors contributing to the fitness in healthcare settings and the infected host," 2023, *Taylor and Francis Ltd.* doi: 10.1080/21505594.2023.2289769.

[128] M. Nguyen and S. G. Joshi, "Carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii, and their importance in hospital-acquired infections: a scientific review," 2021. doi: 10.1111/jam.15130.

[129] B. Shin and W. Park, "Antibiotic resistance of pathogenic Acinetobacter species and emerging combination therapy," 2017. doi: 10.1007/s12275-017-7288-4.

[130] M. Hamidian and S. J. Nigro, "Emergence, molecular mechanisms and global spread of carbapenem-resistant acinetobacter baumannii," 2019. doi: 10.1099/mgen.0.000306.

[131] M. Castanheira, R. E. Mendes, and A. C. Gales, "Global Epidemiology and Mechanisms of Resistance of Acinetobacter baumannii-calcoaceticus Complex," *Clinical Infectious Diseases*, vol. 76, 2023, doi: 10.1093/cid/ciad109.

[132] S. Fahy, J. A. O'Connor, B. Lucey, and R. D. Sleator, "Hospital Reservoirs of Multidrug Resistant Acinetobacter Species—The Elephant in the Room!," 2023, *Institute of Biomedical Science (IBMS)*. doi: 10.3389/bjbs.2023.11098.

[133] S. Ibrahim, N. Al-Saryi, I. M. S. Al-Kadmy, and S. N. Aziz, "Multidrug-resistant Acinetobacter baumannii as an emerging concern in hospitals," 2021. doi: 10.1007/s11033-021-06690-6.

[134] Z. Pang, R. Raudonis, B. R. Glick, T. J. Lin, and Z. Cheng, "Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa: mechanisms and alternative therapeutic strategies," 2019. doi: 10.1016/j.biotechadv.2018.11.013.

[135] A. J. Kunz Coyne, A. El Ghali, D. Holger, N. Rebold, and M. J. Rybak, "Therapeutic Strategies for Emerging Multidrug-Resistant Pseudomonas aeruginosa," 2022. doi: 10.1007/s40121-022-00591-2.

[136] D. Reynolds and M. Kollef, "The Epidemiology and Pathogenesis and Treatment of Pseudomonas aeruginosa Infections: An Update," 2021. doi: 10.1007/s40265-021-01635-6.

[137] M. F. Moradali, S. Ghods, and B. H. A. Rehm, "Pseudomonas aeruginosa lifestyle: A paradigm for adaptation, survival, and persistence," 2017. doi: 10.3389/fcimb.2017.00039.

[138] C. Liao, X. Huang, Q. Wang, D. Yao, and W. Lu, "Virulence Factors of Pseudomonas Aeruginosa and Antivirulence Strategies to Combat Its Drug Resistance," 2022. doi: 10.3389/fcimb.2022.926758.

[139] G. Raman, E. E. Avendano, J. Chan, S. Merchant, and L. Puzniak, "Risk factors for hospitalized patients with resistant or multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa infections: A systematic review and meta-analysis," *Antimicrob Resist Infect Control*, vol. 7, no. 1, 2018, doi: 10.1186/s13756-018-0370-9.

[140] J. P. Horcajada *et al.*, "Epidemiology and treatment of multidrug-resistant and extensively drug-resistant Pseudomonas aeruginosa infections," *Clin Microbiol Rev*, vol. 32, no. 4, 2019, doi: 10.1128/CMR.00031-19.

[141] S. Qin *et al.*, "Pseudomonas aeruginosa: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics," 2022. doi: 10.1038/s41392-022-01056-1.

[142] M. Castanheira, P. J. Simner, and P. A. Bradford, "Extended-spectrum β-lactamases: An update on their characteristics, epidemiology and detection," 2021. doi: 10.1093/jacamr/dlab092.

[143] A. Husna *et al.*, "Extended-Spectrum β-Lactamases (ESBL): Challenges and Opportunities," 2023. doi: 10.3390/biomedicines11112937.

[144] C. Aurilio *et al.*, "Mechanisms of Action of Carbapenem Resistance," 2022. doi: 10.3390/antibiotics11030421.

[145] Y. Chong, S. Shimoda, and N. Shimono, "Current epidemiology, genetic evolution and clinical impact of extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae," 2018. doi: 10.1016/j.meegid.2018.04.005.

[146] J. Rodríguez-Baño, B. Gutiérrez-Gutiérrez, I. Machuca, and A. Pascual, "Treatment of infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-, ampC-, and carbapenemase-producing enterobacteriaceae," 2018. doi: 10.1128/CMR.00079-17.

[147] M. R. Heath, W. Fan, C. S. Leu, A. Gomez-Simmonds, T. Lodise, and D. E. Freedberg, "Gut colonization with multidrug resistant organisms in the intensive care unit: a systematic review and meta-analysis," *Crit Care*, vol. 28, no. 1, Dec. 2024, doi: 10.1186/s13054-024-04999-9.

[148] CDC, "Environmental Cleaning Procedures | Environmental Cleaning in RLS | HAI | CDC," 2020.

[149] P. C. Carling and J. M. Bartley, "Evaluating hygienic cleaning in health care settings: What you do not know can harm your patients," *Am J Infect Control*, vol. 38, no. 5 SUPPL., 2010, doi: 10.1016/j.ajic.2010.03.004.

[150] Centers for Disease Control and Prevention, "Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, 2008; Miscellaneous Inactivating Agents," *CDC website*, no. May, 2013.

[151] A. C. do S. de S. I. ACSS, "Recomendações e Especificações Técnicas do Edifício Hospitalar."

[152] A. C. do S. de S. I. ACSS, "Especificações Técnicas para Instalações e Equipamentos de Águas e Esgotos em Edifícios Hospitalares ET 15/2024."

[153] A. C. do S. de S. I. ACSS, "Especificações Técnicas para Tubagens em Instalações de Águas de Edifícios Hospitalares ET 07/2009."

[154] S. Zheng *et al.*, "Implication of Surface Properties, Bacterial Motility, and Hydrodynamic Conditions on Bacterial Surface Sensing and Their Initial Adhesion," 2021. doi: 10.3389/fbioe.2021.643722.

[155] S. Wu, S. Altenried, A. Zogg, F. Zuber, K. Maniura-Weber, and Q. Ren, "Role of the Surface Nanoscale Roughness of Stainless Steel on Bacterial Adhesion and Microcolony Formation," *ACS Omega*, vol. 3, no. 6, 2018, doi: 10.1021/acsomega.8b00769.

[156] S. Kotay, W. Chai, W. Guilford, K. Barry, and A. J. Mathers, "Spread from the sink to the patient: In situ study using green fluorescent protein (GFP)-expressing Escherichia coli to model bacterial dispersion from hand-washing sink-trap reservoirs," *Appl Environ Microbiol*, vol. 83, no. 8, 2017, doi: 10.1128/AEM.03327-16.

[157] G. E. McCallum and J. P. J. Hall, “The hospital sink drain microbiome as a melting pot for AMR transmission to nosocomial pathogens,” *npj Antimicrobials and Resistance*, vol. 3, no. 1, Jul. 2025, doi: 10.1038/s44259-025-00137-9.

[158] ~ Health, F. Scotland, and ~ ————————————————~ : Ticne~, “Scottish Health Technical Memorandum 64 SHTM Building Component Series Sanitary Assemblies Health Facilities Scotland Property and Capital Planning,” 2009.

[159] S. Park *et al.*, “Some like it hot: Variable impact of a tailpiece heating device on different gram-negative bacteria,” *Antimicrobial Stewardship & Healthcare Epidemiology*, vol. 3, no. S2, 2023, doi: 10.1017/ash.2023.318.

[160] J. M. Bosilevac *et al.*, “Impact of intense sanitization procedures on bacterial communities recovered from floor drains in pork processing plants,” *Front Microbiol*, vol. 15, 2024, doi: 10.3389/fmicb.2024.1379203.

[161] K. Ledwoch, A. Robertson, J. Lauran, P. Norville, and J. Y. Maillard, “It’s a trap! The development of a versatile drain biofilm model and its susceptibility to disinfection,” *Journal of Hospital Infection*, vol. 106, no. 4, 2020, doi: 10.1016/j.jhin.2020.08.010.

[162] X. Wang, M. Liu, C. Yu, J. Li, and X. Zhou, “Biofilm formation: mechanistic insights and therapeutic targets,” 2023. doi: 10.1186/s43556-023-00164-w.

[163] R. M. Donlan and J. W. Costerton, “Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms,” 2002. doi: 10.1128/CMR.15.2.167-193.2002.

[164] A. Zhao, J. Sun, and Y. Liu, “Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies,” 2023. doi: 10.3389/fcimb.2023.1137947.

[165] R. M. Donlan, “Biofilms: Microbial life on surfaces,” 2002. doi: 10.3201/eid0809.020063.

[166] K. Sauer *et al.*, “The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation,” 2022. doi: 10.1038/s41579-022-00767-0.

[167] G. Feng, Y. Cheng, S. Y. Wang, D. A. Borca-Tasciuc, R. W. Worobo, and C. I. Moraru, “Bacterial attachment and biofilm formation on surfaces are reduced by small-diameter nanoscale pores: How small is small enough?,” *NPJ Biofilms Microbiomes*, vol. 1, 2015, doi: 10.1038/npjbiofilms.2015.22.

[168] W. E. Thomas, L. M. Nilsson, M. Forero, E. V. Sokurenko, and V. Vogel, “Shear-dependent ‘stick-and-roll’ adhesion of type 1 fimbriated Escherichia coli,” *Mol Microbiol*, vol. 53, no. 5, 2004, doi: 10.1111/j.1365-2958.2004.04226.x.

[169] W. M. Dunne, “Bacterial adhesion: Seen any good biofilms lately?,” 2002. doi: 10.1128/CMR.15.2.155-166.2002.

[170] M. A. Rather, K. Gupta, and M. Mandal, “Microbial biofilm: formation, architecture, antibiotic resistance, and control strategies,” 2021. doi: 10.1007/s42770-021-00624-x.

[171] B. Vu, M. Chen, R. J. Crawford, and E. P. Ivanova, “Bacterial extracellular polysaccharides involved in biofilm formation,” 2009. doi: 10.3390/molecules14072535.

[172] P. Stoodley, K. Sauer, D. G. Davies, and J. W. Costerton, “Biofilms as complex differentiated communities,” 2002. doi: 10.1146/annurev.micro.56.012302.160705.

[173] J. B. Kaplan, “Biofilm Dispersal: Mechanisms, Clinical Implications, and Potential Therapeutic Uses,” 2010. doi: 10.1177/0022034509359403.

[174] L. R. Mulcahy, V. M. Isabella, and K. Lewis, “Pseudomonas aeruginosa Biofilms in Disease,” *Microb Ecol*, vol. 68, no. 1, 2014, doi: 10.1007/s00248-013-0297-x.

[175] M. Berlanga and R. Guerrero, “Living together in biofilms: The microbial cell factory and its biotechnological implications,” 2016. doi: 10.1186/s12934-016-0569-5.

[176] A. Penesyan, I. T. Paulsen, S. Kjelleberg, and M. R. Gillings, “Three faces of biofilms: a microbial lifestyle, a nascent multicellular organism, and an incubator for diversity,” 2021. doi: 10.1038/s41522-021-00251-2.

[177] H. C. Flemming and S. Wuertz, “Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms,” *Nat Rev Microbiol*, vol. 17, no. 4, 2019, doi: 10.1038/s41579-019-0158-9.

[178] L. C. Martínez and V. Vadyvaloo, “Mechanisms of post-transcriptional gene regulation in bacterial biofilms,” 2014. doi: 10.3389/fcimb.2014.00038.

[179] A. J. Paula, G. Hwang, and H. Koo, “Dynamics of bacterial population growth in biofilms resemble spatial and structural aspects of urbanization,” *Nat Commun*, vol. 11, no. 1, 2020, doi: 10.1038/s41467-020-15165-4.

[180] T. F. C. Mah and G. A. O’Toole, “Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents,” 2001. doi: 10.1016/S0966-842X(00)01913-2.

[181] C. Michaelis and E. Grohmann, “Horizontal Gene Transfer of Antibiotic Resistance Genes in Biofilms,” 2023. doi: 10.3390/antibiotics12020328.

[182] J. S. Madsen, M. Burmølle, L. H. Hansen, and S. J. Sørensen, “The interconnection between biofilm formation and horizontal gene transfer,” Jul. 2012. doi: 10.1111/j.1574-695X.2012.00960.x.

[183] D. De Geyter *et al.*, "The sink as a potential source of transmission of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in the intensive care unit," *Antimicrob Resist Infect Control*, vol. 6, no. 1, 2017, doi: 10.1186/s13756-017-0182-3.

[184] M. Lichtenberg, T. Coenye, M. R. Parsek, T. Bjarnsholt, and T. H. Jakobsen, "What's in a name? Characteristics of clinical biofilms," 2023. doi: 10.1093/femsre/fuad050.

[185] F. Valzano, A. R. D. Coda, A. Liso, and F. Arena, "Multidrug-Resistant Bacteria Contaminating Plumbing Components and Sanitary Installations of Hospital Restrooms," 2024. doi: 10.3390/microorganisms12010136.

[186] M. J. Alfa, "Biofilms on instruments and environmental surfaces: Do they interfere with instrument reprocessing and surface disinfection? Review of the literature," 2019. doi: 10.1016/j.ajic.2019.02.027.

[187] G. Bhagwat, W. O'Connor, I. Grainge, and T. Palanisami, "Understanding the Fundamental Basis for Biofilm Formation on Plastic Surfaces: Role of Conditioning Films," *Front Microbiol*, vol. 12, 2021, doi: 10.3389/fmicb.2021.687118.

[188] B. Majhy, P. Priyadarshini, and A. K. Sen, "Effect of surface energy and roughness on cell adhesion and growth-facile surface modification for enhanced cell culture," *RSC Adv*, vol. 11, no. 25, 2021, doi: 10.1039/d1ra02402g.

[189] S. Cai, C. Wu, W. Yang, W. Liang, H. Yu, and L. Liu, "Recent advance in surface modification for regulating cell adhesion and behaviors," *Nanotechnol Rev*, vol. 9, no. 1, 2020, doi: 10.1515/ntrev-2020-0076.

[190] A. Nucci, E. P. C. Rocha, and O. Rendueles, "Latent evolution of biofilm formation depends on life-history and genetic background," *NPJ Biofilms Microbiomes*, vol. 9, no. 1, 2023, doi: 10.1038/s41522-023-00422-3.

[191] C. Volling *et al.*, "Are Sink Drainage Systems a Reservoir for Hospital-Acquired Gammaproteobacteria Colonization and Infection? A Systematic Review," 2021. doi: 10.1093/ofid/ofaa590.

[192] J. Pirzadian *et al.*, "Novel use of culturomics to identify the microbiota in hospital sink drains with and without persistent VIM-positive Pseudomonas aeruginosa," *Sci Rep*, vol. 10, no. 1, 2020, doi: 10.1038/s41598-020-73650-8.

[193] C. J. Donskey, "Update on potential interventions to reduce the risk for transmission of health care-associated pathogens from floors and sinks," *Am J Infect Control*, vol. 51, no. 11, 2023, doi: 10.1016/j.ajic.2023.03.009.

[194] L. C. Franco, W. Tanner, C. Ganim, T. Davy, J. Edwards, and R. Donlan, "A microbiological survey of handwashing sinks in the hospital built environment reveals differences in patient room and healthcare personnel sinks," *Sci Rep*, vol. 10, no. 1, 2020, doi: 10.1038/s41598-020-65052-7.

[195] L. Diorio-Toth *et al.*, "Intensive care unit sinks are persistently colonized with multidrug resistant bacteria and mobilizable, resistance-conferring plasmids," *mSystems*, 2023, doi: 10.1128/msystems.00206-23.

[196] A. Hennebique *et al.*, "The hospital sink drain biofilm resistome is independent of the corresponding microbiota, the environment and disinfection measures," *Water Res*, vol. 284, Sep. 2025, doi: 10.1016/j.watres.2025.123902.

[197] J. Laço, S. Martorell, M. del C. Gallegos, and M. Gomila, "Yearlong analysis of bacterial diversity in hospital sink drains: culturomics, antibiotic resistance and implications for infection control," *Front Microbiol*, vol. 15, 2024, doi: 10.3389/fmicb.2024.1501170.

[198] J. Pirzadian *et al.*, "Impact of sink design on bacterial transmission from hospital sink drains to the surrounding sink environment tested using a fluorescent marker," *Journal of Hospital Infection*, vol. 127, 2022, doi: 10.1016/j.jhin.2022.04.017.

[199] G. B. Fucini *et al.*, "Sinks in patient rooms in ICUs are associated with higher rates of hospital-acquired infection: a retrospective analysis of 552 ICUs," *Journal of Hospital Infection*, vol. 139, 2023, doi: 10.1016/j.jhin.2023.05.018.

[200] J. Denissen *et al.*, "Prevalence of ESKAPE pathogens in the environment: Antibiotic resistance status, community-acquired infection and risk to human health," 2022. doi: 10.1016/j.ijheh.2022.114006.

[201] A. Pantel, B. Richaud-Morel, M. Cazaban, N. Bouziges, A. Sotto, and J.-P. Lavigne, "Environmental persistence of OXA-48–producing Klebsiella pneumoniae in a French intensive care unit," *Am J Infect Control*, vol. 44, no. 3, 2016, doi: 10.1016/j.ajic.2015.09.021.

[202] G. Starlander and Å. Melhus, "Minor outbreak of extended-spectrum β-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae in an intensive care unit due to a contaminated sink," *Journal of Hospital Infection*, vol. 82, no. 2, 2012, doi: 10.1016/j.jhin.2012.07.004.

[203] J. Hopman *et al.*, "Reduced rate of intensive care unit acquired gram-negative bacilli after removal of sinks and introduction of 'water-free' patient care," *Antimicrob Resist Infect Control*, vol. 6, no. 1, 2017, doi: 10.1186/s13756-017-0213-0.

[204] E. Shaw *et al.*, "Control of endemic multidrug-resistant Gram-negative bacteria after removal of sinks and implementing a new water-safe policy in an intensive care unit," *Journal of Hospital Infection*, vol. 98, no. 3, 2018, doi: 10.1016/j.jhin.2017.10.025.

[205] G. Wijesinghe, A. Dilhari, B. Gayani, N. Kottegoda, L. Samaranayake, and M. Weerasekera, "Influence of Laboratory Culture Media on in vitro Growth, Adhesion, and Biofilm Formation of Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus," *Medical Principles and Practice*, vol. 28, no. 1, 2019, doi: 10.1159/000494757.

[206] S. M. Kotay, R. M. Donlan, C. Ganim, K. Barry, B. E. Christensen, and A. J. Mathers, "Droplet- Rather than Aerosol-Mediated Dispersion Is the Primary Mechanism of Bacterial Transmission from Contaminated Hand-Washing Sink Traps," *Appl Environ Microbiol*, vol. 85, no. 2, 2019, doi: 10.1128/AEM.01997-18.

[207] B. Jung and G. J. Hoilat, *MacConkey Medium*. 2020.

[208] R. Buxton, "Blood Agar Plates and Hemolysis Protocols," *American Society for Microbiology*, no. May 2019, 2005.

[209] J. C. Lagier, S. Edouard, I. Pagnier, O. Mediannikov, M. Drancourt, and D. Raoult, "Current and past strategies for bacterial culture in clinical microbiology," *Clin Microbiol Rev*, vol. 28, no. 1, pp. 208–236, Jan. 2015, doi: 10.1128/CMR.00110-14.

[210] J. Kim, S. Cho, Y.-K. Kim, and Y.-J. Park, "Evaluation of the Usefulness of MacConkey Agar and Colistin-Nalidixic Acid Blood Agar for Body Fluids, Peritoneal Fluid, and Wound/Abscess Specimens," *Annals of Clinical Microbiology*, vol. 18, no. 1, p. 1, 2015, doi: 10.5145/acm.2015.18.1.1.

[211] G. S. Hall, " Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, 13 th Edn ," *Lab Med*, vol. 44, no. 4, 2013, doi: 10.1309/lm5jc0ph0oggbszz.

[212] N. Singhal, M. Kumar, P. K. Kanaujia, and J. S. Virdi, "MALDI-TOF mass spectrometry: An emerging technology for microbial identification and diagnosis," 2015. doi: 10.3389/fmicb.2015.00791.

[213] J. A. Otter, S. Yezli, J. A. G. Salkeld, and G. L. French, "Evidence that contaminated surfaces contribute to the transmission of hospital pathogens and an overview of strategies to address contaminated surfaces in hospital settings," *Am J Infect Control*, vol. 41, no. 5 SUPPL., 2013, doi: 10.1016/j.ajic.2012.12.004.

[214] D. De Geyter, R. Vanstokstraeten, F. Crombé, J. Tommassen, I. Wybo, and D. Piérard, "Sink drains as reservoirs of VIM-2 metallo-β-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa in a Belgian

intensive care unit: relation to patients investigated by whole-genome sequencing," *Journal of Hospital Infection*, vol. 115, 2021, doi: 10.1016/j.jhin.2021.05.010.

[215] A. Kearney, M. A. Boyle, G. F. Curley, and H. Humphreys, "Preventing infections caused by carbapenemase-producing bacteria in the intensive care unit - Think about the sink," 2021. doi: 10.1016/j.jcrc.2021.07.023.

[216] M. Gideskog, T. Falkeborn, J. Welander, and Å. Melhus, "Source Control of Gram-Negative Bacteria Using Self-Disinfecting Sinks in a Swedish Burn Centre," *Microorganisms*, vol. 11, no. 4, 2023, doi: 10.3390/microorganisms11040965.

[217] C. Lalancette *et al.*, "Hospital drains as reservoirs of Pseudomonas aeruginosa: Multiple-locus variable-number of tandem repeats analysis genotypes recovered from faucets, sink surfaces and patients," *Pathogens*, vol. 6, no. 3, 2017, doi: 10.3390/pathogens6030036.

[218] H. P. Loveday, J. A. Wilson, K. Kerr, R. Pitchers, J. T. Walker, and J. Browne, "Association between healthcare water systems and Pseudomonas aeruginosa infections: A rapid systematic review," 2014. doi: 10.1016/j.jhin.2013.09.010.

[219] L. D. Jones *et al.*, "Effectiveness of foam disinfectants in reducing sink-drain gram-negative bacterial colonization," *Infect Control Hosp Epidemiol*, vol. 41, no. 3, 2020, doi: 10.1017/ice.2019.325.

[220] K. Ledwoch, A. Robertson, J. Lauran, P. Norville, and J. Y. Maillard, "It's a trap! The development of a versatile drain biofilm model and its susceptibility to disinfection," *Journal of Hospital Infection*, vol. 106, no. 4, pp. 757–764, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.jhin.2020.08.010.

[221] E. A. Grice and J. A. Segre, "The skin microbiome," Apr. 2011. doi: 10.1038/nrmicro2537.

[222] H. O. Eltwisy, M. Abdel-Fattah, A. M. Elsisi, M. M. Omar, A. A. Abdelmoteleb, and M. A. El-Mokhtar, "Pathogenesis of Staphylococcus haemolyticus on primary human skin fibroblast cells," *Virulence*, vol. 11, no. 1, 2020, doi: 10.1080/21505594.2020.1809962.

[223] W. Ziebuhr, S. Hennig, M. Eckart, H. Kränzler, C. Batzilla, and S. Kozitskaya, "Nosocomial infections by Staphylococcus epidermidis: how a commensal bacterium turns into a pathogen," *Int J Antimicrob Agents*, vol. 28, no. SUPPL. 1, 2006, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2006.05.012.

[224] S. H. Jung, C. M. Ryu, and J. S. Kim, "Bacterial persistence: Fundamentals and clinical importance," 2019. doi: 10.1007/s12275-019-9218-0.

[225] A. Kramer, I. Schwebke, and G. Kampf, "How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review," 2006. doi: 10.1186/1471-2334-6-130.

[226] B. Massey and J. Ward-Smith, *Mechanics of Fluids 8th Edition*. 2006.

[227] C. Tsioutis, V. M. Eichel, and N. T. Mutters, “Transmission of Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC)-producing Klebsiella pneumoniae: the role of infection control,” *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 76, 2021, doi: 10.1093/jac/dkaa492.

[228] O. O. Ikhimiukor *et al.*, “ Phylogenetic lineages and antimicrobial resistance determinants of clinical Klebsiella oxytoca spanning local to global scales ,” *Microbiol Spectr*, vol. 11, no. 5, 2023, doi: 10.1128/spectrum.00549-23.

[229] J. Villa, D. M. Arana, E. Viedma, D. Perez-Montarelo, and F. Chaves, “Characterization of mobile genetic elements carrying VIM-1 and KPC-2 carbapenemases in Citrobacter freundii isolates in Madrid,” *International Journal of Medical Microbiology*, vol. 307, no. 6, 2017, doi: 10.1016/j.ijmm.2017.07.001.

[230] S. C. Park *et al.*, “Risk Factors Associated with Carbapenemase-Producing Enterobacterales (CPE) Positivity in the Hospital Wastewater Environment,” *Appl Environ Microbiol*, vol. 86, no. 24, 2020, doi: 10.1128/AEM.0715-20.

[231] F. Y. Tian, X. Y. Wang, H. P. Meng, J. B. Kang, M. Zhao, and H. W. Wang, “Investigation on the contaminate of hand washing activities on the surface of environmental objects in intensive care unit,” *Sci Rep*, vol. 14, no. 1, Dec. 2024, doi: 10.1038/s41598-024-62529-7.

[232] E. J. Bottone, “Bacillus cereus, a volatile human pathogen,” 2010. doi: 10.1128/CMR.00073-09.

[233] R. Majed, C. Faille, M. Kallassy, and M. Gohar, “Bacillus cereus Biofilms-same, only different,” 2016. doi: 10.3389/fmicb.2016.01054.

[234] N. Didouh, N. Bendimered, F. Postellec, E. Deperieux, I. Leguerinel, and B. Moussa Boudjemâa, “Effect of Hydrophobic or Hydrophilic Characteristics of B. cereus Spores on Their Resistance to Detergents,” *J Food Prot*, vol. 85, no. 4, 2022, doi: 10.4315/JFP-21-286.

[235] J. A. Otter *et al.*, “Surface-attached cells, biofilms and biocide susceptibility: Implications for hospital cleaning anddisinfection,” Jan. 01, 2015, *W.B. Saunders Ltd*. doi: 10.1016/j.jhin.2014.09.008.

[236] H. Kanamori, D. J. Weber, and W. A. Rutala, “Healthcare outbreaks associated with a water reservoir and infection prevention strategies,” *Clinical Infectious Diseases*, vol. 62, no. 11, 2016, doi: 10.1093/cid/ciw122.

[237] M. F. Haq, L. Jones, N. P. Herrera, J. Cadnum, P. Carling, and C. Donskey, “Comparison of Two Novel Methods for Sink Drain Disinfection,” *Infect Control Hosp Epidemiol*, vol. 41, no. S1, 2020, doi: 10.1017/ice.2020.712.

[238] W. S. da Cruz Nizer *et al.*, " The role of exopolysaccharides Psl and Pel in resistance of Pseudomonas aeruginosa to the oxidative stressors sodium hypochlorite and hydrogen peroxide ," *Microbiol Spectr*, vol. 12, no. 10, Oct. 2024, doi: 10.1128/spectrum.00922-24.

[239] T. Bourdin *et al.*, "Disinfection of sink drains to reduce a source of three opportunistic pathogens, during Serratia marcescens clusters in a neonatal intensive care unit," *PLoS One*, vol. 19, no. 6 June, Jun. 2024, doi: 10.1371/journal.pone.0304378.

[240] F. Qiao *et al.*, "Handwashing Sink Contamination and Carbapenem-resistant Klebsiella Infection in the Intensive Care Unit: A Prospective Multicenter Study," *Clinical Infectious Diseases*, vol. 71, 2020, doi: 10.1093/cid/ciaa1515.

[241] W. A. Rutala and D. J. Weber, "Disinfection and Sterilization in Health Care Facilities: An Overview and Current Issues," 2016. doi: 10.1016/j.idc.2016.04.002.

[242] A. Ashokan *et al.*, "Environmental dynamics of hospital microbiome upon transfer from a major hospital to a new facility," *Journal of Infection*, vol. 83, no. 6, 2021, doi: 10.1016/j.jinf.2021.09.020.

[243] B. Brooks *et al.*, "Strain-resolved analysis of hospital rooms and infants reveals overlap between the human and room microbiome," *Nat Commun*, vol. 8, no. 1, 2017, doi: 10.1038/s41467-017-02018-w.

[244] P. Tozzo, A. Delicati, and L. Caenazzo, "Human microbiome and microbiota identification for preventing and controlling healthcare-associated infections: A systematic review," 2022. doi: 10.3389/fpubh.2022.989496.

[245] MoveoMed, "MoveoSiphon ST24 - Disinfection for clinical sanitary areas."

[246] E. de Jonge, M. G. J. de Boer, E. H. R. van Essen, H. C. M. Dogterom-Ballering, and K. E. Veldkamp, "Effects of a disinfection device on colonization of sink drains and patients during a prolonged outbreak of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa in an intensive care unit," *Journal of Hospital Infection*, vol. 102, no. 1, 2019, doi: 10.1016/j.jhin.2019.01.003.

APÊNDICES

Apêndice 1 – Procedimento de Higienização da Unidade do Doente

PROCEDIMENTO GERAL

HIGIENIZAÇÃO DA UNIDADE DO DOENTE CSH

1. OBJETIVO

Estabelecer os procedimentos para uma correta higienização da unidade do doente, de forma a minimizar o risco de transmissão cruzada de microrganismos.

2. ÂMBITO

Aplica-se a todos os Serviços de Internamento.

3. RESPONSABILIDADES

Compete à Unidade Local do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos (UL-PPCIRA), em colaboração com o Serviço de Gestão Hoteleira, a implementação e monitorização deste procedimento.

4. REFERÊNCIAS, ABREVIATURAS, PALAVRAS-CHAVE E PRINCIPAIS ALTERAÇÕES

AOSL – Assistente Operacional do Serviço de Limpeza

TAS – Técnico Auxiliar de Saúde

UL-PPCIRA – Unidade Local do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos

Palavras-Chave: Higienização; Unidade do Doente

Principais Alterações:

- No ponto C. – Higienização da unidade do doente em isolamento de contenção com *Clostridioides difficile*.

5. DESCRIÇÃO DO PROCESSO

Neste documento estabelecem-se os procedimentos a ter na higienização diária, higienização após a alta do doente e higienização em caso de isolamento de contenção, sendo estes aplicados a todos os Serviços de Internamento.

PROCEDIMENTO GERAL

HIGIENIZAÇÃO DA UNIDADE DO DOENTE

A. HIGIENIZAÇÃO DA UNIDADE DO DOENTE

A.1. Diária

No turno da manhã, a **TAS** :

a. Limpar a unidade do doente (grades laterais da cama, doseador da solução alcoólica para as mãos, parte superior da mesa de apoio, cadeirão, cadeira, puxador do armário, suporte de soro e frascos recetais no exterior se estiverem em uso) com toalhete de uso único e *Dismofix*® G;

b. Higienizar a calha técnica incluindo todos os dispositivos médicos (vacuómetro e reguladores de O_2, ar e vácuo) e o botão de chamada utilizando para o efeito um toalhete *Clinell*®;

c. Higienizar o equipamento elétrico com toalhete *Clinell*®.

No turno da manhã, a **AOSL** deve efetuar a higienização diária, segundo a

A.2. Após a alta do doente

A **TAS** deve:

- Antes da higienização do quarto, retirar copos, bacias, arrastadeiras,…;
- Colocar o carro de higienização e o carro de sujos em posição funcional;
- Colocar avental e luvas;
- Retirar resíduos contaminados se aplicável;
- Retirar sistema de aspiração de secreções se aplicável;
- Retirar a roupa da cama;
- Substituir as cortinas reutilizáveis se visivelmente sujas, e/ou das unidades de doentes com medidas de isolamento ou com internamentos prolongados;
- Substituir luvas se houve manuseamento de materiais com produtos biológicos. Neste caso, higienizar as mãos e colocar novo par de luvas;
- Colocar cama na horizontal, nivelar altura, destravar e afastar da parede de forma a ser possível a limpeza da calha e da parede – ter em atenção o fio da campainha;
- Desligar os equipamentos da corrente elétrica, incluindo o cabo elétrico da cama;
- Verificar a integridade da capa e respetivo colchão;

Processo de limpeza realizado com detergente neutro – *Dismofix*® G:

- Borrifar o colchão (com a capa de proteção);
- Borrifar toalhete;
- Limpar a calha técnica na totalidade, retirando o nome do doente, limpando todos os dispositivos médicos (vacuómetros e reguladores de O_2, ar e vácuo) e o tubo do aspirador utilizando *Dismofix*® G, ou toalhetes *Clinell*®;
- Limpar vacuómetros e o tubo do aspirador;
- Limpar a cama do lado da porta de cima para baixo, incluindo rodas e travão;
- Rejeitar toalhete;
- Borrifar novo toalhete;
- Limpar a cama do lado da janela de cima para baixo, levantar a base da cama (pés e cabeceira) para limpar por baixo da base;
- Puxar colchão para cima das grades;
- Continuar com o mesmo toalhete a limpar a parte inferior da cama, rodas e travão e com o mesmo toalhete limpar rodas do cadeirão e pernas da cadeira;
- Rejeitar toalhete;
- Borrifar novo toalhete;
- Limpar cadeirão;
- Limpar cadeira;
- Limpar armário no interior e puxador utilizando o mesmo toalhete;
- Rejeitar toalhete;
- Borrifar novo toalhete;
- Limpar mesa de cabeceira;
- Rejeitar toalhete;

Processo de desinfeção realizado com *Mikrobac*® *Forte*:

- Desinfetar calha técnica na totalidade, desinfetando todos os dispositivos médicos (vacuómetro e reguladores de O_2, ar e vácuo), botão de chamada o tubo do aspirador, utilizando os toalhetes em rolo *Mikrobac*® Forte. Caso tenham sido utilizados toalhetes *Clinell*®, não é necessário efetuar este passo;
- Desinfetar cama do lado da porta, exceto rodas e travão;
- Desinfetar cama do lado da janela, exceto rodas e travão;
- Desinfetar cadeirão, exceto rodas;

- Desinfetar cadeira, exceto pernas;
- Desinfetar mesa de cabeceira, exceto rodas;
- Desinfetar armário no interior e puxador;
- Desinfetar o frasco do *Sterillium*® com *Clinell*®;
- Retirar luvas para saco preto (exceto quando utilizadas em unidades de doentes com medidas de isolamento, as quais devem ser descartadas em saco branco);
- Retirar avental;
- Lavar as mãos com água e sabão;
- Retirar o saco transparente de proteção do sistema de aspiração e rejeitar para saco preto;
- Higienizar as mãos;
- Colocar novo saco transparente;
- Fazer a cama após secagem completa do colchão;
- Ligar a cama à corrente elétrica após equipamento bem seco;
- Contactar a AOSL para proceder à higienização das restantes áreas do quarto. Este **contacto pode ser providenciado ainda antes** de ter terminado as tarefas, de forma a evitar atrasos na preparação da unidade;
- Acondicionar os carros na Sala de Sujos;
- No final de cada turno, repor o material em falta no carro de higienização;
- Proceder à desinfeção das pegas dos carros, pulverizador do *Dismofix*® G e tampa do *Mikrobac*® Forte com toalhete *Clinell*®;

A AOSL deve cumprir as sequências de tarefas descritas na

e, de acordo com a situação, **pode realizá-las em simultâneo** com a TAS.

Apêndice 2 – Microrganismos Isolados em Ralos e Tubagens de Lavatórios

A Tabela 8, contém os resultados relativos à identificação microbiológica nas amostras recolhidas a partir do interior dos ralos e tubagens de lavatórios, indicando o número de amostras em que cada microrganismo foi isolado.

Tabela 8| Microrganismos identificados nas amostras recolhidas no interior dos ralos e tubagens de lavatórios, indicando o número de amostras em que cada microrganismo foi isolado

Microrganismo	Número de Amostras Positivas
Pseudomonas aeruginosa	7
Citrobacter freudii	6
Stenotrophomonas maltophilia	5
Bacillus cereus	4
Enterobacter cloacae	3
Klebsiella variicola	3
Klebsiella oxytoca	2
Trichosporon asahii	2
Burkholderia cepacia	1
Candida parapsilosis	1
Citrobacter amalonaticus	1
Entecoccus avium	1
Enterococcus faecalis	1
Enterobacter hormaechei	1
Klebsiella pneumoniae	1
Leclercia adecarboxylata	1
Roseomonas mucosa	1
Serratia marcescens	1

Apêndice 3 – Microrganismos Isolados nas Superfícies Adjacentes

Na Tabela 9, encontram-se os resultados referentes aos microrganismos isolados a partir de amostras recolhidas nas superfícies adjacentes aos lavatórios das salas de preparação de medicação considerados, expondo o número de amostras em que cada microrganismo foi identificado.

Tabela 9 | Microrganismos identificados nas amostras recolhidas em superfícies adjacentes, indicando o número de amostras em que cada microrganismo foi isolado

Microrganismo	Número de Amostras Positivas
Staphylococcus epidermidis	4
Staphylococcus haemolitycus	3
Achromobacter xylosoxidans	1
Bacillus cereus	1
Bacillus pumillus	1
Candida parapsilosis	1
Enterobacter hormaechei	1
Klebsiella pneumoniae	1
Micrococcus luteus	1
Pantoea eucrina	1
Staphylococcus hominis	1
Stenotrophomonas maltophilia	1
Streptococcus mitis	1

Apêndice 4 – Correspondência Microbiológica entre Ralos e Tubagens de Lavatórios e Superfícies Adjacentes

Na Tabela 10 é possível verificar os resultados da identificação microbiológica obtidos para cada um dos 11 pares de amostras, correspondentes aos ralos e tubagens de lavatórios e respetivas superfícies adjacentes.

Tabela 10| Identificação microbiológica dos microrganismos isolados em cada par de amostras, especificamente microrganismos identificados nos ralos e tubagens de lavatórios das salas de preparação de medicação e na respetiva superfície adjacente

Par de Amostras	Microrganismo(s) Identificado (s) no Ralo e Tubagem	Microrganismo(s) Identificado(s) na Superfície Adjacente
1	*Roseomonas mucosa*	*Candida parapsilosis*; *Stenotrophomonas maltophilia*; *Achromobacter xylosoxidans*; *Klebsiella pneumoniae*
2	*Citrobacter freudii*; *Enterobacter hormaechei*	*Bacillus pumilus*
3	*Klebsiella variicola*; *Pseudomonas aeruginosa*	*Enterobacter hormaechei*
4	*Citrobacter freudii*; *Klebsiella oxytoca*; *Candida parapsilosis* *Pseudomonas aeruginosa*; *Burkholderia cepacia*	Pantoea eucrina; Staphylococcus haemolyticus; *Streptococcus mitis*
5	*Enterobacter cloacae*; *Citrobacter freudii*	*Staphylococcus epidermidis*; *Staphyloccus hominis*; *Staphylococcus haemolyticus*; *Micrococcus luteus*
6	*Enterobacter cloacae*; *Stenotrophomonas maltophilia*; *Bacillus cereus*	*Bacillus cereus*
7	*Citrobacter freudii*; *Enterococcus avium*; *Pseudomonas aeruginosa*	*Staphylococcus epidermidis*
8	*Serratia maecescens*; *Klebsiella oxytoca*; *Citrobacter amalonaticus*; *Pseudomonas aeruginosa*	Ausência de crescimento
9	*Pseudomonas aeruginosa*; *Stenotrophomonas maltophilia*	Ausência de crescimento
10	*Trichosporon asahii*; *Klebsiella pneumoniae*; *Citrobacter freudii*	*Staphylococcus epidermidis*
11	Ausência de crescimento	*Staphylococcus epidermidis*; *Staphylococcus haemolyticus*

Apêndice 5 – Determinação do Regime de Fluxo de Água

O regime de fluxo de água foi determinado nos lavatórios onde se procedeu à recolha das amostras, designadamente nos lavatórios das instalações sanitárias da unidade do doente e nos lavatórios das salas de preparação de medicação. Deste modo, foi efetuado o cálculo da velocidade de escoamento de água e posteriormente aplicada a fórmula do número de *Reynolds*. Tal assentou na premissa de que para números de *Reynolds* inferiores a 2100 o regime é laminar, para números superiores a 4000 é turbulento e para valores entre os mencionados o regime classificado como sendo transiente [226]. A velocidade de escoamento foi calculada perante a medição do intervalo de tempo necessário para recolher um volume de água de 200 mL num copo graduado. As medições foram efetuadas em todos os lavatórios alvo de análise, tendo sido calculado o intervalo de tempo médio para cada um dos tipos de lavatório e posteriormente determinado o regime de fluxo de água. No caso dos lavatórios das salas de preparação de medicação as torneiras possibilitam o ajuste do volume de água, tendo as medições sido efetuadas com a abertura média das mesmas.

De seguida apresentam-se os cálculos através dos quais foram caracterizados os regimes de fluxo.

Lavatórios das instalações sanitárias da unidade do doente

Intervalo de tempo médio: 4,98 s

Diâmetro equivalente = 0,02 m

$$Q\ (caudal)/(m^3/s) = \frac{V\ (m^3)}{\Delta t\ (s)} = \frac{0{,}200\ L}{4{,}98\ s} \times \frac{1\ m^3}{1000\ L} = 4{,}01 \times 10^{-05}\ m^3/s$$

$$u\ (velocidade)/(m/s) = \frac{Q(m^3/s)}{A\ (área\ da\ secção\ transversal)/(m^2)} = \frac{4{,}01 \times 10^{-05}\ m^3/s}{3{,}14 \times 10^{-04}\ m^2} \Leftrightarrow$$
$$\Leftrightarrow u = 1{,}28 \times 10^{-01}\ m/s$$

$$Re = \frac{u\ d_{eq} \rho}{\mu}$$

Sendo, $u\ (m/s)$ = velocidade do fluido

$d_{eq}\ (m)$ = diâmetro equivalente

$\rho\ (kg/m^3)$ = densidade do fluido

$\mu\ (Pa\ s)$ = viscosidade do fluido

$$Re = \frac{1{,}28 \times 10^{-01} \times 0{,}02 \times 998{,}23}{1{,}002 \times 10^{-03}} \Leftrightarrow Re = 2546{,}67$$

Visto que Re > 2100 e < 4000, o regime de fluxo, nos lavatórios das instalações sanitárias da unidade do doente, é predominantemente laminar.

Lavatórios das salas de preparação de medicação

Intervalo de tempo médio: 3,79 s

Diâmetro equivalente = 0,02 m

$$Q(caudal)/(m^3/s) = \frac{V\ (m^3)}{\Delta t\ (s)} = \frac{0{,}200\ L}{3{,}79\ s} \times \frac{1\ m^3}{1000\ L} = 5{,}27 \times 10^{-05}\ m^3/s$$

$$u\ (velocidade)/(m/s) = \frac{Q(m^3/s)}{A\ (área\ da\ secção\ transversal)/(m^2)} = \frac{5{,}27 \times 10^{-05}\ m^3/s}{3{,}14 \times 10^{-04}\ m^2} \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow u = 1{,}68 \times 10^{-01}\ m/s$$

$$Re = \frac{1{,}68 \times 10^{-01} \times 0{,}02 \times 998{,}23}{1{,}002 \times 10^{-03}} \Leftrightarrow Re = 3344{,}85$$

Visto que Re > 2100 e < 4000, o regime de fluxo, nos lavatórios das salas de preparação de medicação, é predominantemente laminar.